

République Algérienne Démocratique et  
Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques  
Département de Biologie

# Mémoire fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques

Spécialité: Biologie des Populations et des Organismes

**Evaluation de la pathogénicité de *Metarhizium anisopliae*  
(Metsch) vis-à-vis à la mortalité et l'hémolymphe de *Ceratitis  
capitata* (Wied.) (Diptera : Tephritidae)**

Présenté par: M<sup>lle</sup> FLICI Ismahane

M<sup>lle</sup> KALANE Alissia

Devant le jury composé de:

Présidente: M<sup>me</sup> KHAMMES-TALBI Nassima

MAA

UMMTO

Promotrice: M<sup>me</sup> KAIDI Narimen

Maitre de Recherche B

INRAA

Co-promotrice: M<sup>me</sup> BRAHMI Karima

Professeur

UMMTO

Examinatrice: M<sup>me</sup> DJIOUA Ouiza

MAA

UMMTO

Année universitaire: 2023/2024

## Remerciements

*A notre promotrice de mémoire M<sup>me</sup> KAIDI Narimen, maître de recherche à l'institut nationale des recherches agronomiques d'Algérie (INRAA), Vous nous avez toujours accueillis de manière exceptionnelle, malgré vos nombreuses obligations professionnelles. Nous profitons de cette occasion pour vous exprimer notre sincère gratitude et vous témoigner notre profond respect et pour vous remercier pour votre patience et vos judicieux conseils.*

*Nous tenons à remercier notre Co-promotrice M<sup>me</sup> BRAHMI Karima qui nous a fait honneur de diriger ce travail, Pour sa confiance, ses conseils précieux ont été des éléments essentiels sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir.*

*Nous souhaitons également adresser nos sincères remerciements aux membres du jury M<sup>me</sup> KHAMMES\_TALBI Nassima et M<sup>me</sup> DJIOUA Ouiza qui ont accepté de juger ce travail et avoir pris le temps de l'évaluer. Leur jugement et leur expertise vont grandement contribuer à la qualité de ce travail.*

*Nous exprimons également notre gratitude à M<sup>r</sup> OUKIL Salah, directeur de la division Protection des Cultures de l'INRAA, pour son accueil au sein de sa division de recherche et pour avoir mis à notre disposition les ressources nécessaires à l'accomplissement de ce travail.*

# Dédicace

بسم الله الرحمن الرحيم

*Avec pleins d'amour, je dédie ma réussite et ma joie à tout qui me sont chers.*

*A mon père **ABDENNOUR**; Mon pilier, aucun dédicace peut exprimer le respect que j'ai envers toi et l'honneur d'être la fille d'un homme si exceptionnel comme toi. Je te remercie pour tout les conseils et le soutiens que tu mas fournis.*

*A ma mère **FARIDA**; Mon paradis, tes prières et douaa ont toujours illuminé mon chemin, tu es toujours la source de force et de douceur. Je te remercie pour tout ton effort et pour ta présence et pour ton encouragement.*

*A mes Frères **SAID** et **MOHAMMED**; Mes yeux, votre présence est ma raison de vivre, je remercie dieu d'être votre sœur.*

*A **POUH**; Mon âme, Merci d'être la dans les hauts et les bas, tu es mon ange gardien, merci d'être la quand j'avais toujours besoin.*

*A **ALISSIA**; ce travail est le fruit de notre effort, merci pour tout nos moments partager, nos chagrins, nos fou rire, notre bonheur, pour ton aide et pour ton soutien.*

*A tous ceux qui m'aime.*

*A la petite **ISMAHANE**; a moi-même.*

**ISMAHANE**

# Dédicace

*Je dédie ce mémoire :*

*À mon très chère père TAHAR, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation.*

*À ma mère SAMIA, Source infinie d'amour de sagesse. Ta force, ton soutien indéfectible et tes sacrifices ont été les fondations sur lesquelles j'ai pu construire ce travail. Chaque étape de ce parcours, tu as été une source constante d'encouragement et de motivation. Ta foi en moi, même dans les moments de doute, a été une lumière guidante. Ce travail est autant le fruit de mes efforts que de ton amour et de tes encouragements sans faille. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, pour tes conseils avisés et pour avoir toujours cru en moi. Ce mémoire est pour toi, en reconnaissance de tout ce que tu représentes dans ma vie.*

*À mes chères sœurs (SYNTHIA, LITICIA, SABRINA)*

*Compagnes de vie et des rêves, dont le soutien inconditionnel et la présence ont illuminé mon chemin académique. Merci pour votre amour et vos encouragements qui ont été mes piliers. Ce mémoire est aussi le votre, car votre influence bienveillante est gravée dans chaque page.*

*À mon petit frère FARES Même si tu es plus jeune, tu as su m'apporter une perspective unique et une énergie positive qui m'ont aidé(e) à avancer. Tes encouragements et ta foi en moi ont joué un rôle crucial dans l'achèvement de ce projet.*

*À « A.B.a.z » merci pour ton soutien indéfectible, ta patience infinie tout au long de ce voyage académique. Cette réussite est aussi la tienne, et je suis profondément reconnaissante d'avoir partagé cette aventure avec toi. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir été ma source constante d'encouragement et d'inspiration. Ce mémoire est le fruit de notre engagement commun, et il est dédié à toi, qui as été mon pilier et ma motivation.*

*À ma binôme ISMAHANE Je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour ton soutien, ta collaboration et ton engagement tout au long de ce travail. Ce mémoire est autant le fruit de notre détermination commune que notre complémentarité. Merci pour ta patience, tes idées et ton amitié qui ont rendu ce projet possible.*

**KALANE Alissia**

## Liste des tableaux

|                   |  |           |
|-------------------|--|-----------|
| <b>Tableau 01</b> | Chronologie des enregistrements de la colonisation du monde entier par <i>C.capitata</i> (modifié d'après Malacrida et al.1998).....                                   | <b>05</b> |
| <b>Tableau 02</b> | Pourcentages de mortalité observées et corrigées des adultes de <i>C. capitata</i> , témoins et traités par <i>M. anisopliae</i> .....                                 | <b>46</b> |
| <b>Tableau 03</b> | Nombre total des hémocytes, des prohéocytes, des plasmatocytes et des granulocytes des adultes de <i>C. capitata</i> témoins et traités par <i>M. anisopliae</i> ..... | <b>52</b> |

## Liste des figures

|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Figure 01</b> | Distribution mondiale de la mouche méditerranéenne des fruits, <i>Ceratitis capitata</i> ..... | <b>06</b> |
| <b>Figure 02</b> | Répartition mondiale de <i>Ceratitis capitata</i> .....  | <b>07</b> |
| <b>Figure 03</b> | Schéma représentant le nombre de générations possibles en Algérie.....                         | <b>08</b> |
| <b>Figure 04</b> | Dégâts de <i>C. capitata</i> sur abricots.....   | <b>09</b> |
| <b>Figure 05</b> | La mouche méditerranéenne des fruits.....  | <b>11</b> |
| <b>Figure 06</b> | larves de <i>C. capitata</i> .....   | <b>12</b> |
| <b>Figure 07</b> | Les pupes de la Cératite.....  | <b>12</b> |
| <b>Figure 08</b> | Schéma de Cycle de vie de <i>Ceratitis capitata</i> .....                                      | <b>13</b> |
| <b>Figure 10</b> | Aspect macroscopique du champignon <i>M. anisopliae</i> .....                                  | <b>20</b> |
| <b>Figure 11</b> | Aspect microscopique de <i>M. anisopliae</i> .....   | <b>21</b> |
| <b>Figure 12</b> | Cycle biologique général des Hypocréales.....  | <b>22</b> |
| <b>Figure 13</b> | Cycle biologique et mode d'infection de <i>M. anisopliae</i> .....                             | <b>22</b> |

|                  |  |           |
|------------------|--|-----------|
| <b>Figure 14</b> | Vue d'ensemble du cycle d'infection de <i>M. anisopliae</i> chez les invertébrés.....                        | <b>24</b> |
| <b>Figure 15</b> | Les différentes catégories cellulaires de l'hémolymphe des insectes.....                                     | <b>29</b> |
| <b>Figure 16</b> | Division de recherche en Protection des cultures.....  | <b>32</b> |
| <b>Figure 17</b> | Oranges attaquées par la cératite.....   | <b>33</b> |
| <b>Figure 18</b> | Abricots piqués par <i>C. capitata</i> .....   | <b>34</b> |
| <b>Figure 19</b> | Dispositif expérimental pour l'élevage de la cératite.....   | <b>35</b> |
| <b>Figure 20</b> | Les différentes étapes d'ensemencement de <i>M. anisopliae</i> au laboratoire.....                           | <b>37</b> |
| <b>Figure 21</b> | Extraction des métabolites secondaires de <i>M. anisopliae</i> .....   | <b>39</b> |
| <b>Figure 22</b> | Traitement des adultes et des pupes de <i>C. capitata</i> par l'extrait aqueux de <i>M. anisopliae</i> ..... | <b>40</b> |
| <b>Figure 23</b> | Réalisation du frottis hémolympatique de <i>C. capitata</i> (témoins et traités).....                        | <b>42</b> |
| <b>Figure 24</b> | Pourcentage de mortalité des adultes de <i>Ceratitidis capitata</i> traités par <i>M. anisopliae</i> .....   | <b>45</b> |

|                  |   |           |
|------------------|---|-----------|
| <b>Figure 25</b> | Muscardine verte observée sous loupe binoculaire sur le cadavre de <i>C.capitata</i> ...  | <b>46</b> |
| <b>Figure 26</b> | Courbe de tendance et droite de régression traduisant l'efficacité de <i>M. anisopliae</i> contre les adultes de <i>C. capitata</i> .....                             | <b>47</b> |
| <b>Figure 27</b> | Taux d'émergence des adultes de <i>C. capitata</i> issus des pupes témoins et traitées par <i>M.anisopliae</i> .....  | <b>48</b> |
| <b>Figure 28</b> | Observation microscopique des différentes hémocytes identifiées dans l'hémolymphe des témoins de <i>C. capitata</i> .....   | <b>49</b> |
| <b>Figure 29</b> | Les différentes hémocytes identifiées dans l'hémolymphe de <i>C capitata</i> l'infection fongique par suite à <i>M. anisopliae</i> .....                              | <b>50</b> |
| <b>Figure 30</b> | Nombre moyen des hémocytes, prohéocytes, plasmatocytes granulocytes des adultes de <i>C capitata</i> témoins et traités par le champignon <i>M. anisopaliae</i> ..... | <b>51</b> |

# Sommaire

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Introduction générale</b>   | <b>1</b>  |
| <b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>   | <b>4</b>  |
| <b>I.1. Généralités sur la mouche méditerranéenne des fruits <i>Ceratitis capitata</i></b> | <b>4</b>  |
| <b>I.1.1. Origine et historique</b>  | <b>4</b>  |
| <b>I.1.2. Répartition géographique et plante hôtes</b>                                     | <b>5</b>  |
| <b>I.1.2.1. Répartition géographique</b>   | <b>5</b>  |
| <b>I.1.2.2. Plantes Hôtes et mécanisme de reconnaissance des fruits par la cératite</b>    | <b>7</b>  |
| <b>I.1.3. Importance économique et dégâts</b>  | <b>8</b>  |
| <b>I.1.3.1. Importance économique</b>  | <b>8</b>  |
| <b>I.1.3.2. Dégâts causés par la cératite</b>  | <b>9</b>  |
| <b>I.1.4. Taxonomie et description morphologique</b>                                       | <b>9</b>  |
| <b>I.1.4.1. Position systématique</b>  | <b>9</b>  |
| <b>I.1.4.2. Principaux caractères morphologique</b>  | <b>10</b> |
| <b>I.1.4.2.1. L'adulte</b>   | <b>10</b> |
| <b>I.1.4.2.2. L'œuf</b>  | <b>11</b> |
| <b>I.1.4.2.3. La larve</b>   | <b>11</b> |
| <b>I.1.4.2.4. La pupe</b>  | <b>12</b> |
| <b>I.1.5. Cycle de vie de la cératite</b>  | <b>12</b> |
| <b>I.1.5.1. Accouplement</b>   | <b>13</b> |
| <b>I.1.5.2. Vie larvaire</b>   | <b>13</b> |
| <b>I.1.5.3. Nymphose et émergence</b>  | <b>14</b> |
| <b>I.1.5.4. Fin du cycle</b>   | <b>14</b> |
| <b>I.1.5.5. Longévité et nombre de générations</b>   | <b>14</b> |
| <b>I.1.6. Ecologie et facteurs influençant le développement de <i>C. capitata</i></b>      | <b>15</b> |
| <b>I.1.6.1. Facteurs abiotiques</b>  | <b>15</b> |
| <b>I.1.6.1.1. La température</b>   | <b>15</b> |
| <b>I.1.6.1.2. L'humidité</b>   | <b>15</b> |
| <b>I.1.6.1.3. Le vent</b>  | <b>15</b> |

|   |    |
|---|----|
| I.1.6.1.4. La lumière   | 15 |
| I.1.6.2. Facteurs édaphiques  | 15 |
| I.1.6.3. Facteurs biotiques   | 16 |
| I.1.6.3.1. La compétition larvaire  | 16 |
| I.1.6.3.2. Les ennemis naturel  | 16 |
| I.1.7. Le Contrôle de la cératite   | 16 |
| I.1.7.1. Lutte biologique   | 16 |
| I.1.7.2. Lutte chimique   | 17 |
| I.1.7.3. Lutte biotechnique   | 17 |
| I.1.7.4. L'anéantissement des mâles   | 17 |
| I.1.7.5. Confusion sexuelle   | 17 |
| <br>  |    |
| I.2. Généralités sur le champignon entomopathogène <i>Metarhizium anisopliae</i>    | 17 |
| <br>  |    |
| I.2.1. Historique de <i>Metarhizium anisopliae</i>                                  | 18 |
| I.2.2. Taxonomie  | 18 |
| I.2.3. Description morphologique et identification de <i>Metarhizium anisopliae</i> | 19 |
| I.2.3.1. Caractères morphologiques et culturaux :                                   | 19 |
| I.2.3.2. Aspect macroscopique   | 20 |
| I.2.3.3. Aspect microscopique   | 20 |
| I.2.4. Cycle biologique et mode d'infection de <i>M. anisopliae</i>                 | 21 |
| I.2.5. Mode d'action de <i>M. anisopliae</i>  | 23 |
| I.2.6. Ecologie   | 24 |
| I.2.6.1. Facteur abiotique  | 24 |
| I.2.6.1.1. La température   | 24 |
| I.2.6.1.2. L'humidité   | 25 |
| I.2.6.1.3. Le sol   | 25 |
| I.2.6.2. Facteurs biotiques   | 25 |
| I.2.7. Applications agronomiques de <i>M. anisopliae</i>                            | 25 |
| I.2.7.1. Souches virulentes de <i>Metarhizium</i> utilisés en lutte microbiologique | 25 |
| I.2.7.2. Ravageurs sensibles à <i>M. anisopliae</i>                                 | 26 |
| I.2.8. Les métabolites bioactifs des champignons entomopathogènes                   | 26 |

|   |    |
|---|----|
| I.2.8.1. Les toxines  | 26 |
| I.2.8.2. Les enzymes  | 26 |
| I.2.8.2.1. Lipases  | 27 |
| I.2.8.2.2. Les protéases  | 27 |
| I.2.8.2.3. Les chitinases   | 27 |
| I.2.8.3. Les Métabolites secondaires produits par <i>M. anisopliae</i>  | 27 |
| <br>  |    |
| I.3. Données générales sur l'hémolymphe des insectes  | 28 |
| I.3.1. Composition de l'hémolymphe  | 28 |
| I.3.2. Les différents types d'hémocytes:  | 29 |
| I.3.3. Les fonctions physiologiques des Hémocytes   | 30 |
| I.3.4. L'hémolymphe et la défense   | 30 |
| <br>  |    |
| Chapitre II : Approche méthodologique   | 31 |
| <br>  |    |
| II.1. Problématique et objectifs  | 31 |
| II.2. Présentation de l'Institut National de la Recherche Agronomique<br>d'Algérie (I.N.R.A.A.)                         | 31 |
| II.2.1. Aperçu sur la station I.N.R.A.A. de Mehdi Boualem (Baraki)  | 31 |
| II.3. Echantillonnage des fruits piqués   | 32 |
| II.4. Elevage de la cératite  | 34 |
| II.5. Technique de multiplication (ensemencement) et conservation de la<br>souche fongique <i>Metarhiziumanisopliae</i> | 36 |
| II.6. Fermentation et extraction des métabolites secondaires de <i>M. anisopliae</i>                                    | 38 |
| II.7. Préparation et dosage de la solution entomopathogène  | 38 |
| II.8. Traitement des adultes et des pupes de <i>C. capitata</i>   | 40 |
| II.9. Paramètres étudiés  | 41 |
| II.9.1. Effet de <i>M. anisopliae</i> sur la mortalité des pupes et des imagos de <i>C.</i><br><i>capitata</i>          | 41 |
| II.9.2. Effet de <i>M. anisopliae</i> sur l'hémolymphe des imagos de <i>C. capitata</i>                                 | 41 |
| II.10. Exploitation statistique des résultats   | 43 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Chapitre III : Résultats obtenus</b>   | <b>44</b> |
| <b>III.1. Identification des métabolites secondaires du champignon <i>M. anisopliae</i></b>                                   | <b>44</b> |
| <b>III.2. Effet de <i>M. anisopliae</i> sur la mortalité des adultes de <i>C. capitata</i></b>                                | <b>44</b> |
| <b>III.3. Détermination de la TL50 et la TL90</b>   | <b>46</b> |
| <b>III.4. Analyse de la variance</b>  | <b>47</b> |
| <b>III.5. Effet du champignon <i>M. anisopliae</i> sur les pupes de <i>C. capitata</i></b>                                    | <b>48</b> |
| <b>III.6. Effet de champignon entomopathogène <i>M. anisopliae</i> sur<br/>l'hémolymphe des adultes de <i>C. capitata</i></b> | <b>49</b> |
| <b>III.6.1. Etude qualitative</b>   | <b>49</b> |
| <b>III.6.2. Etude quantitative</b>  | <b>51</b> |
| <b>Chapitre IV: Discussions des résultats obtenus</b>   | <b>53</b> |
| <b>IV.1. Identification des métabolites secondaires du champignon <i>M. anisopliae</i></b>                                    | <b>53</b> |
| <b>IV.2. Effet de <i>M. anisopliae</i> sur la mortalité des adultes et des pupes de <i>C. capitata</i></b>                    | <b>53</b> |
| <b>IV.3. Effet de <i>M. anisopliae</i> sur l'hémogramme de <i>C. capitata</i></b>   | <b>55</b> |
| <b>IV.3.1. Etude qualitative</b>  | <b>55</b> |
| <b>IV.3.2. Etude quantitative</b>   | <b>57</b> |
| <b>Conclusion générale</b>  | <b>59</b> |

# **Introduction générale**

## **Introduction générale**

Les capacités reproductrices impressionnantes des arthropodes leur ont permis de devenir le groupe zoologique le plus abondant et diversifié du règne animal. Pour s'adapter à leur environnement, Ils ont développé diverses stratégies comportementales et physiologiques et jouent un rôle crucial dans l'équilibre biologique de la nature (Ebeling, 1978).

Néanmoins, en plus des espèces bénéfiques à l'environnement, il existe des ravageurs redoutables pouvant causer des dégâts très considérables à l'agriculture, notamment à l'arboriculture fruitière. Cette dernière, est très diversifiée en Algérie, mais aussi affrontée à toute une panoplie de ravageurs redoutables, tels que certains insectes appartenant à la famille des Tephritidae. Ces insectes sont devenus envahissants surtout avec la présence des bonnes conditions pédoclimatiques pour leur développement.

En effet, parmi les ravageurs qui menacent l'arboriculture fruitière, plus précisément, l'agrumiculture en Algérie, la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* qui a longtemps été associée à la production fruitière des régions côtières à climat tempéré. Avec le changement climatique, en particulier avec un automne et un printemps devenus plus chauds et secs, cette mouche s'est disséminée à de nouvelles localisations et cause désormais des dommages à d'autres plantes hôtes. Considérée comme l'un des ravageurs les plus redoutables des espèces arboricoles fruitières, la cératite est devenue un des obstacles majeurs pour la production des fruits sains et leurs exportations (Oukil et al., 2002). Les pertes dues à ce prédateur au Maghreb varient de 67 à 100 millions de dollars américains (Lachiheb, 2008).

La présence de ce diptère au niveau des vergers en pleine production, constitue toujours une véritable menace et entrave notamment l'amélioration qualitative et quantitative de la production nationale. Pour faire face à cette situation, les producteurs ont recours au contrôle chimique, souvent inopportun et mal raisonné caractérisé par un nombre de traitement très élevé et une panoplie de matières actives polyvalentes.

Toutefois, la fréquence ainsi que les concentrations de ces pesticides utilisés peuvent porter préjudice à la fois, à la spéculation et à plus ou moins long terme à l'ensemble de la biocénose, notamment par un développement du phénomène de résistance chez un grand nombre d'insectes ravageurs. Aussi, la lutte chimique mal raisonnée entrave le développement de la faune auxiliaire et induit la pullulation de certains déprédateurs qui étaient considérés

comme secondaires (Abbassi, 1990). Sans oublier la recrudescence des problèmes de résidus qui risquent de dépasser les normes recommandées.

De ce fait, la prise de conscience progressive des dangers de l'usage abusif des insecticides conventionnels pour l'environnement a beaucoup contribué à augmenter l'intérêt porté à la lutte biologique. Les effets secondaires induits par l'utilisation intensive et déraisonnable de toutes sortes de pesticides chimiques conventionnels, ont encouragé la recherche de méthodes alternatives comme les régulateurs de croissance des insectes ou les biopesticides. Parmi les espèces utilisées dans la lutte biologique contre les ravageurs des cultures et les vecteurs de maladies, il y a les champignons entomopathogènes (Papierok & Hajek 1997).

L'utilisation de certains de ces champignons a donné des résultats satisfaisants contre plusieurs espèces d'insectes (Yee & Lacey 2005 ; Ekesi *et al.*, 2002). Les genres *Metarhizium* et *Beauveria* sont les plus utilisés en lutte biologique. En particulier, *M. anisopliae* a fait l'objet de nombreux travaux qui concernent le mode d'infestation du champignon (Hajek & Leger 1994) ainsi que les mécanismes de la toxicité de l'insecte (Clarkson & Charnley 1996).

En effet, les espèces *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* sont les champignons entomopathogènes les plus couramment utilisés dans la lutte contre les ravageurs (Lacey *et al.*, 2015). Ces champignons sont étudiés et commercialisés pour les ravageurs agricoles et sanitaires qui sont difficiles à contrôler par les insecticides chimiques conventionnels ou d'autres méthodes de contrôle (Lacey *et al.*, 2001, Lacey *et al.*, 2015). La pénétration des spores qui varie selon le degré de contamination et l'épaisseur de la cuticule de l'hôte (Brooks *et al.*, 2004). Plusieurs produits phytosanitaires commerciaux destinés à la lutte contre différents types de ravageurs des cultures ont été extraits à partir de ce champignon (Butt *et al.*, 1994). Ces produits sont caractérisés par la présence de toxines appelées destruxines, sécrétées essentiellement par *M. anisopliae* (Vey *et al.*, 2001).

Plusieurs travaux récents ont donné des résultats prometteurs quant à l'utilisation de *M. anisopliae* contre la *C. capitata*. Nous citons ceux de Mochi *et al.* (2006), Quesada-Moraga *et al.* (2006), Navarro-Liopis *et al.* (2015) et Fernandez-Bravo *et al.* (2017). D'autres travaux de recherche sur l'utilisation dudit champignon entomopathogène contre *Culex pipiens* ont, également, donné de bons résultats, comme ceux de Sissani *et al.* (2014) et Djabber Mohammed (2022).

Notre étude s'inscrit dans la recherche de moyens de lutte biologique pour réduire les populations de *C. capitata*. Nous analysons donc , l'effet de *M. anisopliae* sur la mortalité des adultes et des pupes de *C. capitata*, ainsi que son action cytotoxique sur l'hémolymphe de ce diptère.

Ainsi, notre présent travail s'articule autour de quatre chapitres, dont le premier consiste en une synthèse bibliographique sur la mouche méditerranéenne, le champignon entomopathogène utilisé et sur l'hémolymphe des insectes. Cette partie sera suivie par une présentation de l'approche méthodologique adoptée. Les troisième et quatrième chapitres concerneront, respectivement les résultats obtenus et les discussions de ces derniers. Enfin, une conclusion générale et quelques perspectives de recherche achèveront notre humble travail de recherche.

# **Chapitre I**

## **Synthèse bibliographique**

## Chapitre I : Synthèse bibliographique

### I.1. Généralités sur la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata*

#### I.1.1. Origine et historique

La cératite a été signalée pour la première fois en Afrique du Nord dans les îles de l'Atlantique en 1829, puis en Algérie en 1859 et en Égypte en 1904. Cependant, elle était déjà présente le long de la côte, de la Tunisie au Maroc, et serait originaire du nord de l'Afrique occidentale, notamment du Maroc, où l'arganier (*Argania spinosa*) pourrait être son hôte primitif (Balachowsky et Mensil, 1935 ; Sacantanis, 1957).

En 1950, Balachowsky notait que *Ceratitis capitata* s'était répandue sur les cinq continents, avec une origine dans la région paléarctique sud-occidentale, notamment dans le sud marocain, au sein du secteur botanique de l'arganier. Il concluait que, dans certaines régions d'Afrique, *C. capitata* semblait être un insecte introduit récemment (Balachowsky, 1950). D'autres chercheurs avancent que l'Afrique tropicale ou de l'ouest pourrait être son berceau, en raison de la richesse des ennemis naturels dans divers pays africains (Silvestri, 1914 ; Bodenheimer, 1951 ; Liquidó et al., 1991 ; White et Elson-Harris, 1992). Récemment, des analyses de microsatellites ont confirmé l'origine sud-ouest africaine de cette mouche (Bonnizoni et al., 2000 ; Meyer et al., 2002).

Le tableau ci-dessous présente les dates des premiers enregistrements de la colonisation mondiale de *Ceratitis capitata*, communément appelée cératite. Ces données illustrent l'expansion géographique de ce ravageur à travers différentes régions, permettant de mieux comprendre son impact sur l'agriculture et la nécessité de développer des stratégies de gestion adaptées.

| Aire de diffusion          |  | Date de la première détection  | Référence   |
|----------------------------|--|--|---|
| Région géographique        | Pays   |  |   |
| Afrique                    | Afrique du sud-est<br>Afrique du sud   | Zone source putative<br>(1889)   | Fletcher (1989)<br>Back and Pemberton<br>(1918)           |
| Iles extra-méditerranéenne | Iles canaries<br>Madère  | Début 1800<br>(1829)   | Fimiani (1898)<br>.                                       |
| Méditerranéenne            | Espagne<br>Algérie<br>Tunisie<br>Sud d'Italie<br>France<br>Portugal<br>Palestine<br>Turquie<br>Grèce<br>Ex-Yougoslavie | (1842)<br>(1850)<br>(1855)<br>(1863)<br>(1885)<br>(1898)<br>(1800)<br>(1904)<br>(1915)<br>(1947) | .<br>. .<br>. .<br>. .<br>. .<br>. .<br>. .<br>. .<br>. . |
| Amérique latine            | Brésil<br>Costa Rica<br>Nicaragua<br>Panama<br>Guatemala<br>Mexique  | (1905)<br>(1955)<br>(1960)<br>(1963)<br>(1975)<br>(1977)   | Enkerlin et al. (1989)<br>. .<br>. .<br>. .<br>. .<br>. . |
| Pacifique                  | Hawaï  | (1910)   | Harris (1989)   |
| Australie                  | Australie  | (1897)   | Hooper and Drew<br>(1989)                                 |

**Tableau 1:** Chronologie des enregistrements de la colonisation modiale par *C. capitata* (Malacrida et al.1998).

## I.1.2. Répartition géographique et plante hôtes

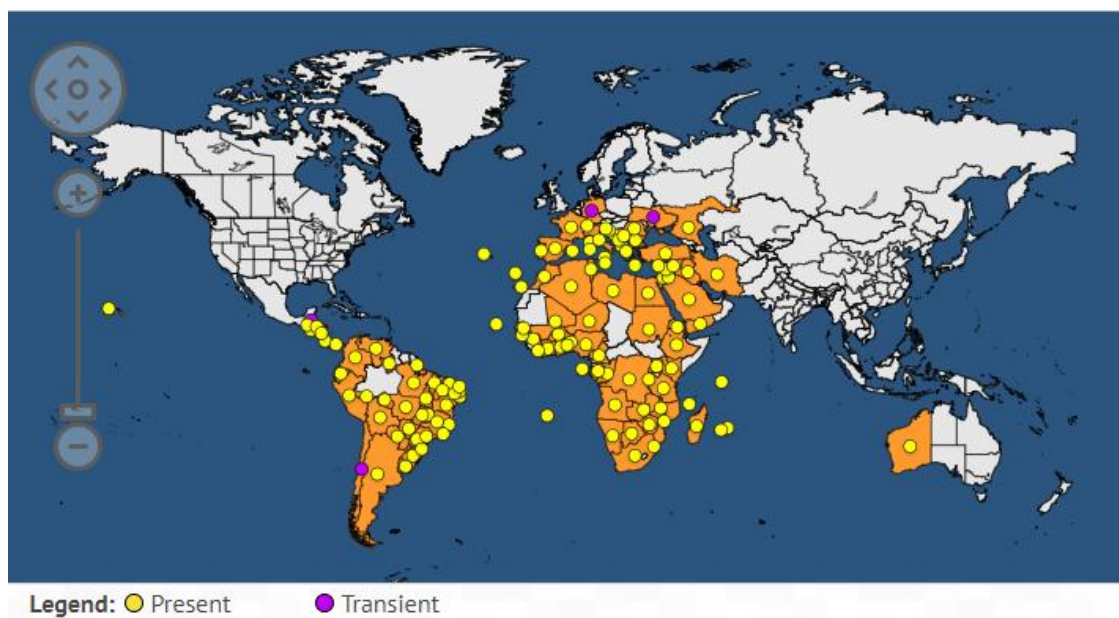
### I.1.2.1. Répartition géographique

La mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata*, est présente en Australie, en Afrique, en Europe, en Amérique du Sud et dans les îles du Pacifique (Vilardebo, 1946). Elle s'est répandue au cours de la deuxième moitié du 19ème siècle depuis l'Afrique vers le bassin méditerranéen, puis vers l'Amérique et l'Australie (Fletcher, 1989). Actuellement, elle est établie dans plus de 100 pays, représentant un risque significatif pour les cultures de fruits, notamment les agrumes.

En Europe, *C. capitata* se maintient dans toute la région méditerranéenne et même dans des zones tempérées où les températures descendent souvent en dessous de 0 °C (Balachowsky, 1950). Les pays comme l'Espagne, l'Italie et la France ont été touchés, tout comme de nombreuses régions d'Amérique centrale et du Sud. En Australie, elle a été accidentellement introduite à Hawaii vers 1907 (Vargas et al., 1983).

La cératite présente une dynamique de population saisonnière, avec des conditions environnementales propices à son développement. Elle est particulièrement abondante dans le bassin méditerranéen et dans les régions tropicales et subtropicales (Buyckx, 1994). En Algérie, elle est principalement retrouvée sur les côtes et dans les oasis (Settaoui et al., 2017).

Une étude utilisant le modèle CLIMEX pour évaluer le risque d'invasion mondiale a montré que *C. capitata* est actuellement concentrée en Amérique du Sud, en Afrique du Sud, dans le sud des États-Unis, en Asie de l'Est et dans le sud de l'Europe. Les projections futures indiquent que sa zone de colonisation pourrait diminuer et se déplacer vers des latitudes plus élevées.



**Figure 1** : Distribution mondiale de la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (EPPO Global Database, 2024)

Le stress froid influence la distribution de *Ceratitis capitata* à des latitudes élevées, tandis que le stress thermique est le principal facteur affectant sa répartition dans les climats actuels et futurs (Rao et al., 2024). Selon ces auteurs, des pays comme la Chine, le Myanmar et le Viêt Nam, qui possèdent des habitats favorables à *C. capitata* mais n'ont pas encore été envahis, devraient renforcer leurs mesures de quarantaine pour prévenir l'introduction de ce ravageur (figure 2).

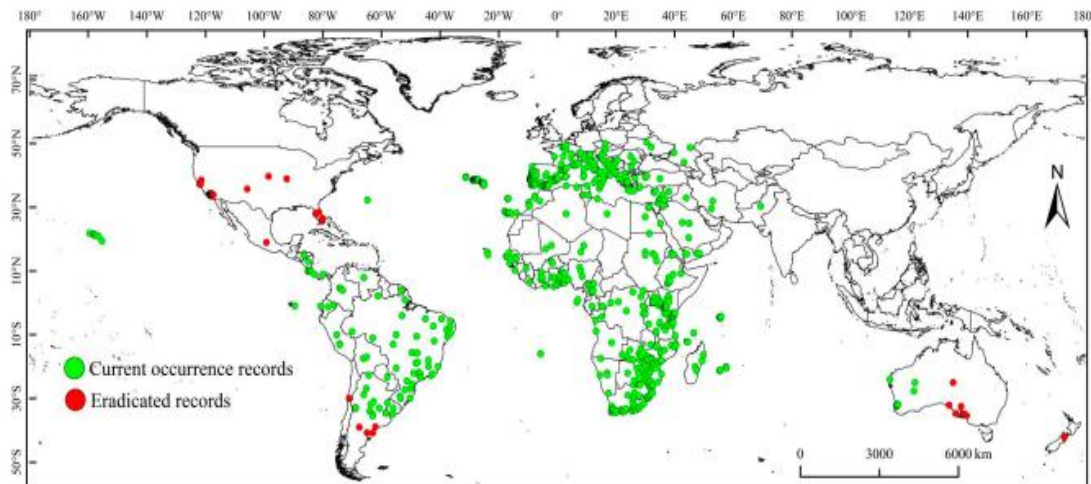


Figure 2 : Répartition mondiale de *Ceratitis capitata* (Rao et al., 2024)

### I.1.2.2. Plantes Hôtes et mécanisme de reconnaissance des fruits par la cératite

La cératite présente une hiérarchie de préférence pour ses hôtes, sélectionnant les fruits en fonction de leur qualité (Bodenheimer, 1951 ; Féron, 1962). Les agrumes, ainsi que des fruits doux et tropicaux comme les pêches, abricots, mangues et avocats, sont ses principales cibles (Vilardebo, 1946). En tout, les larves se nourrissent de plus de 250 plantes hôtes provenant de 67 familles botaniques. En plus des agrumes, elle attaque également des arbres fruitiers tels que pommiers, poiriers et kiwitiers (Balachowsky et Mesnil, 1935 ; Cheikh et al., 1975).

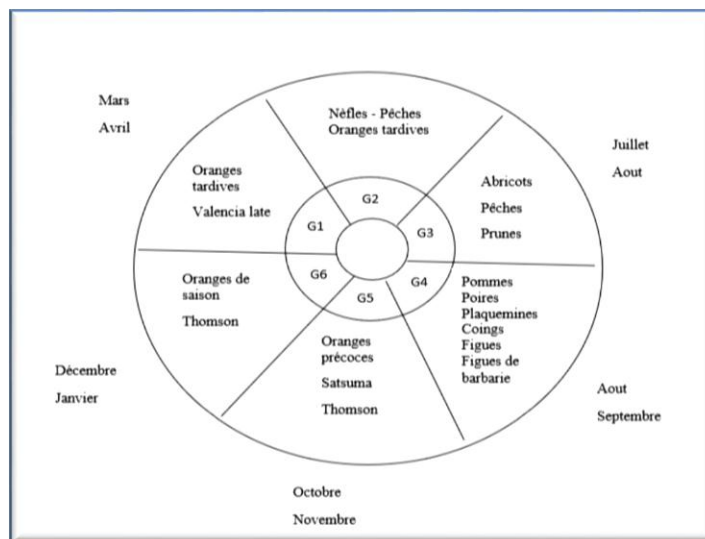
L'émission de composés volatiles sur les fruits joue un rôle clé dans la reconnaissance des plantes hôtes, permettant aux cératites de les détecter à plusieurs mètres de distance (Nakagawa et al., 1978 ; Teranishi et al., 1987). Elles s'orientent également grâce à la couleur, la forme, la taille et l'odeur des fruits (Prokopy & Roitberg, 1984 ; Fletcher, 1987).

### I.1.3. Importance économique et dégâts

#### I.1.3.1. Importance économique

La Cératite affecte l'économie de plusieurs pays à travers le monde, ce, par son infestation de plusieurs variétés de fruits en causant une réduction considérable dans la production et la qualité des récoltes.

Cette mouche est probablement l'un des ravageurs les plus redoutables qui peut engendrer une réduction importante ou perte totale de la production agricole en absence de contrôle approprié (Harris, 1975, White et Elson-Harris 1992, 1994, Cayol et *al.*, 2002, Cohen et *al.*, 2008a).



**Figure 3 :** Schéma représentant le nombre de générations possibles de *C. capitata* en Algérie (Oukil, 1995).

En plus des pertes directes causées par la cératite, les dépenses liées à son contrôle et à la mise en quarantaine sont considérables (Dimbi et al., 2001). En Californie, l'établissement des mouches des fruits entraîne des pertes annuelles de 910 millions de dollars (Dowell et Wange, 1986). Dans la région Est-méditerranéenne (Territoires palestiniens et Jordanie), ces pertes sont estimées à 192 millions de dollars (Enkerlin et Mumford, 1997 ; Enkerlin et al., 1998).

Dans le Maghreb (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie), les pertes financières dues à la cératite s'élèvent à 100 millions de dollars par an (Driouchi, 1990). Le coût des insecticides est élevé, bien que leur efficacité soit limitée, car ils agissent principalement sur les larves protégées dans les fruits (Allaoui, 2011). De plus, Les restrictions imposées par des pays comme le Japon et les États-Unis, qui appliquent des mesures strictes sur les résidus chimiques et la

quarantaine, compliquent également les exportations de fruits, notamment d'agrumes et de tomates marocains.

### I.1.3.2. Dégâts causés par la cératite

La mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata*, utilise des plantes hôtes pour se nourrir, se reproduire et se protéger, ce qui en fait un ennemi redoutable des productions fruitières (Jolivet, 1992).

Lorsqu'un fruit est piqué, il devient non comestible, et la piqûre ouvre la voie à des champignons et autres microorganismes, entraînant un dépérissement. Par exemple, les agrumes attaqués montrent souvent une décoloration autour du point de piqûre, développant des taches brunes qui entraînent une pourriture à mesure que les larves se développent (**figure 4**). Cette infestation provoque également une maturation précoce des fruits, souvent suivie de leur chute. Dans certains cas, les dommages ne sont visibles qu'après la récolte (Bodenheimer, 1951).



**Figure 4 :** Dégâts de *C. capitata* sur abricots

## I.1.4. Taxonomie et description morphologique

### I.1.4.1. Position systématique

La cératite *Ceratitis capitata* (Wiedemann) est une mouche Diptère Brachycère qui appartient à la famille des Tephritidae (Synonyme : Trypetidae). Cette dernière est constituée d'environ 4000 espèces dont 250 sont des ravageurs de plantes d'intérêt agronomique (White et Elson-Harris 1992 ; Thompson 1999).

Selon Hendel (1927), Seguy (1950) et Dyck et *al.* (2005), la position taxonomique de cette espèce peut être résumée ainsi :

**Règne** : Animalia.

**Embranchement** : Arthropoda.

**Classe** : Insecta.

**Ordre** : Diptera.

**Sous-ordre** : Brachycera.

**Division** : Cyclorrapha.

**Groupe** : Schizophora.

**Super famille** : Trypetidea.

**Famille** : Tephritidae ou Trypetidae.

**Genre**: *Ceratitis*.

**Espèce**: *Ceratitis capitata* WIEDEMANN, 1824.

#### **I.1.4.2. Principaux caractères morphologique**

##### **I.1.4.2.1. L'adulte**

La cératite, *Ceratitis capitata*, mesure environ 4 à 6 mm de long. Comme d'autres espèces de la famille des Tephritidae, ses adultes possèdent des ailes larges et transparentes avec trois bandes jaune-orange et foncées. Le scutellum présente des motifs distinctifs pour la différencier des espèces similaires (Delucchi, 1964 ; De Meyer, 2000).

L'adulte se caractérise par un mésonotum noir luisant avec quatre bandes grises, une tête jaunâtre avec une bande brune claire entre deux yeux pourpres aux reflets dorés. Son abdomen brun-jaunâtre comporte deux bandes grises. La femelle possède un oviscapte pointu pour insérer ses œufs dans les fruits, tandis que le mâle a une ampoule gonflable pour émettre des phéromones sexuelles. Les palettes céphaliques se présentent sous forme de soies orbitales noires, aplaties et triangulaires (**figure 5**).



**Figure 5 :** La mouche méditerranéenne des fruits.

#### **I.1.4.2.2. L'œuf**

De couleur blanche, les œufs présentent une forme allongée et légèrement arquée et longue d'environ 0,9 à 1,1 mm avec un diamètre de 0,2 à 0,25 mm et sont effilés à leurs extrémités (Bodenheimer 1951 ; Nuez, 1987). Ils sont lisses et groupés lors de la ponte sous l'épiderme des fruits à une profondeur de 2 à 5mm (Flippi 2003).

Lorsque l'œuf de la cératite est fraîchement pondu, il est de couleur translucide puis devient blanc nacré avec le temps (Balachowsky et Mesnil 1935).

#### **I.1.4.2.3. La larve**

*Ceratitits capitata* présente trois stades larvaires : L1, L2 et L3, différenciés par le nombre, la taille et la morphologie des stigmates ainsi que des crochets mandibulaires (Jerraya, 2003). À l'éclosion, la larve mesure environ 1 mm et atteint 6 à 8 mm au dernier stade. Elle est acéphale, apode et lisse, affichant une couleur blanche, jaune crème, ou parfois rouge, rose, ou noir selon son alimentation (Back et Pemberton, 1918 ; Lachihab, 2008). Thomas et al. (2004) décrivent la larve comme recourbée ventralement, avec 8 zones fusiformes, des extrémités antérieures rétrécies et des crochets buccaux noirs, tandis que ses extrémités caudales sont aplaties.



**Figure 6:** larves de *C. capitata* (Daniel Feliciano 2008).

#### **I.1.4.2.4. La pupe**

Les pupes de *C. capitata* ont une forme de tonnelet elliptique, lisse et résistant, mesurant environ 5 mm de longueur et 2 mm de diamètre (**figure 7**). Leur couleur est variable, brun clair pour les jeunes pupes qui change, progressivement, pour devenir brun foncé pour les pupes âgées (Weems, 1981 ; White & Elson- Harris, 1992 ; Thomas et al., 2001; Jerraya, 2003).



**Figure 7:** Les pupes de la Cératite sous loupe binoculaire

#### **I.1.5. Cycle de vie de la cératite**

Le cycle de développement de la cératite est régi par l'interaction d'un ensemble de facteurs biotiques (disponibilité de l'espèce fruitière hôte et le degré de maturité du fruit) et abiotiques (température) (Gahbiche, 1993). Ainsi, il a été retenu que le développement complet de l'œuf à l'adulte dure 12 à 18 jours dans les conditions optimales in vitro et un à trois mois in vivo.

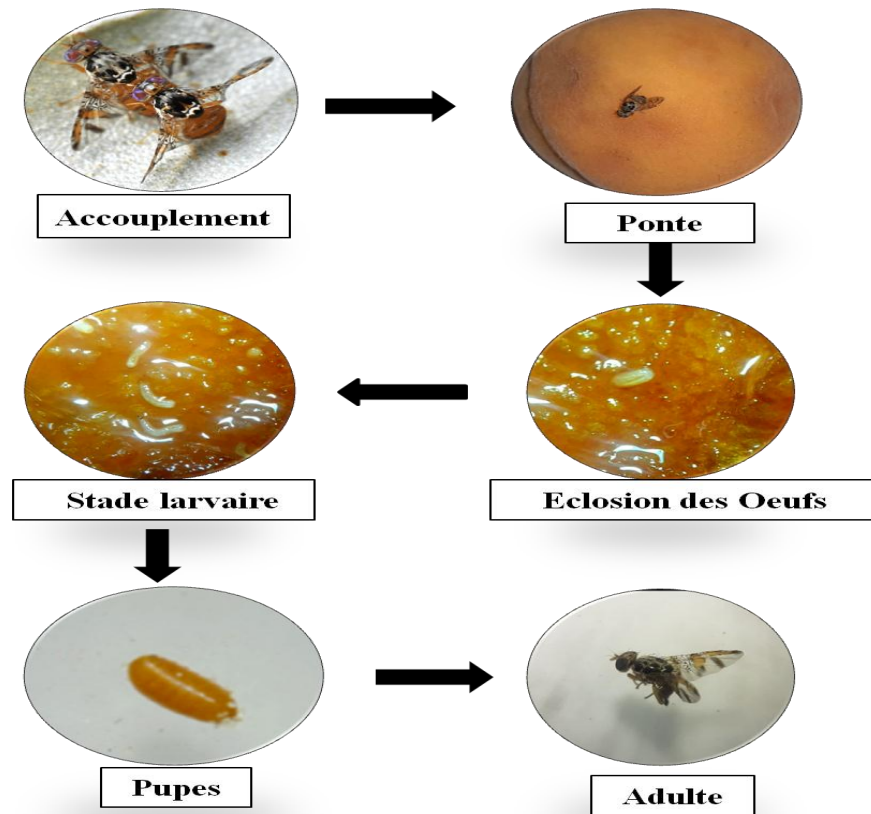


Figure 8: Schéma de Cycle de vie de *Ceratitis capitata*

#### I.1.5.1. Accouplement

Le comportement de reproduction de *Ceratitis capitata* a été étudié par plusieurs auteurs, dont Silvestri (1913) et Back et Pemberton (1918). Les adultes deviennent sexuellement matures après 4 à 10 jours (Bodenheimer, 1951) et émettent des phéromones pour attirer les femelles (Quilici et al., 2002). Les femelles, à partir de 15°C, déposent 3 à 7 œufs dans le fruit à une profondeur de 2 à 5 mm (Filippi, 2003 ; Vilardebo, 1946). Elles marquent le site de ponte avec une phéromone (Fletcher, 1989) et préfèrent des zones ombragées (Bodenheimer, 1951). Les œufs éclosent après 3 à 5 jours, ou 24 à 72 heures selon Fraval (1996).

#### I.1.5.2. Vie larvaire

Après l'éclosion, les larves de *Ceratitis capitata* s'enfoncent dans le fruit et se nourrissent de la pulpe (Hasnaoui, 1974). Le développement larvaire se déroule en trois stades sur une période de 9 à 15 jours, variant selon l'espèce fruitière, la maturité des fruits, leur richesse en protéines et les conditions climatiques (Carey, 1984 ; Zuccoloto et al., 2005). La durée dépend de la source alimentaire : 6 jours sur figues, 9 jours sur pêches, 12 jours sur

poires et 15 jours sur pommes (Rivnay, 1950). À la fin de leur développement, les larves quittent le fruit et se transforment en pupe dans le sol (Smith, 1989). Le saut larvaire, décrit par Bodenheimer (1951), est stimulé par la lumière et atteint son maximum à l'aube (Hasnaoui, 1974).

#### **I.1.5.3. Nymphose et émergence**

En fin du développement larvaire de la cératite, les asticots ne rejettent pas leurs exuvies qui vont leur servir d'enveloppes à l'intérieur des quelles ils vont se nymphoser. Ils quittent le fruit pour s'enfoncer dans le sol et effectuer leur nymphose. Bodenheimer en 1951 et Cheikh et *al.* En 1972 considèrent la pupe comme étant le stade de résistance de l'espèce. À la fin du développement des organes et des membres, l'imago perce un opercule localisé du côté de sa tête et quitte le cocon.

#### **I.1.5.4. Fin du cycle**

Une fois les adultes sont apparus, ils sont matures sexuellement qu'après 6 à 8 jours après éclosion (Jerraya, 2003). La durée du cycle de développement de la cératite est très variable et dure, généralement, entre 20 à 36 jours. Ces variations sont la conséquence des effets de la température, l'humidité, la photopériode, la région géographique et d'autres facteurs (Romanyukha et *al.* 2004).

#### **I.1.5.5. Longévité et nombre de générations**

La longévité des mâles *Ceratitis capitata* est supérieure à celle des femelles, avec une durée de vie moyenne de 28 à 40 jours en été et 28 à 65 jours en hiver (Bodenheimer, 1951). Dans le bassin méditerranéen, six à huit générations se succèdent chaque année (Geoffrion, 2003), tandis qu'en Afrique occidentale, plus de dix générations peuvent se rencontrer (Ramade, 2003). En Algérie, Oukil (1995) identifie plusieurs générations : la première en mars-avril sur les oranges tardives, la deuxième en mai, la troisième en juillet sur les fruits à noyaux (pêches, abricots, prunes), la quatrième de fin août à début septembre, et les deux dernières sur les agrumes.

## **I.1.6. Ecologie et facteurs influençant le développement de *C. capitata***

### **I.1.6.1. Facteurs abiotiques**

#### **I.1.6.1.1. La température**

La température influence toutes les fonctions vitales de *Ceratitis capitata*, augmentant le nombre de générations dans les régions chaudes. Les adultes ne supportent pas des températures supérieures à 45 °C ni inférieures à 10 °C, surtout en cas de pluie. Les œufs deviennent infertiles entre 4 et 7 °C et au-dessus de 35 °C. En revanche, les pupes sont plus résistantes, survivant à des températures variant de 6 à 45 °C (Delrio, 1985).

#### **I.1.6.1.2. L'humidité**

Les mouches deviennent inactives en période de pluie, pendant la sécheresse et le manque d'humidité les gênent et les obligent ainsi à se déplacer à la recherche de l'eau (Nuez, 1987). Le taux d'humidité favorable au développement de la cératite se situe entre 60 et 70% (Shoukry & Hafez (1979).

#### **I.1.6.1.3. Le vent**

Les vents chauds et les vents secs gênent l'activité des adultes et peut même causer leurs morts (Delrio, 1985), même si c'est un facteur important de dispersion.

#### **I.1.6.1.4. La lumière**

L'idéal rapport lumière /obscurité pour les différents stades de développement est de 12/12. Les fruits les plus piqués sont les fruits qui sont les moins exposés à la lumière, tout les processus vitaux de cette dernière se font le jour a la présence de la lumière Feron (1957).

### **I.1.6.2. Facteurs édaphiques**

La pupaison de *Ceratitis capitata* se déroule dans le sol, qui joue un rôle crucial dans la dynamique de ses populations. Un sol à texture grossière permet une pénétration rapide et profonde des pupes (Delanoue et Soria, 1954). La texture et la profondeur d'enfouissement influencent les taux d'émergence des adultes : les particules fines des sols limoneux et argileux peuvent asphyxier les adultes lors de l'émergence, tandis qu'une texture argileuse favorise ce processus (Medouhes et Kaci, 1997 ; Metna, 2009 ; Ali-Ahmed-Sadoudi, 2011).

### **I.1.6.3. Facteurs biotiques**

#### **I.1.6.3.1. La compétition larvaire**

La compétition larvaire se rencontre au sein du même fruit dans les situations de manque d'hôtes. Elle affecte la taille, la fécondité et la longévité des mouches (Delrio, 1985). Comme elle peut provoquer une mortalité des larves, des difficultés d'exuviations (pupaison), mais aussi, une diminution du poids des adultes à l'émergence (Debouzie, 1977).

En sus, selon Albajes & Santiago Alvarez (1980), les densités larvaires élevées augmentent la proportion des femelles par rapport au nombre total d'individus émergés.

#### **I.1.6.3.2. Les ennemis naturel**

Les ennemis naturels sont cruciaux pour réguler les populations de *Ceratitis capitata* et doivent être sélectifs (Hance, 2001). Les larves âgées et les pupes sont attaquées par divers insectes du sol, comme les fourmis, carabes et staphylins. De plus, des Hyménoptères parasites se développent aux dépens des larves et jeunes pupes (Descoins, 2007). Dans le bassin méditerranéen, le parasite le plus connu est *Opius concolor* (Balachowsky et Mesnil, 1935).

### **I.1.7. Le Contrôle de la cératite**

La lutte contre la cératite demeure un problème très préoccupant compte tenu de la gravité et de l'ampleur des dégâts associés à la difficulté d'intervention surtout en assurant le maintien des techniques tout en présentant le moins de risques pour les travailleurs et les utilisateurs des sites, et qui causent le moins de dommages à l'environnement, sont de loin préférables aux traitements plus toxiques qui ont des effets à large spectre (Garcia-Lora *et al.* 2013).

#### **I.1.7.1. Lutte biologique**

La lutte biologique est la méthode la plus respectueuse de l'environnement, utilisant des ennemis naturels pour réduire les populations de ravageurs. Cependant, son efficacité est limitée par des difficultés d'élevage des insectes ennemis et la complexité des relations hôte-parasite (Aboussaid *et al.*, 2007). Plusieurs parasitoïdes, comme *Opius concolor*, *Opius incisi*, *Opius kraisi*, *Diachasmimorpha tryoni* et *Fopius arisanus*, ont montré leur capacité à diminuer les populations de *Ceratitis capitata* (Reddy *et al.*, 2002). De plus, des micro-

organismes comme les champignons *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* ont également été utilisés pour lutter contre ces insectes.

#### **I.1.7.2. Lutte chimique**

Cette méthode consiste à utiliser des composés chimiques naturels (mercure, arséniates, insecticides d'origine végétale) ou de synthèse (composés chlorés, organiques, organophosphorés), qui s'avèrent toxiques pour certaines classes d'êtres vivants. Leur toxicité peut s'exercer par contact ou par ingestion (Stancic, 1986).

#### **I.1.7.3. Lutte biotechnique**

Selon Boller (1983), le principe de la lutte biotechnique consiste à utiliser des stimuli physiques et chimiques ou agents qui agissent sur le comportement ou le développement des insectes nuisibles.

#### **I.1.7.4. L'anéantissement des mâles**

C'est une méthode basée sur l'utilisation des attractifs sexuels mélangés avec des insecticides. Ces attractifs attirent les mâles et les tuent par contact. En visant sélectivement les mâles, le sexe ratio de la population est perturbé et diminue ainsi le nombre des œufs fécondés. Bien que la théorie montre l'efficacité de cette méthode, les données expérimentales prouvent que cette méthode n'a pas trouvée d'écho favorable envers la cératite (Aboussaid et al., 2007).

#### **I.1.7.5. Confusion sexuelle**

La lutte par confusion sexuelle consiste à diffuser dans l'atmosphère du verger des phéromones sexuelles de synthèse de façon à désorienter les mâles et empêcher la rencontre des deux sexes (Carey et Dowell, 1989),

### **I.2. Généralités sur le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae***

Les champignons entomopathogènes sont des agents pathogènes eucaryotes qui provoquent des maladies chez les insectes et représentent un vaste groupe hétérogène. Ils se répartissent en 700 espèces appartenant approximativement à 100 ordres. Ce type de champignons possèdent des noyaux, des organites bien définis et une paroi chitineuse. Se présentent parfois sous forme de cellules individuelles, mais le plus souvent sous forme de

filament constituant le mycélium et dans lesquels sont rangées les cellules. Leur reproduction se fait par formation de spores sexuées ou asexuées (Nester et *al.*, 1998).

Ils peuvent être transmis de trois façons, au sein d'une population d'insectes : horizontalement (au sein d'une même génération par des individus infectés), verticalement (entre générations) ou être déplacés par des vecteurs. Cette troisième méthode joue un rôle important dans la dissémination des champignons vers de nouveaux habitats. Le cycle de vie des champignons entomopathogènes comprend une phase parasite (de l'infection à la mort) et une phase saprophyte (après la mort) (Kamp et Bidochka et *al.*, 2002).

Le *Metarhizium* est un champignon microscopique qui infecte une large gamme d'insectes (entomopathogène) et provoque la maladie de la « muscardine verte » (Greathead et *al.*, 1994).

Inféodé à une large gamme d'hôtes, *M. anisopliae* a été isolé de plus de 200 d'insectes issus de sept ordres. Ce champignon s'est co-développé en association avec les insectes. Metchnikoff est le premier qui l'a identifié sur la paille de céréales sous le nom de *Anisopliae austriaca* et il l'a nommé *Entomophthora anisopliae*. En 1879, Sorokin assigna ce champignon à la muscardine verte, au genre *Metarhizium*, depuis il est connu sous le nom de *Metarhizium anisopliae* (Metch) (Zimmermann, 1993).

### **I.2.1. Historique de *Metarhizium anisopliae***

Dans les années 80, le champignon *Metarhizium anisopliae* était le premier pathogène utilisé par le Russe Eli Metchinnicoff contre des insectes ravageurs des cultures. Ce scientifique avait noté la présence des spores de tailles différentes pour la même espèce. En Ukraine, ce champignon a été identifié, par Metchinnicoff, sur la paille de céréale sous le nom *Anisopliae austria* où il l'a nommé *Entomophthora anisopliae*. Puis en 1883, le champignon a été nommé *Metarhizium anisopliae* par Sorokin (Benserradj et *al.*, 2014).

### **I.2.2. Taxonomie**

La classification des champignons microscopiques est basée sur les caractères morphologiques du mycélium et des conidies et comme ces caractéristiques sont assez limitées elles compliquent la taxonomie (Bidochka et *al.*, 2015).

Les champignons entomopathogènes appartiennent aux sous-divisions *Mastigomycotina*, *Zygomycotina* (Entomophthorales), *Ascomycotina* (Clavicipitales) et *Deuteromycotina* (Hyphomycètes) (Greathead et *al.*, 1994).

L'espèce *M. anisopliae* est parmi des différents espèces de champignons ont été coassocié avec des membres de la division des Ascomycota sur une base d'homologie d'ADN (Inglis et *al.*, 2001). Cette espèce fait dès lors partie du règne des Fungi, de la division des Ascomycota et de l'ordre des Hypocreales.

Bidoshka et *al.* (2005) notent que la classification de ce genre a été basée sur des caractères morphologiques des conidies et des cellules. Ainsi *Metarhizium anisopliae* est classée comme suit.

**Règne :** Fungi

**Embranchement :** Dikarya

**Sous-embranchement :** Ascomycota

**Classe :** Pezizomycotina

**Ordre :** Hypocreales

**Famille :** Clavicipitaceae

**Genre :** *Metarhizium*

**Espèce :** *Metarhizium anisopliae*

### **I.2.3. Description morphologique et identification de *Metarhizium anisopliae***

D'après Zimmermann (1993 et 2007), *Metarhizium anisopliae* peut être aisément identifié par les spores ovoïdes vertes de longueur variant de 5 à 8  $\mu\text{m}$  qui sont produites en chaînes et qui forment une couche compacte de spores. Les conidies vertes de ce champignon sont formées d'une agrégation des chaînes de conidies. *M. anisopliae* apparaît blanc avant la maturation des spores et il devient après vert foncé.

#### **I.2.3.1. Caractères morphologiques et cultureux :**

Le genre *Metarhizium* est caractérisé par des spores appelées conidies et un appareil végétatif septé (ou mycélium), autrement dit, des filaments (ou hyphes) qui sont cloisonnés (Boiron, 1996).

La couleur des spores est un critère majeur dans l'identification du champignon. *M. anisopliae* produit des spores vertes, allongées avec des cotés parallèles mesurant  $6\mu\text{m}$  de longueur pour 2 à  $3\mu\text{m}$  de diamètre. Les conidiophores sont relativement courts irrégulièrement ramifiés ou non et arrangés en groupes compacts formant une masse de spores (Greathead & *al.*, 1994).

### I.2.3.2. Aspect macroscopique

Après l'ensemencement sur un milieu de culture gélosé, les colonies de la souche apparaissent au bout de 7 jours d'incubation à 28°C et à l'obscurité. Les colonies sont formées d'une agrégation des chaînes conidiennes (Zimmerman et *al.*, 2007) et sont poudreuses où cotonneuse de couleur blanche devenues verdâtre foncée après la maturation, contournées à leur périphérie. (Amouriq et *al.*, 1973). Au 21<sup>ème</sup> jour d'incubation, pratiquement toutes les souches apparaissent pigmentées (**figure 10**).



**Figure 10** : Aspect macroscopique du champignon *M. anisopliae*

### I.2.3.3. Aspect microscopique

*Metarhizium anisopliae* est caractérisée par un mycélium cloisonné, des conidiophores de longueur variable, courte, irrégulièrement ramifiées ou non et arrangés en groupes compacts formant une masse de spores (**figure 11**). Leur aspect microscopique, montre que leur fructification se fait sous forme de phialides ; ces derniers donnent naissance aux conidies ou phialospores. Les phialides peuvent être uniques, en paires ou plusieurs, ont une forme cylindrique ou légèrement gonflés. les spores étant allongées avec des cotés parallèles (Bischoff et *al.*, 2009).

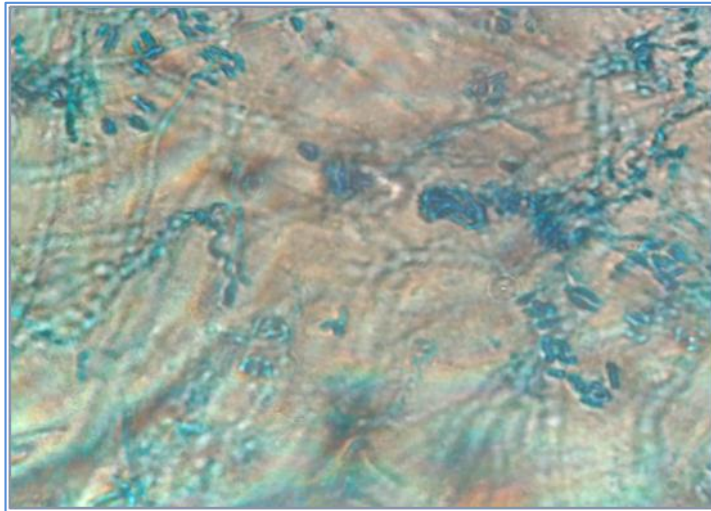
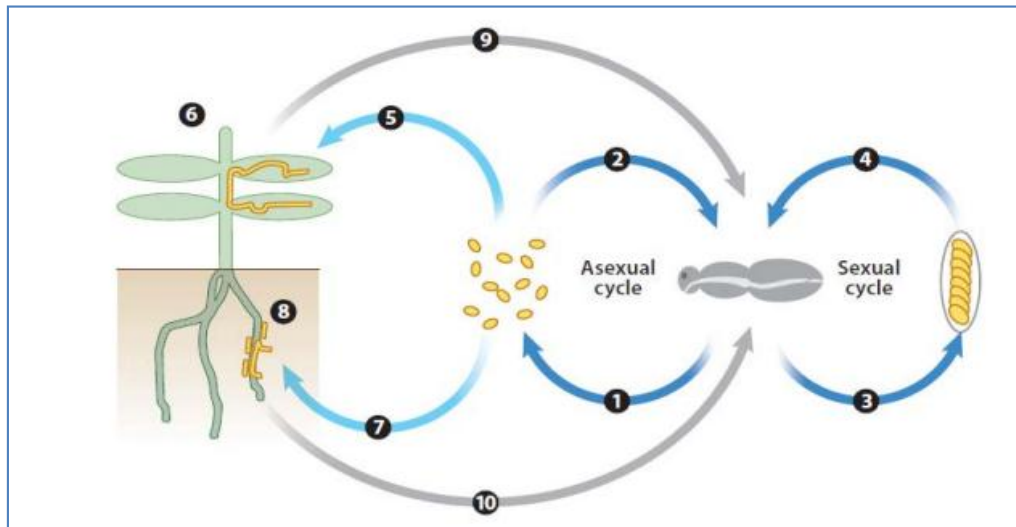


Figure 11 : Aspect microscopique de *M. anisopliae* (Gr x 40)

#### I.2.4. Cycle biologique et mode d'infection de *M. anisopliae*

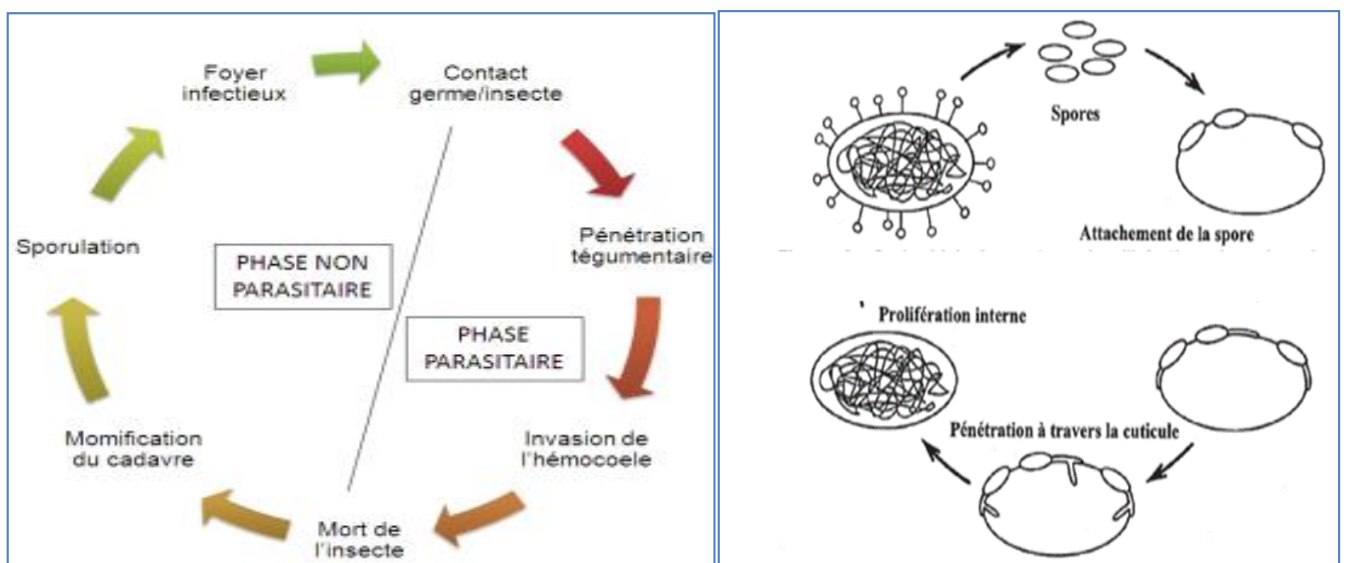
La figure 12 résume ce que l'on connaît du cycle biologique des champignons entomopathogènes de l'ordre des Hypocreales, dont les *Metarhizium sp.* (Boomsma et *al.*, 2014). Ces derniers, ajoutent que les conidies haploïdes produites sur le corps de l'insecte hôte après sa mort (1) sont disséminées passivement dans l'environnement pour infecter de nouveaux hôtes (Bonito et *al.*, 2014). Rarement, des structures de reproduction sexuée, les stromas, sont produites sur un hôte (3). Elles produisent des ascospores après méiose, qui vont infecter d'autres hôtes (4). Les conidies de certaines espèces sont capables d'infecter des tissus végétaux (5) et de coloniser une plante pour s'établir comme endophyte (6). Les conidies présentes dans le sol peuvent coloniser les racines des plantes (7) et se maintenir dans la rhizosphère (8). Des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer si les propagules fongiques produites dans la rhizosphère ou dans les tissus végétaux peuvent infecter les insectes phytophages (9) (10).



**Figure 12 :** Cycle biologique général des Hypocréales  
(Boomsma et al., 2014)

L'infection par les champignons entomopathogènes, notamment *M. anisopliae*, se fait par la pénétration des conidies dans l'hôte par les différentes voies : par la cuticule, les stigmates et par voie digestive. La mort de l'insecte survient en générale après l'infiltration des différents tissus par les filaments mycéliens (Amouriq, 1973, Inglis et al., 1997)

Selon Rakotoarisoa (2007), le cycle de développement de *M. anisopliae*, sur l'insecte hôte, est divisé en deux phases : une phase **parasitaire** de 5 à 6 jours et une phase **non parasitaire** (ou **saprophytique**) (figure 13):



**Figure 13 :** Cycle biologique et mode d'infection de *M. anisopliae*  
(Rakotoarisoa, 2007)

- Le contact est établi entre les spores du champignon, et l'insecte. C'est le début de la phase parasitaire.
- La pénétration tégumentaire, c'est-à-dire la pénétration à l'intérieur de l'insecte, s'effectue via des tubes germinatifs très minces qui traversent la cuticule.
- L'invasion de l'hémocoele signifie que le champignon se développe à l'intérieur de son hôte.
- Les spores produites par les hyphes conduisent à la mort de l'insecte. C'est alors le début de la phase non parasitaire.
- Le cadavre est ensuite momifié, c'est-à-dire transformé en sclérote.
- L'apparition du germe à la surface de l'hôte, combiné à des conditions environnementales satisfaisantes (25°C, >90% d'humidité) permettent la sporulation.
- Une sporulation intense conduit à la création d'un véritable foyer infectieux, disséminant les conidies.

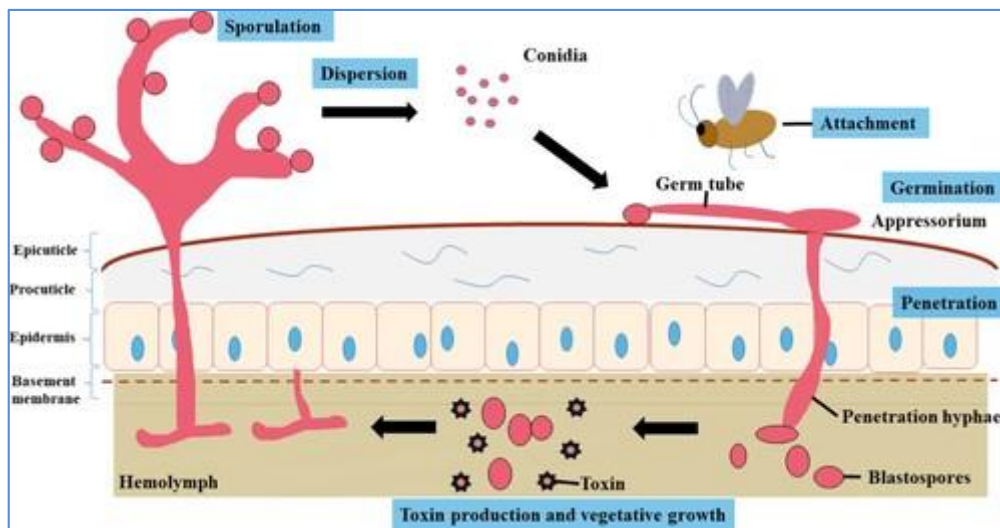
D'après Paillot (1933), les champignons entomopathogènes infectent le système respiratoire et le système alimentaire des insectes.

#### **I.2.5. Mode d'action de *M. anisopliae***

Les microchampignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact rendant tous les stades, œuf, larve et adulte sensibles (De Kouassi, 2001). Les spores qui tombent sur la cuticule de l'insecte ou qui sont ramassées de la végétation, germent après 24 heures. Les hyphes sortant pénètrent la cuticule à l'aide d'enzymes et se désintègrent ensuite en corpuscules hyphales qui se répandent à travers le corps de l'insecte. Ce dernier essaie d'enkyster ces cellules fongiques (surtout quand leur développement est arrêté par une température élevée). Le processus d'infection peut être divisé, selon Pen et al. (2022), en six phases, soient l'adhésion des conidies à la cuticule de l'hôte ; la germination et développement des conidies ; la formation d'un appressorium ; la pénétration de la cuticule ; la colonisation de l'hémolymphe et enfin l'extrusion et la sporulation (**figure 14**).

D'après Gillespie (1999), le développement des hyphes peut être observé dans l'hémolymphe des criquets à partir du 3ème jour d'inoculation. Ce développement commence à s'intensifier à partir du 4ème jour suivant l'infection accompagné d'une réduction

considérable du nombre d'hémocytes. Du mycélium pousse ensuite dans les tissus, lors de ce processus la cuticule rougit ce qui est dû à la production de l'oosporéine par le champignon. Après la mort de l'insecte, du mycélium blanc commence par sortir des articulations. Au bout d'un certain temps, le champignon fructifie et le cadavre devient vert. L'animal est plus ou moins transformé en matière pulvérulente gris-vert et se dissémine peu à peu dans le sol pour infecter d'autres criquets (Amouriq, 1973 ; Vey et *al.*, 1982 ; Greathead et *al.*, 1994 ; De Kouassi, 2001 ; Kooyman, 2007).



**Figure 14 :** Vue d'ensemble du cycle d'infection de *M. anisopliae* chez les invertébrés (Peng et *al.*, 2022)

## I.2.6. Ecologie

### I.2.6.1. Facteur abiotique

#### I.2.6.1.1. La température

Des études ont établi que la température de la croissance de *M. anisopliae* était plus importante à 20°C qu'à 23°C. Mais au-dessus de 35°C, généralement empêchent la croissance ainsi que le développement des champignons entomopathogènes (Benserradj et *al.*, 2014). C'est pour cette raison que les conidies de *M. anisopliae* ne peuvent pas survivre plus de 15 minutes à 40°C. Sa température optimale est de 25°C.

#### **I.2.6.1.2. L'humidité**

La croissance et la sporulation du champignon est aussi influencé par le taux d'humidité, La plupart de ces champignons exigent au moins 95 % de l'humidité relative à la surface de l'insecte afin de germer (Hallsworth et Magan et *al.*, 1999). les souches de *M. anisopliae* peuvent germer et infecter efficacement les insectes même le taux d'humidité est faible mais à condition qu'il y ait suffisamment d'humidité dans les micro habitats (Inglis et *al.*, 2001), car les études démontrent que les conditions sèches justes après l'application des champignons entomopathogènes sont moins pathogènes. L'humidité relativement élevée plus de 90% dans les endroits abrités fournit un environnement favorable pour le développement des spores. (Liu et *al.*, 2003).

#### **I.2.6.1.3. Le sol**

Le sol est l'habitat dans lequel le champignon *M. anisopliae* pousse naturellement, nécessaire pour l'application correcte de ces champignons dans le champ. Ces derniers, Ils sont présentent presque dans tous les sols du monde. Mais ils préfèrent un sol acide ayant un pH inférieur à 7 (Joséphine et Marie, 2015). Son développement est favorisé par les climats tempérés et humides. Alors, il se concentre en grande quantité dans les pays ayant une latitude supérieure à 40°Nord comme les Etats-Unis (Joséphine et Marie, 2015).

#### **I.2.6.2. Facteurs biotiques**

L'espèce *M. anisopliae* est un champignon entomopathogène donc l'insecte est son hôte principal. Après la pénétration dans l'insecte, ce champignon entre directement dans l'appareil respiratoire de l'hôte puis il se multiplie dans toutes les surfaces de l'insecte. Ainsi, tous les organes de l'hôte sont concernés (Ferron et *al.*, 1991)

### **I.2.7. Applications agronomiques de *M. anisopliae***

#### **I.2.7.1. Souches virulentes de *Metarhizium* utilisés en lutte microbiologique**

Le potentiel des souches virulentes de *Metarhizium* est extrêmement large, Plusieurs espèces de ce champignon ont été identifiées à l'heure actuelle pour leur spécificité sur certains insectes. *M. acridium* est uniquement pathogène des orthoptères, mais *M. brunneum* a été isolée à partir de coléoptères, lépidoptères, diptères, hémiptères et thysanoptères. Il existe donc des isolats divers et variés, au spectre d'action large, autant que spécifique. *Metarhizium*

*anisopliae* est plutôt considérée comme une espèce qui infecte une large gamme d'insectes : diptères, thysanoptères, arachnides, blattoptères, etc... (Bisenz et *al.*, 2018).

#### **I.2.7.2. Ravageurs sensibles à *M. anisopliae***

Les espèces de *Metarhizium* sont pathogènes d'une large gamme d'arthropodes. Dans le monde, des espèces particulières de *Metarhizium* sont utilisées pour lutter contre de nombreux prédateurs des cultures comme : *Adoryphorus couloni* (Coleoptera : Scarabaeidae) en Australie, le criquet (Acrididae) en Afrique (produit commercial sous le nom de "Green muscle"), *Cleonus punctiventris* (Coleoptera : Scarabaeidae) et *Anisoplia austriaca* (Coleoptera : Curculionidae) en Amérique. Certaines souches sont également exploitées pour lutter contre les moustiques dans les régions à fort taux de paludisme (Bisenz et *al.*, 2018).

#### **I.2.8. Les métabolites bioactifs des champignons entomopathogènes**

La plupart des microorganismes produisent des composés bioactif appelés métabolites secondaires (Demain et *al.*, 1983); elle peut tout produit à activités antibiotiques, pharmaceutique et toxiques (Mycotoxines) (Jae-Hyuk et Keller,2005).

##### **I.2.8.1. Les toxines**

Les mycotoxines sont des composés naturels toxiques, élaborés par de nombreuses espèces de moisissures. Ce sont des métabolites secondaires produits par les champignons et n'ayant pas de rôle évident dans l'économie de la cellule vivante qui les synthétise. Le terme « mycotoxine » est apparu pour la première fois pour décrire les toxines impliquées dans une maladie, inconnue à l'époque, qui a tué près de 100 000 volailles en Angleterre au début des années 1960 (Blout, 1961).

On distingue deux types de toxines :

- Les endotoxines qui sont des toxines produits à l'intérieur de la cellule
- Les exotoxines qui sont des toxines sécrétées dans le milieu de culture par les cellules durant la phase active de leur croissance (Bourges et Jussey, 1971).

Plusieurs mycotoxines ont été identifiés et/ou isolées de filtrats de culture ou de mycélium de : *Beauveria*, *Metarhizium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Isaria* et *Entomophthora* (Ignoffo,1988). Parmi les mycotoxines déjà identifié on distingue : les destruxines, la cordycépine et les aflatoxines.

### **I.2.8.2. Les enzymes**

Plusieurs enzymes de champignons peuvent être d'intérêt considérable dans la pathologie des insectes. Il s'agit des :

#### **I.2.8.2.1. Lipases**

L'épicuticule qui est la couche externe de la cuticule de l'insecte, est de nature hydrophobe et agit comme la première barrière contre les attaques microbiennes. Un mélange hétérogène de lipides, d'esters et d'acides gras est le principal constituant de la cuticule des insectes. Les lipases sont responsables de l'hydrolyse des liaisons ester des lipoprotéines, des graisses et des cires présentes à l'intérieur du tégument de l'insecte. Divers types d'insectes ont été largement contrôlés par les lipases extracellulaires produites par *M. anisopliae* (St-Leger, 1994).

#### **I.2.8.2.2. Les protéases**

Lorsque l'épicuticule se décompose par les lipases le champignon produit de grandes quantités de protéase Pr1, qui dégrade le matériel protéiques. Les protéines solubilisées sont dégradées par les aminopeptidases et les exopeptidases jusqu'en acides aminés ; servant de nutriments aux champignons entomopathogènes (St-Leger, 1994).

Les activités de Pr1 et Pr2 ont été déterminés sur *Beauveria bassiana*, *M. anisoplaie*, *C. militaris* et *Verticellium lecanii*. Ces protéases sont sécrétées pendant la première étape de dégradation de la cuticule et ils stimulent le signale lors de la mécanisme de transduction en activant la protéine kinase A (PKA) (Gang, 2009).

#### **I.2.8.2.3. Les chitinases**

Ce sont des enzymes largement distribuées dans les plantes, les bactéries, les champignons, les insectes et les vertébrés (Huang, 2005). Elles agissent en synergie avec les protéases afin de dégrader la cuticule de l'insecte (St-Leger, 1991) et sont associées aux différents stades des champignons entomopathogènes par exemple la germination, la croissance des hyphes, la nutrition et la défense contre les concurrents (Adams, 2004).

### **I.2.8.3. Les Métabolites secondaires produits par *M. anisopliae***

Lors de la pénétration de l'hyphe dans l'insecte, *M. anisopliae* produit des mycotoxines essentielles, dont le rôle est d'accélérer la mort de l'hôte, mais aussi la prolifération du champignon. Ces dernières sont de plusieurs natures, mais les plus intéressantes font partie du

groupe des destruxines. Leur toxicité joue un rôle important dans le déroulement de la pathogénèse du champignon, de plus, elles possèdent un large spectre d'insectes cibles. Les résultats d'une étude (effectuée sur 10 espèces, de plusieurs ordres : Lépidoptères, Diptères, Coléoptères) révèlent que la destruxine E présente la plus forte activité cytotoxique. Testé sur le lépidoptère *Galleria mellonella*, cet effet cytotoxique provoque une paralysie tétanique immédiate, mais réversible sur le sujet (Benserradj, 2014). La paralysie serait attribuable à une interaction entre les destruxines et les canaux  $Ca^{2+}$  endogènes de l'insecte, ce qui provoque la dépolarisation de ses muscles. Cependant, l'organisme attaqué semble détoxifier rapidement les mycotoxines, d'où la réversibilité des effets. Il est possible que la mortalité rapide de l'insecte soit provoquée par une attaque des toxines au niveau de l'intestin, en créant une perturbation de la balance ionique par un mode d'action semblable aux toxines du *Bacillus thuringiensis* (Bisenz et al., 2018)

### **I.3. Données générales sur l'hémolymphe des insectes**

L'hémolymphe est le seul liquide extracellulaire qui circule dans le corps de l'insecte, son volume représente 1 à 45 % du poids total de l'insecte. Ce liquide a un pH qui varie de 6 à 7,5, il peut être clair ou coloré parfois par des pigments verts ou jaunes (Wigglesworth, 1972 ; Raccaud-Schoeller, 1980).

#### **I.3.1. Composition de l'hémolymphe**

Ce liquide comprend le plasma et les différents types de cellules nucléées en suspension ou adhérentes à certains tissus, appelées les hémocytes. Il est composé de :

- **Plasma**

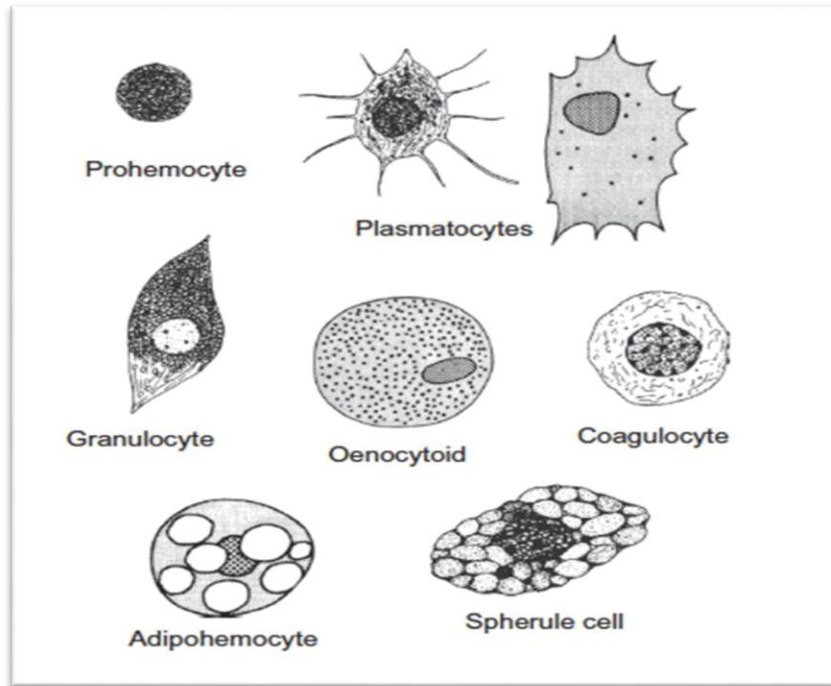
Le plasma est formé d'une importante quantité d'eau, de glucides, de protéines de lipides, mais aussi de substance non organiques telles que les ions ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  et  $Cl^-$ ), les acides uriques et organiques, ainsi que les enzymes et les acides aminés (Heusser et Dupuy, 2015).

- **Hémocytes**

Les hémocytes dérivant du mésoderme embryogénique ou apparût à la suite de division des prohémocytes, sont des cellules nucléées qui peuvent circuler avec le plasma, pénétrer dans les cavités corporelles se déplaçant ou non à l'intérieur du cœur (Chapman, 1972 ; Wigglesworth, 1972 ; Amouriq, 1973 ; Raccaud-Schoeller, 1980 et Klowden, 2013).

### I.3.2. Les différents types d'hémocytes:

On considère qu'il existe chez les insectes trois types d'hémocytes bien définis (figure15) :



**Figure 15** : Les différentes catégories cellulaires de l'hémolymphe des insectes (Klowden, 2013)

#### ✓ Les prohéocytes ou pro leucocytes :

Ces cellules de petite taille, avec un grand noyau et dont le cytoplasme est riche en ribosomes et en acides nucléiques, sont souvent en division mitotique représentant ainsi les cellules souches de tous les autres types d'hémocytes.

#### ✓ Les plasmatoctes ou phagocytes :

Dérivant des prohéocytes et de forme variable, ils sont caractérisés par un grand noyau ovoïde situé au centre du cytoplasme basophile. Ces cellules sont douées de phagocytose.

#### ✓ Les granulocytes

Ce sont des cellules polymorphes dont le noyau est relativement petit et le cytoplasme renferme de nombreux granules remarquables, ces cellules interviennent dans le métabolisme intermédiaire.

### **I.3.3. Les fonctions physiologiques des Hémocytes :**

Les hémocytes peuvent être impliqués dans le mécanisme intermédiaire. Ils renferment une variété de substances nutritives comme le glycogène, les lipides et les protéines (Gupta et Sutherlab, 1967 cités par Habes, 1989).

Une autre fonction des hémocytes, à savoir, l'encapsulation des corps étrangers qui est une action de défense contre les endoparasites. En effet, les hémocytes forment une agrégation autour du corps étranger et après plusieurs jours, de la mélanine est posée à la surface du parasite (Nappi et *al.*, 1972 cités par Habes, 1989).

De plus, les hémocytes sont caractérisées par le phénomène de phagocytose des petites particules qui est réalisé surtout par les plasmatoctes. C'est une réaction où les tissus en histolyse au moment de la mue et les particules solides sont ingérés (Chauvin, 1956).

Les hémocytes sont, également, dotées de la fonction de coagulation qui consiste en l'accumulation des hémocytes qui colmatent la brèche, ce qui permet à l'insecte d'attendre la mue suivante assurant ainsi le rétablissement de la continuité du tégument. Ce sont surtout les cystocytes ou coagulocytes qui sont responsables de ce processus (Chapman, 1972).

### **I.3.4. L'hémolymphe et la défense : immunité et protection**

Les granulocytes et les plasmatoctes de l'hémolymphe interviennent dans les réactions immunitaires, par les processus de phagocytose et d'encapsulation (Heusser et Dupuy, 2015). Les mêmes auteurs, ajoutent que la phagocytose est un processus cellulaire comportant quatre étapes successives :

- l'adhérence du microorganisme aux cellules phagocytaires ;
- l'ingestion du microorganisme par les cellules phagocytaires ;
- la digestion du microorganisme par des enzymes des lysosomes ;
- l'expulsion des résidus non digérés du microorganisme.

L'encapsulation implique l'action coordonnée de plusieurs hémocytes se réunissant autour du microorganisme et en réalisant la dégradation. Chez certains Insectes, l'hémolymphe peut intervenir dans la protection et la défense vis-à-vis des prédateurs. Elle peut être libérée au niveau de diverses régions du corps. En présence d'un prédateur, la Chrysomèle noire libère un liquide rouge-orangé par la bouche et les articulations, tout en se tenant immobile. Il s'agit d'hémolymphe dont le goût est désagréable pour les prédateurs. En cas de rupture locale de la cuticule, l'hémolymphe intervient comme agent cicatrisant (Heusser et Dupuy, 2015).

## **Chapitre II**

### **Approche méthodologique**

## **Chapitre II : Approche méthodologique**

### **II.1. Problématique et objectifs**

La mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* est l'un des ravageurs des fruits les plus nuisibles ayant une importance de quarantaine en raison de sa gamme d'hôtes extrêmement large. L'utilisation de champignons entomopathogènes constitue une approche prometteuse avec des applications potentielles dans la lutte intégrée contre les ravageurs.

En outre, le développement de méthodes de lutte contre les insectes peut impliquer l'utilisation de la machinerie fongique pour provoquer des perturbations métaboliques, ce qui peut accroître son efficacité en entravant le développement des insectes.

Les espèces d'insectes, y compris *C. capitata*, dépendent de leur potentiel de reproduction, de leurs réserves de nutriments, de leurs activités métaboliques et de leur réponse immunitaire pour survivre. Par conséquent, l'objectif de cette étude était d'étudier l'impact du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur quelques paramètres biologiques (mortalité et hémolymphe) de la mouche méditerranéenne des fruits. Les objectifs essentiels de cette contribution concernent une meilleure connaissance sur l'utilisation du champignon entomopathogène dans le domaine de la protection des cultures, mais aussi, un développement des méthodes de lutttes visant à préserver l'environnement des dégradations et de la pollution.

### **II.2. Présentation de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (I.N.R.A.A.)**

#### **III.2.1. Aperçu sur la station I.N.R.A.A. de Mehdi Boualem (Baraki)**

La station de recherche et d'expérimentation de Mehdi Boualem communément appelée station de recherche polyvalente et s'étalant sur une superficie de 24 hectares, a été créée en 1966 par arrête ministérielle N°539SM du 30 mai1989. Avec le passage de l'I.N.R.A.A. au statut d'EPST en vertu du décret exécutif N° 99-256 portant organisation scientifique des EPST, la station de recherche et d'expérimentation de Mehdi Boualem constituera l'un des supports pour la domiciliation des nouvelles structures de Recherche, telles les unités, divisions et les grands instruments d'appui à la recherche (I.N.R.A.A., 2016).

## **II.2. Présentation de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (I.N.R.A.A.)**

### **III.2.1. Aperçu sur la station I.N.R.A.A. de Mehdi Boualem (Baraki)**

La station de recherche et d'expérimentation de Mehdi Boualem communément appelée station de recherche polyvalente et s'étalant sur une superficie de 24 hectares, a été créée en 1966 par arrêté ministérielle N°539SM du 30 mai 1989. Avec le passage de l'I.N.R.A.A. au statut d'EPST en vertu du décret exécutif N° 99-256 portant organisation scientifique des EPST, la station de recherche et d'expérimentation de Mehdi Boualem constituera l'un des supports pour la domiciliation des nouvelles structures de Recherche, telles les unités, divisions et les grands instruments d'appui à la recherche (I.N.R.A.A., 2016).



**Figure 16 : Division de recherche en Protection des cultures  
(Photographie originale)**

### **II.3. Echantillonnage des fruits piqués**

Le matériel animal pour notre étude expérimentale concerne les adultes et les pupes de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata*. Pour les obtenir, nous avons effectué des prospections au niveau de vergers d'agrumes, mais aussi des vergers d'abricots, situés aux

alentours de la station expérimentale de l'I.N.R.A.A. (Mehdi Boualem, Baraki), Pendant deux mois, d'avril à juin.

Les vergers prospectés, n'ont subi aucun traitement chimique ni des pratiques de piégeage en masse de la cératite.

La récolte des fruits (oranges ou abricots) n'est pas totalement au hasard, on sélectionne les fruits en cours de maturation ou mûrs qui sont lourdement infestés. Une vingtaine d'arbres distants d'environ 100 m l'une de l'autre ont été échantillonnées par site. Ainsi, nous avons observé une importante infestation de ces vergers par la cératite traduite par une perte de la majorité des fruits qui sont tombé prématurément au sol (**figures 17 et 18**). Ces deniers, criblés par des piqûres de ponte autour desquelles se produit généralement une décoloration, ont été échantillonnés dans des sacs en papiers et transférés, par la suite, vers le laboratoire de Protection des Cultures de l'I.N.R.A.A. pour un éventuel élevage de masse de la cératite



**Figure 17 :** Oranges attaquées par la cératite

**(Photographies originales)**



**Figure 18 :** Abricots piqués par *C. capitata* (Photographies originales)

#### **II.4. Elevage de la cératite**

Une salle de 38 m<sup>2</sup> a été préparée pour l'élevage de *C. capitata*. Le conditionnement de la salle d'élevage a porté, en plus de l'hygiène, sur 3 paramètres essentiels : la température ( $26\pm 2$  °C), l'humidité ( $60\pm 15\%$ ) et la photopériode (12h/12h) et Pendant une période de deux mois, d'avril à juin. Les étapes de l'élevage de masse de la cératite (**figure 19**) sont comme suit:

✓ Les fruits infestés par *C. capitata*, échantillonnés au niveau des vergers prospectés, ont été conservés au niveau d'une chambre d'élevage, dans des boîtes en plastique contenant une couche d'environ 2 cm de sable légèrement humidifié et préalablement autoclavé et tamisé.

✓ Les couvercles des boîtes sont découpés au milieu et le plastique est remplacé par du tulle à mailles fine pour permettre l'aération des boîtes ;



**Figure 19** : Dispositif expérimental pour l'élevage de la cératite  
(Photographies originales)

✓ Les larves du troisième stade quittent le fruit d'une brusque détente pour s'enfoncer, à faible profondeur dans le sable, où s'effectue la nymphose, donnant, ainsi, des pupes ;

✓ Les pupes de *C. capitata*, récupérées par tamisage quotidien du sable, sont placées dans des boîtes de Pétri contenant du sable humide. Ces dernières, sont introduites dans les cages d'émergence des adultes en plexiglas perforé et en tulle à mailles fines. Pour certains fruits, tels que les abricots, ayant subi une décomposition poussée, le liquide de décomposition mouille fortement le sable. Dans ce cas, la récupération des pupes se fait par immersion dans l'eau. Les pupes surnagent et sont ainsi recueillies facilement ;

- ✓ Les cages d'émergence sont munies de pondoirs et d'un entonnoir en plastique percé de trous et recouvert de tissus humide pour permettre la collecte des œufs ;
- ✓ Munir, également, ces cages de boîtes contenant du coton imbibé de solution sucrée et des fruits mûres et sains, permettant, ainsi aux adultes de s'alimenter et aux femelles de pondre leurs œufs ;
- ✓ Après 13 jours, les adultes émergent et s'accouplent après leur maturité sexuelle.
- ✓ Une fois l'accouplement effectué et la ponte des œufs sur les fruits sains placés dans la cage, ces fruits sont placés dans les boîtes en plastique contenant du sable, afin d'obtenir des pupes.

## **II.5. Technique de multiplication (ensemencement) et conservation de la souche fongique *Metarhizium anisopliae***

La souche fongique utilisée pour nos essais concerne l'espèce *Metarhizium anisopliae* (code IMI: 330189) et provient du département d'entomologie de l'Institut Pasteur de Delly Brahim sous forme de poudre sèche de spores. Cette étape a été réalisée au mois de mai..

Afin d'utiliser des isolats purs du champignon utilisé, nous avons opté pour la culture monosporique (**figure 20**) et qui d'après Rappily (1968) consiste à :

- Stériliser tout matériel en verre dans une étuve à 180°C pendant 30 mn ;
- Liquéfier le milieu de culture au bain Marie et l'écouler dans les boîtes de Pétri à raison de 0,5 cm d'épaisseur par boîte puis laisser refroidir ;
- Après refroidissement, préparer une suspension mycélienne et y déposer 2 à 3 gouttes par boîte puis les étaler à l'aide d'un râteau (pipette Pasteur modelée au bec bunsen) ;
- Fermer hermétiquement les boîtes de Pétri à l'aide d'un film plastique ou du papier Cellophane. Cette opération est effectuée sous une Hotte à proximité d'un bec bunsen ;
- Placer les boîtes dans une étuve à 25°C  $\pm$  2°C pendant 48 à 72 heures pour la germination ;
- Après germination des spores, procéder au repiquage par prélèvement des spores qui ont germé puis les repiquer dans d'autres boîtes qui seront toujours placées à 25  $\pm$  2°C, et ce jusqu'à obtention d'une souche pure de *M. anisopliae* ;

Le milieu de culture utilisé est le Potato Dextrose Agar (P.D.A.) réalisé à partir de 100 g de pomme de terre, 10g de Gélose, 10g d'Agar agar et 500ml d'eau distillée. La technique de réalisation du PDA est la suivante :

- ✓ Peser 100g de la pomme de terre tranchées (qui a été déjà pelées et bien lavées) et les mettre dans un béccher et rajouter 500 ml d'eau distillées.
- ✓ Sur une plaque chauffante laisser le bouillir pendant 20 minutes.
- ✓ Puis verser l'extrait de la pomme de terre dans Erlenmeyer et rajouter d'eau distillé jusqu'aux obtenir 500 ml, ajouter progressivement 10g de glucose et 10g d'Agar et mettre sur la plaque chauffante pendant 15min (+un baron magnétique pour assurer l'agitation).
- ✓ A l'aide d'un PH mètre mesurer le PH du milieu (PH=7).
- ✓ Autoclaver le mélange à la température de 125° C, la pression de 1,4 bar pendant 15 minutes.
- ✓ Sous hotte à flux laminaire, couler la solution obtenue sur des boîtes de Pétri et laisser refroidir.



**Figure 20** : Les différentes étapes d'ensemencement de *M. anisopliae* au laboratoire  
(Photographies originales)

Pour conserver le cryptogame, nous avons utilisé l'huile de tournesol qui est relativement disponible, pour cela nous avons procédé comme suit :

- Après avoir prélevé à l'aide d'un scalpel les semences de *M. anisopliae* ayant bien sporulé (âgées de 10 à 21 jours), les introduire dans des flacons en plastique contenant de l'huile de tournesol (20 à 30 ml) ;
- Fermer hermétiquement les flacons puis bien agiter pour homogénéiser le contenu et les ranger. Faire un test de viabilité des spores après chaque 10 à 15 jours.
- Les flacons contenant le champignon en question, sont, ensuite, conservés au réfrigérateur à 4°C.

## **II.6. Fermentation et extraction des métabolites secondaires de *M. anisopliae***

Pour la fermentation, le milieu de culture PDA a été sélectionné pour une production optimale des métabolites secondaires et placé dans un Erlen Meyer de 250 ml. Ce dernier contient 90 ml de milieu de fermentation est inoculé avec des morceaux de gélose (PDA) contenant du mycélium découpés par une pipette pasteur stérile. Les cultures sont ensuite incubées à 28°C sous agitation pendant 14 jours (maximum de production des toxines) (Benserradj, 2014).

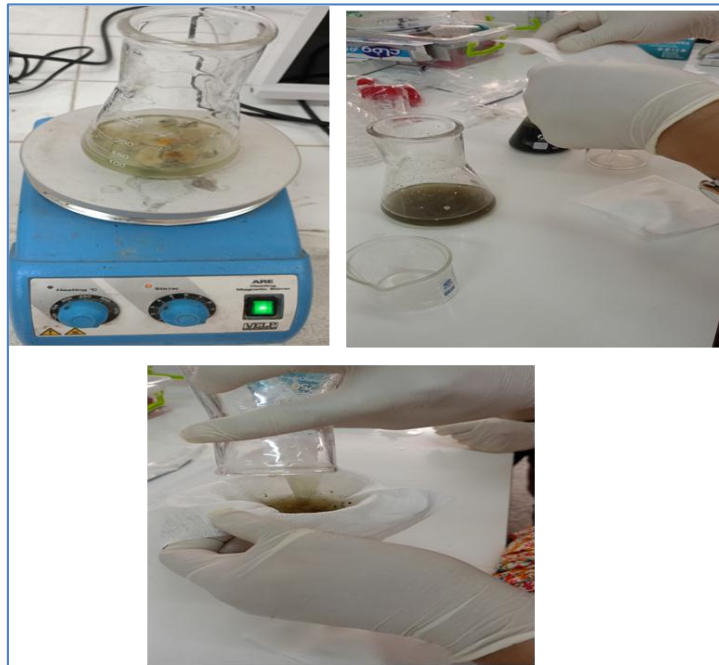
Pour ce qui est de l'extraction des métabolites secondaires (**figure 21**), nous nous sommes référés à la méthode décrite par Nwakanma et *al.* (2016). À la fin de la période de la fermentation en milieu solide, les métabolites secondaires sont extraits par 3 solvants de polarité différente : l'acétate d'éthyle, le chloroforme et l'n-hexane. Initialement, 80 ml d'acétate d'éthyle sont versés dans les flacons contenant le son de riz ou le son de blé fermentés. Une tige de verre est utilisée pour casser les amas formés pendant l'incubation. Au bout d'une agitation de 24 heures, le solvant est filtré à travers du papier wattman dans un bécher. La phase solide ensuite ré-extraite par la suite par les deux autres solvants avec la même manière. En fin, toutes les phases organiques sont laissées sécher à l'air, pesées et dissoutes dans le DMF, puis stockées à 4°C.

L'identification des différents métabolites secondaires de *M. anisopliae* a été réalisée grâce à la technique de chromatographie en phase solide.

## **II.7. Préparation et dosage de la solution entomopathogène**

A partir d'une culture âgée de 15 à 20 jours ayant bien sporulée, nous avons prélevé l'ensemble des colonies de cette culture que nous avons introduit par la suite dans un Erlen

Meyer contenant 100 ml d'eau distillée stérilisée qui sera fermé hermétiquement afin d'éviter toute contamination. Après une agitation de 10 minutes et cela pour permettre une libération maximale des spores, nous avons filtré la solution à travers une gaze et récupéré le filtrat à partir duquel le nombre de spores trouvé dans la solution mère sera évalué à l'aide de la cellule de Malassez.



**Figure 21 :** Extraction des métabolites secondaires de *M. anisopliae*  
(Photographies originales)

Pour le dénombrement des spores, le principe consiste à compter le nombre des spores existant dans les 10 carreaux constituant les deux diagonales de la cellule afin de déterminer la concentration de la solution mère en utilisant la relation suivante :

100 spores ————— 10<sup>6</sup> spores/ml.  
Nombre des spores comptées —————>

|  |
|--|
| $C1 \text{ (spores / ml)} = (10^6 \times X) / 100$ |
|--|

**Soit :** X = nombre de spores trouvées dans les 10 carreaux de la cellule de Malassez .

Pour obtenir la dose voulue, c'est-à-dire une DL<sub>50</sub> = 25.4 x10<sup>5</sup>, obtenue auparavant par Boudjelida et Soltani (2011) contre la cératite, nous avons procédé à des dilutions successives de la solution mère titrée à la concentration la plus élevée. Nous avons utilisé, de ce fait, la formule suivante :

|                     |
|---------------------|
| $C1 . V1 = C2 . V2$ |
|---------------------|

Soit : C1 : La concentration de la solution mère

V1 : Volume initial d'eau distillée mis dans l'Erlen Meyer (100ml)

C2 : La concentration voulue (à obtenir)

$$V2 = (C1 \cdot V1) / C2$$

Avec : V2 : Volume d'eau correspondant à la concentration C2

Et le volume d'eau à ajouter sera alors :

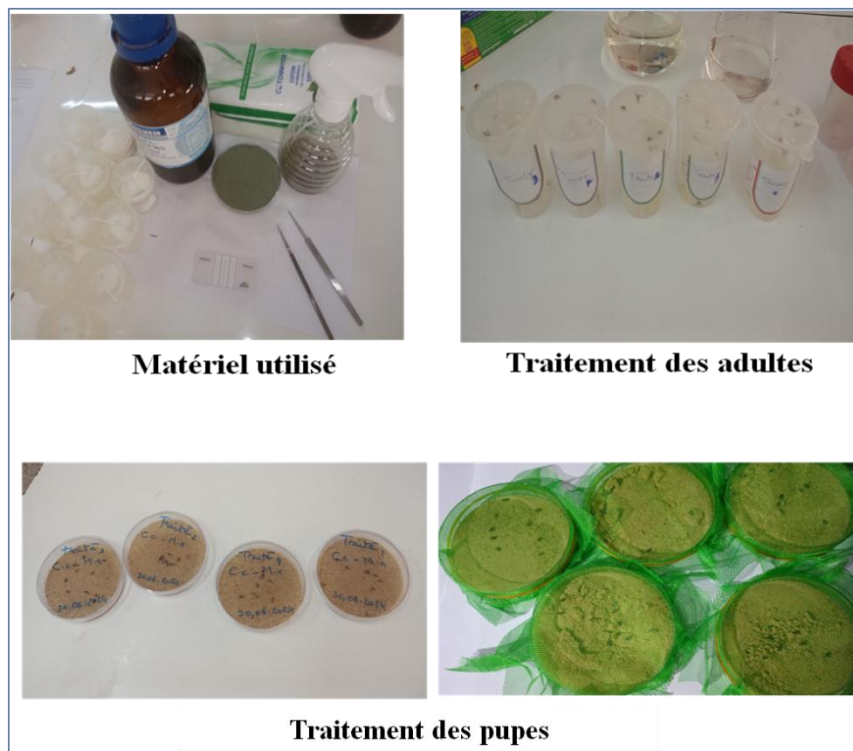
$$V = V2 - V1$$

### II.8. Traitement des adultes et des pupes de *C. capitata*

Au sein de laboratoire de la D.R.P.C., à la fin du mois de juin., des bio-tests ont été effectués contre les adultes ainsi que les pupes de la mouche méditerranéenne des fruits, ce, en utilisant le champignon entomopathogène *M. anisopliae*.

Les conditions expérimentales prises en considération sont une température constante de  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  ; Une humidité relative de  $70 \pm 15\%$ .

Cette étude a permis d'observer les effets de *M. anisopliae* sur le comportement des deux stades traités de *C. capitata* jusqu'à leurs décès (**figure 22**).



**Figure 22** : Traitement des adultes et des pupes de *C. capitata* par l'extrait aqueux de *M. anisopliae* (Photographies originales)

## II.9. Paramètres étudiés

### II.9.1. Effet de *M. anisopliae* sur la mortalité des pupes et des imagos de *C. capitata*

Le pourcentage des mortalités observées chez les larves de troisième stade larvaire et des adultes, les témoins traités et estimés selon la formule suivante :

$$\text{(Mortalité observée = [Nombre de morts / Nombre total des individus] x 100)}$$

Les mortalités observées sont ensuite corrigées par la formule d'Abbot (1925) :

$$\text{M.C. (\%)} = (\text{M2} - \text{M1} / 100 - \text{M1}) \times 100$$

Soit :

M.C (%) : Pourcentage de mortalité corrigé.

M1 : Pourcentage de mortalité dans le lot témoin.

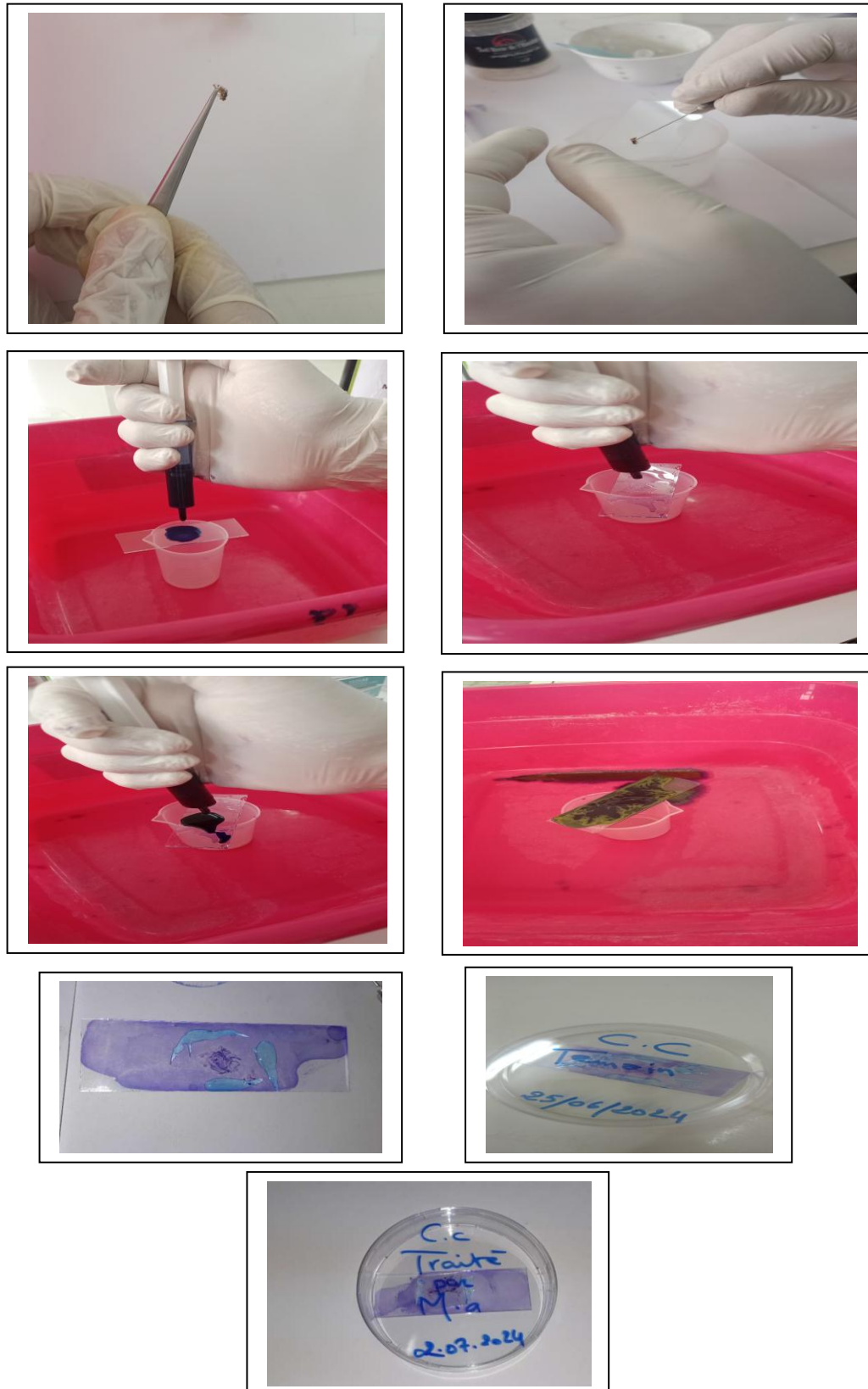
M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité

### II.9.2. Effet de *M. anisopliae* sur l'hémolymphe des imagos de *C. capitata*

Pour cette étude nous avons utilisé 10 individus pour chaque traitement, parmi lesquels 5 témoins sur lesquels on a pulvérisé de l'eau distillée et les 5 autres sont traités par la solution entomopathogène appropriée.

Le frottis sanguin est réalisé 3 jours après le traitement. D'après Guzo et Stoltz (1987) cités par Habes (1989) le frottis sanguin se réalise de la manière suivante (**figure 23**) :

- Prélever 3 à 5  $\mu\text{l}$  d'hémolymphe fraîche au moyen d'une micropipette graduée suite à une incision entre la patte postérieure et le thorax
- Etaler une couche mince de ce volume, puis faire sécher la lame à l'air
- Après séchage, y déposer 20 gouttes de May- Grunwald dilué ou bleu de Méthylène et laisser reposer pendant 3 minutes, on ajoute quelques gouttes d'eau distillée et laisser pendant 1 minute.
- Enlever l'excès du colorant avec de l'eau distillée par rinçage
- Ajouter 40 gouttes de Giemsa et laisser pendant 10 minutes, puis rincer la lame à l'eau courante.



**Figure 23** : Réalisation du frottis hémolymphatique de *C. capitata* (témoins et traités)  
(Photographies originales)

- Laisser sécher la lame à l'air. Après séchage faire un montage entre lame et lamelle en appliquant une fine couche du liquide de Faure aux extrémités de la lamelle, qui sera collée sur la lame puis laissée sécher.
- Le comptage des différents types d'hémocytes se fait sous microscope optique à l'aide d'un compteur manuel.

La détermination des différentes catégories hémolytiques à été réalisée par comparaison avec les travaux de références menés par Wigglesworth (1972), Raccaud-Schoeller (1980), mais aussi, les récents travaux de recherches réalisés par Kadota et *al.* (2003), de Negeiro et *al.* (2009), Klowden (2013) et enfin Rosales (2017).

#### **II.10. Exploitation statistique des résultats**

Pour approuver l'efficacité des différents facteurs étudiés, nous avons fait appel à l'analyse de la variance (ANOVA) à n critère de classification dans le but de tester la significativité statistique des différences entre les facteurs étudiés (Statsoft, 2010).

# **Chapitre III**

## **Résultats obtenus**

## **Chapitre III : Résultats obtenus**

Les résultats mentionnés dans ce chapitre concernent une évaluation de l'action toxique d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* vis-à-vis des pupes et des adultes de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata*, considérée comme un ravageur redoutable de l'arboriculture fruitière dans le monde, plus précisément en Algérie. Les paramètres étudiés lors de ce travail sont la mortalité chez les imagos ainsi que la cytotoxicité de l'hémolymphe de l'insecte en question.

Pour rappel, l'objectif principal de ce présent travail consiste à proposer *M. anisopliae* comme alternative aux intrants chimiques utilisés, actuellement, contre *Ceratitis capitata*, ce, pour une meilleure connaissance sur l'utilisation du champignon entomopathogène dans le domaine de la protection des cultures, mais aussi, un développement des méthodes de luttes visant à préserver l'environnement des dégradations et de la pollution.

### **III.1. Identification des métabolites secondaires du champignon *M. anisopliae***

Les données obtenues après l'extraction des différents métabolites secondaires provenant du champignon en question, par chromatographie en phase solide, montrent la présence de molécules connues, notamment des acides aminés, des acides organiques, des glucides et des stérols. En plus des molécules citées auparavant, nous avons, également, pu identifier des composés avec des structures connues sur la base des recherches dans les bases de données. Il s'agit notamment des destruxines, des alcaloïdes hirsutellones, des macrocycles torribiellutines, des naphthoquinones naphthogéranines et des trichothécanes, naphthoquinones naphthogéranines, et trichothécanes spirotenuipesines, paecilomyces et tenuipesine.

### **III.2. Effet de *M. anisopliae* sur la mortalité des adultes de *C. capitata***

Le traitement (pulvérisation) des adultes de *C. capitata* par *M. anisopliae* à une dose de  $25.4 \times 10^5$  spores/ml ( $DI_{50}$  obtenue par Boudjelida et Soltani en 2011), a été conduit au laboratoire à une température constante de  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  et une humidité relative de  $70 \pm 15\%$ . La période d'observation des individus témoins et traités s'est achevée après 07 jours, soit après mort totale de tous les individus.

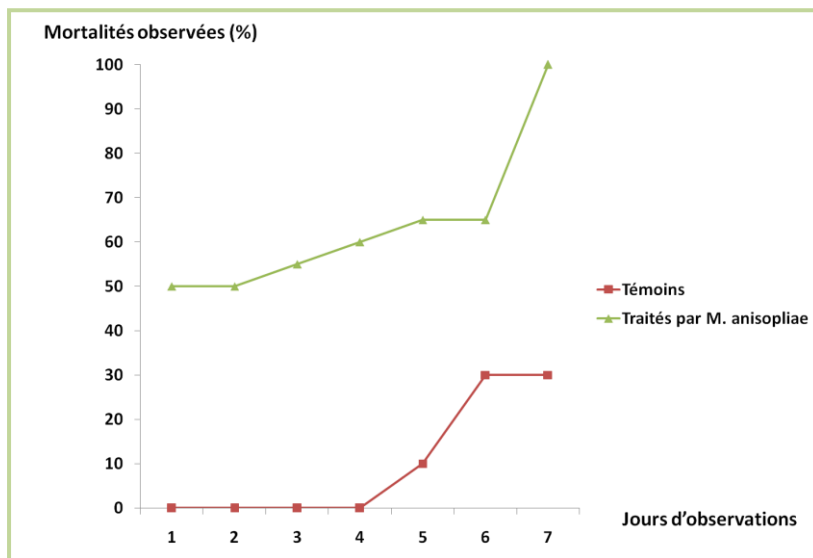
Avant d’aborder les résultats numériques du traitement, il est important de signaler que les individus pulvérisés ont manifesté un ralentissement de leur mobilité, c’est à dire qu’ils bougent et volent beaucoup moins qu’avant, alors qu’aucune de ces observations n’ont été notées chez les individus témoins.

Après ces perturbations motrices, nous commençé à enregistré des mortalités à partir du premier jour. En effet, la mortalité commence à apparaître à partir de **1h 23 min** après le traitement, avec un pourcentage de mortalité de 50% obtenu le jour même.

La mortalité totale des individus traités a été notée au bout du 7<sup>ème</sup> jour après traitement (**tableau 2, annexe 1 et figure 24**).

**Tableau 2.** Pourcentages de mortalité observées et corrigées des adultes de *C. capitata*, témoins et traités par *M. anisopliae*.

| Jours d'observations | Témoins (%) | Traités par <i>M. anisopliae</i> |                          |
|----------------------|-------------|----------------------------------|--------------------------|
|                      |             | Mortalités observées (%)         | Mortalités corrigées (%) |
| 1                    | 0           | 50                               | 50                       |
| 2                    | 0           | 50                               | 50                       |
| 3                    | 0           | 55                               | 55                       |
| 4                    | 0           | 60                               | 60                       |
| 5                    | 10          | 65                               | 61,11                    |
| 6                    | 30          | 65                               | 50                       |
| 7                    | 30          | 100                              | 100                      |



**Figure 24 :** Pourcentage de mortalité des adultes de *Ceratitidis capitata* traités par *M. anisopliae*

Les cadavres récupérés de *C. capitata* ont été mis en incubation dans des boîtes de Pétri et mises dans un incubateur. Après 72 heures d'incubation, les premières observations ont été faites à l'aide d'une loupe binoculaire (**figure 25**).



**Figure 25** : Muscardine verte observée sous loupe binoculaire sur le cadavre de *C. capitata*  
(Photographie originale, Gr. x 32)

### III.3. Détermination de la TL50 et la TL90

L'efficacité d'un bio-insecticide est appréciée dans le temps par la détermination de la mortalité des individus. La mortalité observée (%) est corrigée à partir d'une mortalité naturelle.

En effet, l'action toxique voir la virulence du champignon *M. anisopliae* est évaluée par la DL<sub>50</sub> qui a été déterminée, auparavant en 2011 par Boudjelida et Soltani lors d'un traitement de *C. capitata* par *M. anisopliae*. La toxicité est également jugée par les temps létaux (TL<sub>50</sub>, TL<sub>90</sub>). Ces derniers, représentent les temps au bout duquel on pourrait avoir une mortalité de 50 % et 90%, respectivement, des individus à une dose donnée. Ils sont déterminés à partir de l'équation de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des doses ou des temps.

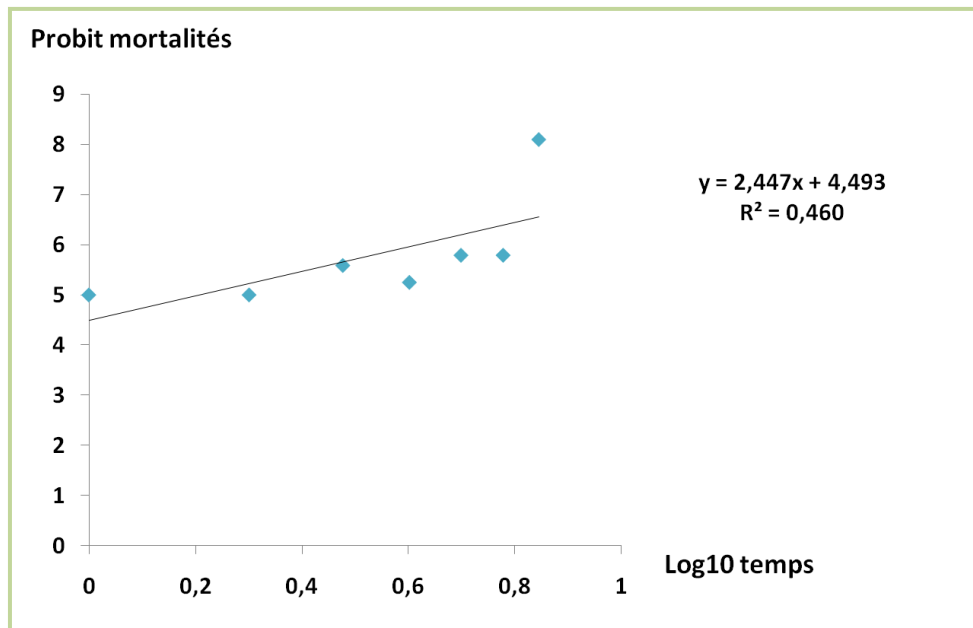
En effet, le calcul du TL<sub>50</sub> et du TL<sub>90</sub> relatifs à l'action toxique de *M. anisopliae* vis-à-vis des adultes de *C. capitata* a été effectué en dressant les droites de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités en fonction des logarithmes des temps de traitement. Cette méthode d'analyse de survie va nous permettre d'associer la fréquence de mortalité et le délai de survie des individus traités.

Les résultats obtenus lors de notre expérimentation font ressortir une équation de la droite de régression exprimant le probit des pourcentages de mortalité en fonction du logarithme décimal des jours d'observations avec un coefficient de détermination  $R^2 = 0,901$ .

De ce fait, à partir de la droite de régression illustrée dans la **figure 26**, nous avons déterminé les TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> chez les adultes de *C. capitata* traités par le champignon entomopathogène *M. anisopliae*. Ainsi, la droite de régression tracée a fait ressortir, l'équation suivante :

$$y = 2,447x + 4,493$$

En utilisant, de ce fait, l'exponentielle 10 de x, nous obtenons un TL<sub>50</sub> atteint à **1, 62 jours** et un TL<sub>90</sub> = **5,23 jours**.



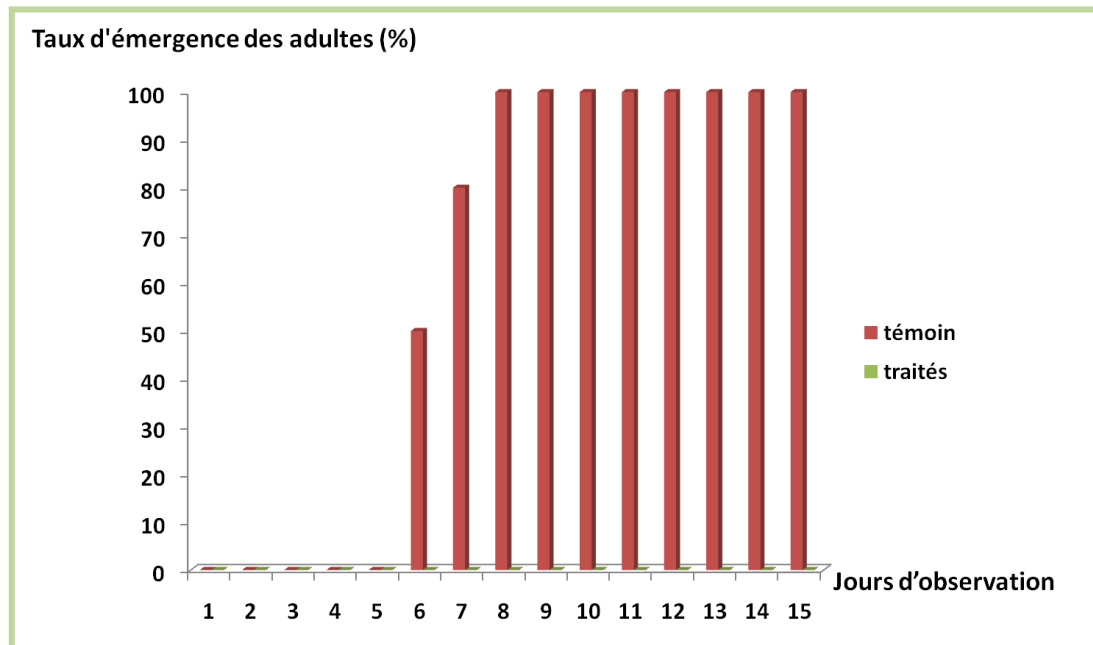
**Figure 26** : Courbe de tendance et droite de régression traduisant l'efficacité de *M. anisopliae* contre les adultes de *C. capitata*

#### III.4. Analyse de la variance

L'analyse de la variance à deux critères de classification soit le facteur temps et le facteur traitement par *M. anisopliae* révèle une différence hautement significative entre les pourcentages de mortalités enregistrées pour les traités et les témoins à différents niveaux de temps avec un niveau de probabilité (p) inférieur à 0,005.

### III.5. Effet du champignon *M. anisopliae* sur les pupes de *C. capitata*

Le traitement par pulvérisation des pupes de la cécidie par le champignon entomopathogène *M. anisopliae* a été suivi pendant 15 jours (selon la bibliographie sur le cycle biologique de l'insecte). Lors du traitement nous avons observé que les pupes témoins ont toutes émergé 08 jours après pulvérisation avec de l'eau distillée. Contrairement aux pupes pulvérisées avec la suspension conidienne de *M. anisopliae*. De la **figure 27**, il ressort que le lot témoin présente un taux d'émergence maximal de 100% des adultes de la cécidie de au huitième jour de traitement. Alors que ce taux est de l'ordre de 0% pour les pupes pulvérisées avec *M. anisopliae*. Il serait possible que les pupes aient subi des malformations ou des anomalies durant leur développement, ce qui les a empêchées d'achever leur cycle de vie.

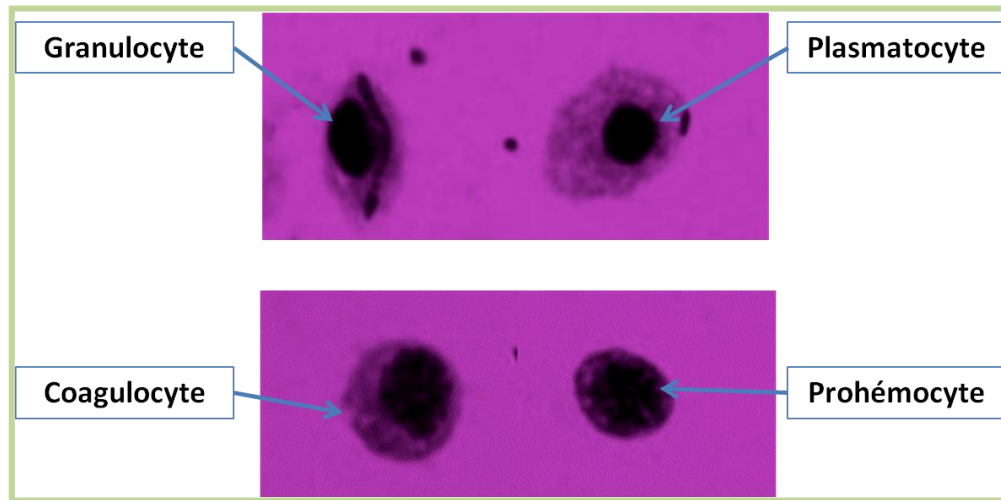


**Figure 27 :** Taux d'émergence des adultes de *C. capitata* issus des pupes témoins et traitées par *M. anisopliae*

### III.6. Effet de champignon entomopathogène *M. anisopliae* sur l'hémolymphe des adultes de *C. capitata*

#### III.6.1. Etude qualitative

L'observation du frottis hémolympatique des adultes témoins de la mouche méditerranéenne des fruits *C. capitata* a fait ressortir la présence de quatre d'hémocytes, soient, les prohémyocytes, les plasmacytes, les granulocytes et les coagulocytes (**figure 28**).

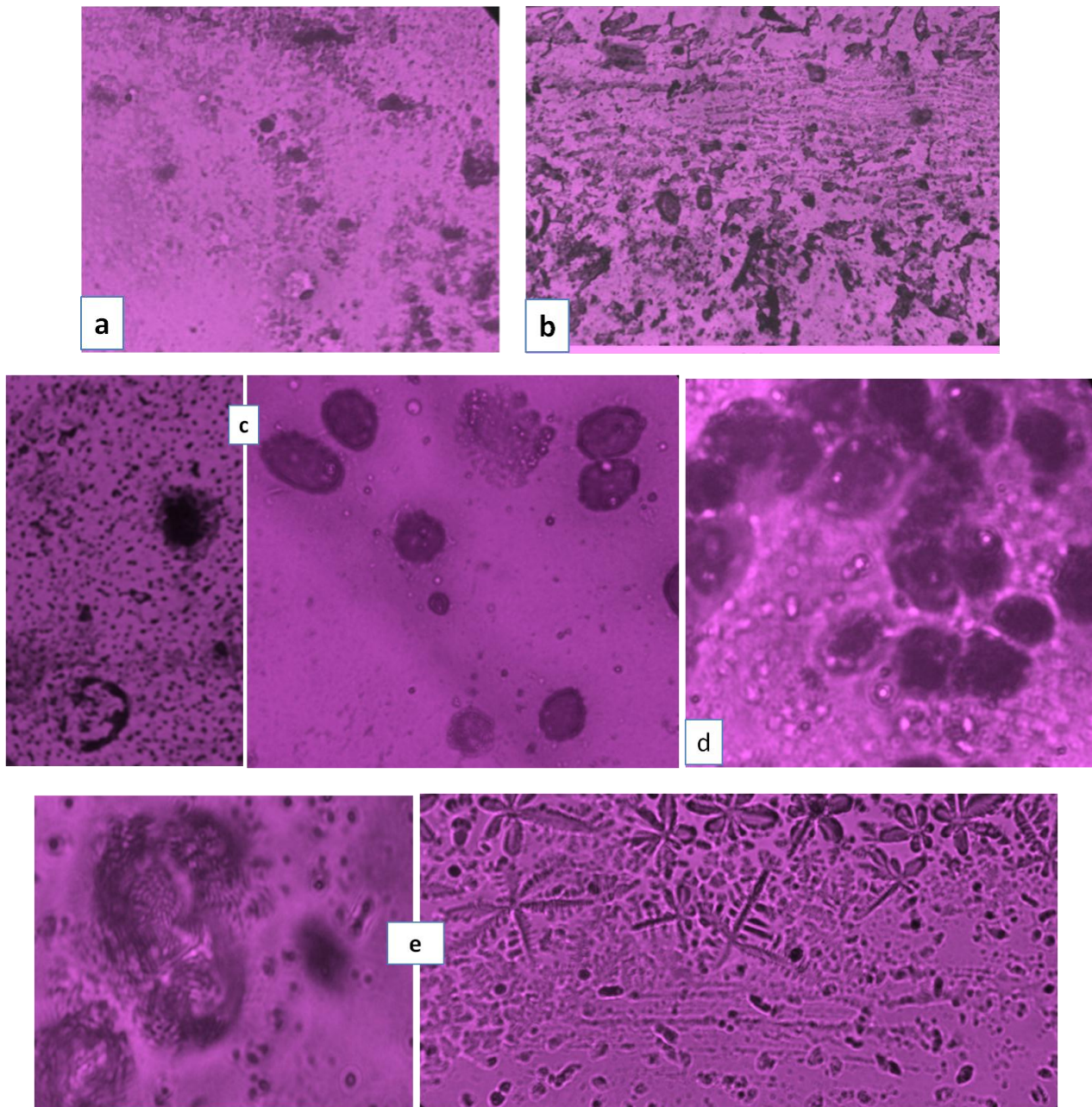


**Figure 28:** Observation microscopique des différentes hémocytes identifiées dans l'hémolymphe des témoins de *C. capitata* (Photographie originale, Gr x 100)

Cependant, certaines différences morphologiques (**figure 29**) voir structurales ont été observées chez les hémocytes des adultes de *C. capitata* après l'infection fongique causée par *M. anisopliae*. Les prohémyocytes et les coagulocytes n'étaient plus visible, alors que les plasmacytes et les granulocytes étaient observées (**a**). Ainsi, l'observation microscopique de l'hémolymphe des mouches traitées nous a permis de constater une désagrégation considérable de la plupart des hémocytes, ne laissant que des débris (**b**). Certaines cellules se sont vidées de leur contenus cellulaires alors que d'autres ont libéré des granules dans le cytoplasme en guise de défense (**c**).

Comme nous avons pu remarquer l'apparition de nodules ainsi que la formation d'amas de cellules entourées des spores de *M. anisopliae*. Les segments des hyphes de ce dernier, ont, également été observés (**e**).

En sus, les plasmatocytes présentaient une vacuolisation cytoplasmique intense et des conidies fongiques à double paroi dans le cytoplasme (e), ce qui suggère une phagocytose des conidies.



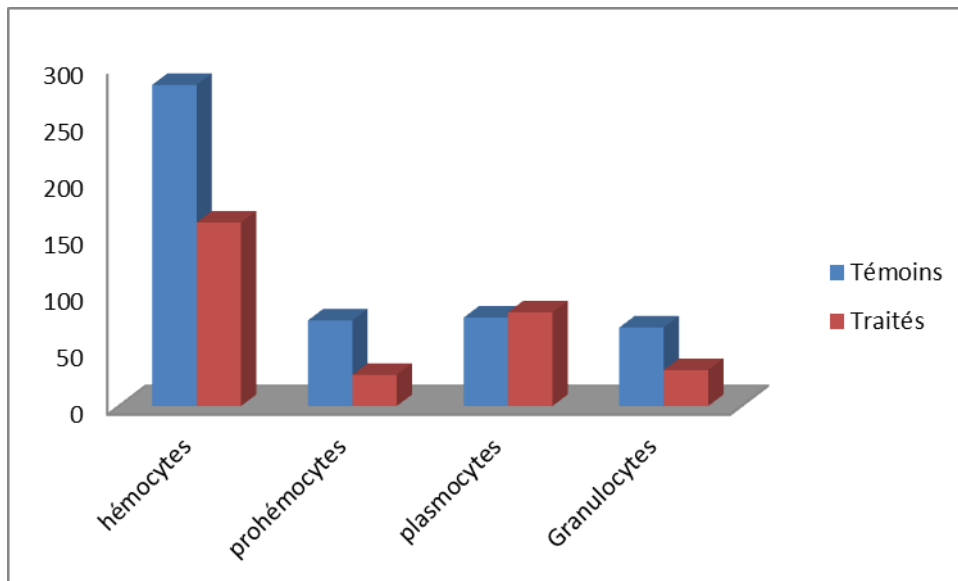
**Figure 29:** Les différentes hémocytes identifiées dans l'hémolymphe de *C capitata* suite à l'infection fongique par *M. anisopliae*  
(Photographies originales, Gr. x 40 [a et b] ; Gr. x 100 [c, d et e])

### III.6.2. Etude quantitative

Le but de cette étude est de quantifier l'effet toxique de la solution entomopathogène à base de *M. anisopliae* pulvérisée sur les adultes de *C. capitata*. Pour cela, nous avons calculé le nombre de chaque catégorie de cellules identifiée, ce, chez les témoins et les traités. Les résultats obtenus sont énumérés dans le **tableau 3** et illustrés par **la figure 30**. Ce dernier, fait ressortir une baisse considérable du nombre de prohémyocytes et de granulocytes, alors que les plasmatoctes ont légèrement augmenté. Toutefois le comptage des coagulocytes n'a pas pu être réalisé car elles n'ont été observées que rarement.

**Tableau 3.** Nombre total des hémocytes, des prohémyocytes, des plasmatoctes et des granulocytes des adultes de *C. capitata* témoins et traités par *M. anisopliae*

|                      | Témoins | Traité par <i>M.anisopliae</i> |
|----------------------|---------|--------------------------------|
| <b>Hémocytes</b>     | 238,5   | 162                            |
| <b>Prohémyocytes</b> | 75,5    | 27,5                           |
| <b>Plasmatoctes</b>  | 78      | 82,75                          |
| <b>Granulocytes</b>  | 69,25   | 31,75                          |



**Figure 30 :** Nombre moyen des hémocytes, prohémyocytes, plasmatoctes granulocytes des adultes de *C capitata* témoins et traités par le champignon *M. anisopliae*

En effet, la figure ci-dessus illustre l'effet significatif de l'infection fongique causée par *M. anisopliae* vis-à-vis des adultes de *C. capitata*, soit une baisse considérable des hémocytes allant de 238,5 à 162. Cette réduction numériques des hémocytes a concerné les prohéocytes et les coagulocytes, tandis que les plasmocytes, elles ont légèrement augmenté de nombre.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification représenté par le facteur traitement, fait ressortir un effet hautement significatif ( $p < 0,005$ ) du traitement par le champignon entomopathogène *M. anisopliae* sur l'aspect quantitatif de l'hémolymphe de *C. capitata*.

# **Chapitre IV**

## **Discussions des résultats obtenus**

## Chapitre IV: Discussions des résultats obtenus

La mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Wied.), est un ravageur majeur des cultures fruitières en Algérie (Soltani et al., 1986) et l'importance de ses dégâts varie en fonction de la zone, des facteurs climatiques, biologiques et agronomiques qui sont directement liés à la vie de l'insecte (Yin et al., 2006). La présente étude a été menée pour évaluer les effets du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* (Metch.) sur différents stades de développement (adulte et pupes) de ce ravageur.

### IV.1. Identification des métabolites secondaires du champignon *M. anisopliae*

Pour l'extraction des métabolites secondaires de *M. anisopliae*, nous avons utilisé la méthode de Nwakanma et al. (2016) qui consiste à la fermentation en milieu PDA pour une production optimale des métabolites secondaires. Ces derniers ont été extraits par 3 solvants de polarité différente : l'acétate d'éthyle, le chloroforme et l'n-hexane et leur identification a été réalisée grâce à la technique de chromatographie en phase solide.

Ainsi, les données obtenues après l'extraction des différents métabolites secondaires montrent la présence de molécules connues, notamment des acides aminés, des acides organiques, des glucides et des stérols. En plus des molécules citées auparavant, nous avons, également, pu identifier des composés avec des structures connues sur la base des recherches dans les bases de données. Il s'agit notamment des destruxines, des alcaloïdes hirsutellones, des macrocycles torrubiellutines, des naphthoquinones naphthogéranines et des trichothécanes, naphthoquinones naphthogéranines, et trichothécanes spirotenuipesines, paecilomyces et tenuipesine

Selon Barbosa Rustiguel et al. (2017), *M. anisopliae* est capable de produire différents types de toxines, comme par exemple, les destruxines. Ces dernières, ont différentes activités biologiques telles que insecticides et phytotoxiques, en provoquant la paralysie tétanique et la morts des larves d'insectes (Samuels et al. 1988).

### IV.2. Effet de *M. anisopliae* sur la mortalité des adultes et des pupes de *C. capitata*

Le traitement par pulvérisation des adultes de *C. capitata* par *M. anisopliae* à une dose de  $25.4 \times 10^5$  spores/ml (DI<sub>50</sub> obtenue par Boudjelida et Soltani en 2011), a été conduit au laboratoire à une température constante de  $27 \pm 3^\circ\text{C}$  et une humidité relative de  $70 \pm 15\%$ .

Lors des observations, nous avons remarqué que les individus pulvérisés ont manifesté un ralentissement de leur mobilité, c'est-à-dire qu'ils bougent et volent beaucoup moins qu'avant, alors qu'aucune de ces observations n'ont été notées chez les individus témoins.

Freimoser et *al.* (2003) rapportent que l'atteinte des antennes par l'infection de *M. anisopliae* entraîne une perte du sens de l'orientation et l'animal finira par mourir. Les pattes touchées par le champignon montrent des anomalies et peuvent disparaître entraînant une difficulté dans le déplacement pour la recherche de nourriture. L'attaque de *M. anisopliae* avant la mort de l'insecte se manifeste par des événements distincts comme dans le cas des insecticides chimiques (Kooyman, 2007).

Les perturbations motrices observées lors de notre bio-essai sont suivies par la mortalité des individus enregistrée à partir de 1h 23 min après le traitement, avec un pourcentage de mortalité de 50% obtenu le jour même. La mortalité totale des individus traités a été notée au bout du 7<sup>ème</sup> jour après traitement. En utilisant, les droites de régressions des mortalités enregistrées, nous avons calculé le TL<sub>50</sub> et le TL<sub>90</sub> et qui sont de l'ordre, respectivement, de 1, 62 jours et 5,23 jours.

Quant au traitement des pupes de la cératite, toujours par *M. anisopliae*, avons observé que les pupes témoins ont toutes émergé 08 jours après pulvérisation avec de l'eau distillée. Contrairement aux pupes pulvérisées avec la suspension conidienne de *M. anisopliae*. En effet, le lot témoin présente un taux d'émergence maximal de 100% des adultes de la cératite de au huitième jour de traitement. Alors que ce taux est de l'ordre de 0% pour les pupes pulvérisées avec *M. anisopliae*. Il serait possible que les pupes aient subi des malformations ou des anomalies durant leur développement, ce qui les a empêchées d'achever leur cycle de vie.

La plupart des études rapportent l'efficacité du pathogène *M. anisopliae* pour les différents stades de vie des insectes. L'activité la plus importante du champignon se produit pendant le stade nymphal et pendant l'application des conidies en suspension à la surface du sol sous forme de suspension, selon Bissoli (2004).

Nos données confirment les résultats obtenus par Ekesi et *al.* (2003), qui ont étudié l'effet des isolats de *M. anisopliae* contre *C. capitata* après inoculation du champignon dans le sol.

D'autres études de laboratoire ont montré que *M. anisopliae* est pathogène pour les œufs (Castilho 2000), les larves (Gutiérrez et *al.* 2000) et les adultes (Garcia *al.* 1984, 1985) de *C. capitata*.

En effet, l'efficacité de *M. anisopliae* a conduit les chercheurs à isoler et produire ses toxines (Brooks et *al.*, 2004). Ce champignon entomopathogène a fait l'objet d'études

approfondies pour lutter contre un large éventail de ravageurs (Maniania et al., 2002) et s'est révélé très prometteur dans la lutte contre de nombreux ravageurs. Il a été utilisé dans la lutte contre de nombreux ravageurs des cultures comme *Adoryphorus couloni* (Coleoptera) en Australie (Wraight et al., 2000) et contre les criquets (Acrididae) en Afrique (Ekesi et al., 2003).

Récemment, un nouveau composé insecticide, qui est un extrait soluble brut du produit de fermentation du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* est apparu comme un insecticide prometteur pour lutter contre la mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Ortiz-Urquiza et al., 2010).

Nos résultats montrent clairement que *M. anisopliae* est très efficace sur les deux stades de développement de *C. capitata* et sont en accord avec ceux obtenus par Butt et al. (2001) ; Ansri et al. (2007) ; El-Akhda et Ouda (2009) et Ortiz-Urquiza et al. (2009).

Il est à signaler, aussi, que les cadavres des adultes de *C. capitata* ont été recouverts, 72 heures après, de duvet verdâtre. En présence d'humidité suffisamment élevée, le mycélium semble avoir percé la cuticule des cadavres de *C. capitata* au niveau des membranes intersegmentaires et a effectué sa sporulation entraînant par la suite la sortie des mycéliums vers l'extérieur du corps. Ainsi, le cadavre se couvre d'un duvet verdâtre, relatif à la maladie de la muscardine verte.

Selon Kooyman (2007), les spores trouvées sur la cuticule de l'insecte germent pendant 24 heures. Les mycéliums poussent ensuite dans les tissus et si l'humidité ambiante est suffisamment élevée, on peut le voir sortir du cadavre, surtout des articulations. Si l'air est trop sec, la sporulation a lieu à l'intérieur du cadavre, où les spores peuvent survivre longtemps.

### **IV.3. Effet de *M. anisopliae* sur l'hémogramme de *C. capitata***

#### **IV.3.1. Etude qualitative**

Lors de notre expérimentation, nous avons étudié l'action cytotoxique relative au traitement des adultes de *C. capitata* par le champignon entomopathogène *M. anisopliae*.

L'examen microscopique du frottis hémolympatique réalisé par coloration May-Grunwald-Giemsa, nous a permis d'observer différentes catégories de cellules hémolympatiques. La variabilité de la taille et de la forme de ces cellules, a fait ressortir l'identification des prohémoctes, des plasmatocytes, des granulocytes et des coagulocytes.

Du point de vue qualitatif, chez les insectes, les catégories d'hémocytes varient d'une espèce à une autre. En 1969, Harpaz et *al.*, ont signalé chez *Spodoptera littoralis*, quatre catégories d'hémocytes (Habes et Soltani, 1992). Ces derniers, ont pu identifier, pour leur part, cinq types hémocytaires dans l'hémogramme de *Thaumetopea pityocampa*, soient les prohémoctes, les plasmatocytes, les granulocytes, les coagulocytes et les adipocytes).

De son côté Klowden (2013) a mis en évidence la présence de sept catégories d'hémocytes chez les insectes, soient les prohémoctes, les plasmatocytes, les granulocytes, les oenocytoides, les coagulocytes, les adipohémocytes et les cellules à sphérules.

L'immunité cellulaire chez les insectes fait appel à des réactions dont certaines sont très proches de celles des Mammifères (phagocytose) alors que d'autres apparaissent plus originales (Brehelin et Duvic, 1999). Elle consiste, également, en la formation de nodules et l'encapsulation (Boman, 1998 ; Stanley, 2006 ; Beckage, 2008).

D'après Olsen et *al.* (2000), les indices hématologiques chez les animaux (vertébrés ou invertébrés) sont importants pour déterminer le risque de toxicité puisque des changements dans le système sanguin ont une valeur prédictive supérieure pour la toxicité humaine. C'est dans ce contexte que nous avons essayé de voir l'impact sur l'hémolymphe des individus adultes de *Ceratitis capitata* traités par *M. anisopliae*.

Ainsi, nous avons noté des altérations structurales chez les hémocytes des adultes de *C. capitata* après l'infection fongique causée par *M. anisopliae*. Les prohémoctes et les coagulocytes n'étaient plus visible, alors que les plasmatocytes et les granulocytes étaient observés. Ainsi, l'observation microscopique de l'hémolymphe des mouches traitées nous a permis de constater une désagrégation considérable de la plupart des hémocytes, ne laissant que des débris. Certaines cellules se sont vidées de leur contenus cellulaires alors que d'autres ont libéré des granules dans le cytoplasme en guise de défense. Comme nous avons pu remarquer l'apparition de nodules ainsi que la formation d'amas de cellules entourées des spores de *M. anisopliae*. Les segments des hyphes de ce dernier, ont, également été observés.\*

Aussi, la culture de l'hémolymphe et l'observation microscopique des frottis confirment la présence des hyphes et des amas de spores du champignon dans la circulation interne des adultes traités. Nos résultats confirment ceux trouvés par Bechara et *al.* (2011) qui ont noté la présence d'altérations structurales des hémocytes et d'hyphes de *M. anisopliae* dans l'hémolymphe de la mouche des fruits américaine *Anastrepha fraterculus* traitée par *M. anisopliae*.

Nos observations sont similaires à celles soulignées par Yin et *al.* (2023) qui indiquent que la destruxin secrétée par *M. anisopliae* peut être un immunosuppresseur en endommageant les cellules hôtes telles que les hémocytes de *Bombyx mori*.

Les présents résultats sont en accord avec de nombreux travaux qui ont confirmé la sensibilité d'autres téphritides à l'infection par *M. anisopliae* et *B. bassiana*, du point de vue immunité (Dimbi et *al.* 2003 ; Quesada-Moraga et *al.* 2006 ; Ladurner et *al.* 2008).

Negri et *al.* (2013) ont mentionné que contrairement aux monocytes humains, les hémocytes des insectes sont capables d'effectuer la nodulation et l'encapsulation de corps étrangers lors d'une infection étrangère.

### **IV.3.2. Etude quantitative**

Le traitement que nous avons réalisé a induit à la réduction du nombre total d'hémocytes, chez les adultes de *C. capitata* pulvérisés par *M. anisopliae*. Ce dernier, s'est montré plus virulent par rapport aux témoins, se traduisant par une chute numérique des hémocytes allant de 238,5 à 162. Cette réduction numérique des hémocytes a concerné les prohémosocytes et les coagulocytes, tandis que les plasmatocytes, elles ont légèrement augmenté de nombre.

Selon Chauvin (1956) et Arnold (1974), l'introduction des particules étrangères telles que les microorganismes ou autre peut perturber l'hémogramme des insectes. Bien avant, Paillot (1933), avait souligné que cette perturbation peut se traduire soit par l'augmentation du nombre de cellules soit par sa diminution. De son côté, Geraud (2007), indique que la toxicité hématologique se traduit par une augmentation ou une diminution du nombre de cellules sanguines périphériques d'une ou plusieurs lignées cellulaires.

La chute du nombre des hémocytes a été mentionnée par Habes (1989) chez *Thaumetopea pityocampa* suite au traitement par *Bacillus thuringiensis*.

De ce fait, nos résultats confirment ceux obtenus par Rosales (2017) qui, dans une étude descriptive des cellules cristallines, des plasmatocytes, et des lamellocytes chez *Drosophila melanogaster*, indique que l'infection bactérienne provoque une réduction considérable du nombre des différents types d'hémocytes mis à part les plasmatocytes qui augmentent engageant une réponse immunitaire immédiate.

Kaidi (2018) avait, également enregistré cette chute remarquable du nombre des hémocytes avec une augmentation considérable des plasmatocytes des imagos de *S. gregaria*

traités et par les champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae* var *acridum* et *Beauveria bassiana*.

Quant à la légère augmentation des plasmatocytes, ceci pourrait être expliqué par la phagocytose est une réponse immunitaire rapide où les hémocytes se multiplient pour pouvoir phagocyter les corps étrangers (Hilliery 2016). Selon Feldhaar et Gross (2008), chez les insectes, la phagocytose ne joue pas seulement un rôle important dans la défense contre les pathogènes, elle est aussi un facteur important lors de la métamorphose car elle élimine les tissus dégénérés et les cellules apoptotiques.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

Dans la région méditerranéenne, notamment en Algérie, la mouche méditerranéenne des fruits *C. capitata* (Wiedemann) (Diptera : Tephritidae) est considérée comme le ravageur le plus redoutable, puisqu'il attaque à plus de 400 espèces fruitières dont la production s'étale sur toute l'année (Mazih, 1992), non seulement en raison des dommages directs causés à la production, mais aussi en raison des exigences de quarantaine imposées par les pays importateurs de fruits frais.

Cependant, pour faire face aux dégâts causés par ce diptère, plusieurs substances chimiques sont utilisées pour lutter contre et sont toxiques pour l'homme et les animaux, réduisant, ainsi, le potentiel de contrôle des insectes nuisibles par les prédateurs, les parasitoïdes et les pathogènes. De ce fait, les biopesticides sont considérés plus prometteurs et plus rapidement dégradables que les produits chimiques synthétiques, tout en ayant des effets éco-toxicologiques moindres. L'intérêt pour ces produits dans la lutte contre les ravageurs s'est considérablement accru.

C'est dans ce cadre que l'activité insecticide d'un champignon entomopathogène, *Metarhizium anisopliae* (Metsch), a été testée, dans les conditions de laboratoire, contre les adultes et les pupes de *Ceratitis capitata*. L'activité cytotoxique sur les hémocytes de la cératite a, également, été évaluée lors de nos bio essais.

Tout d'abord, l'extraction des métabolites secondaires de *M. anisopliae*, fait ressortir la présence de molécules connues, notamment des acides aminés, des acides organiques, des glucides et des stérols. En plus des molécules citées auparavant, nous avons, également, pu identifier des composés avec des structures connues sur la base des recherches dans les bases de données. Il s'agit notamment des destruxines, des alcaloïdes hirsutellones, des macrocycles torribiellutines, des naphthoquinones naphthogéranines et des trichothécanes, naphthoquinones naphthogéranines, et trichothécanes spirotenuiques, paecilomyces et tenuipesine

L'ensemble des résultats obtenus après le traitement en question montre que les toxines de *M. anisopliae* a présenté une activité insecticide sur les deux stades pupe et adulte de *C. capitata* et ont permis de réduire les populations de la cératite. Ces toxines agissent principalement sur la mortalité des adultes ainsi que sur l'émergence des pupes vers l'état adulte.

En effet, la pulvérisation des adultes de *C. capitata* par *M. anisopliae* à une dose de  $25.4 \times 10^5$  spores/ml (DI<sub>50</sub> obtenue par Boudjelida et Soltani en 2011), a manifesté une perte

du sens de l'orientation des mouches suivie d'un ralentissement de leur mobilité et d'une paralysie.

L'activité insecticide des destruxines contenues dans la solution de *M. anisopliae* a provoqué, de ce fait, la mort des individus traités. Ainsi, les perturbations motrices observées lors de notre bio-essai sont suivies par la mortalité des individus enregistrée à partir de 1h 23 min après le traitement, avec un pourcentage de mortalité de 50% obtenu le jour même. La mortalité totale des individus traités a été notée au bout du 7<sup>ème</sup> jour après traitement. En utilisant, les droites de régressions des mortalités enregistrées, nous avons calculé le  $TL_{50}$  et le  $TL_{90}$  et qui sont de l'ordre, respectivement, de 1, 62 jours et 5,23 jours.

Pour ce qui est des pupes de la cératite pulvérisées par *M. anisopliae*, avons observé que les témoins ont toutes émergé 08 jours après pulvérisation avec de l'eau distillée. Contrairement aux pupes pulvérisées avec la suspension conidienne de *M. anisopliae*. En effet, le lot témoin présente un taux d'émergence maximal de 100% des adultes de la cératite de au huitième jour de traitement. Alors que ce taux est de l'ordre de 0% pour les pupes pulvérisées avec *M. anisopliae*. Il serait possible que les pupes aient subi des malformations ou des anomalies durant leur développement, ce qui les a empêchées d'achever leur cycle de vie.

Il est à signaler, aussi, que les cadavres des adultes de *C. capitata* ont été recouverts, 72 heures après, de duvet verdâtre relatif à la maladie de la muscardine verte, car en présence d'humidité suffisamment élevée, le mycélium semble avoir percé la cuticule des cadavres au niveau des membranes inter-segmentaires et a effectué sa sporulation entraînant par la suite la sortie des mycéliums vers l'extérieur du corps.

S'agissant de l'activité cytotoxique du champignon entomopathogène sur l'hémolymphe des adultes de *C. capitata*, des altérations structurales ont été notées chez la plupart des hémocytes observées sous microscope. Les prohémoctes et les coagulocytes n'étaient plus visible, alors que les plasmatocytes et les granulocytes étaient observés. Ainsi, l'observation microscopique de l'hémolymphe des mouches traitées nous a permis de constater une désagrégation considérable de la plupart des hémocytes, ne laissant que des débris. Certaines cellules se sont vidées de leur contenus cellulaires alors que d'autres ont libéré des granules dans le cytoplasme en guise de défense. Comme nous avons pu remarquer l'apparition de nodules ainsi que la formation d'amas de cellules entourées des spores de *M. anisopliae*. Les segments des hyphes de ce dernier, ont, également été observés. Aussi, la culture de l'hémolymphe et l'observation microscopique des frottis confirment la présence

des hyphes et des amas de spores du champignon dans la circulation interne des adultes traités.

En sus, le traitement que nous avons réalisé a perturbé l'hémogramme des mouches pulvérisées. Une perturbation traduite par une toxicité hématologique induisant, de ce fait, la chute numérique des hématocytes allant de 238,5 à 162. Cette réduction numérique des hématocytes a concerné les prohématocytes et les coagulocytes, tandis que les plasmocytes, elles ont légèrement augmenté de nombre.

En conclusion, l'utilisation de *M. anisopliae* s'affirme comme une méthode prometteuse pour le contrôle biologique de *C. capitata*. Des ajustements et des études supplémentaires sont recommandés pour standardiser son application et améliorer son efficacité sur le terrain.

L'intégration de ce champignon dans les programmes de gestion des ravageurs pourrait contribuer à une approche plus durable et efficace dans la lutte contre cette mouche nuisible.

Il est donc crucial d'explorer davantage les conditions optimales pour l'application du champignon, d'évaluer son efficacité dans divers environnements et de déterminer son impact sur les écosystèmes locaux. Ces études permettront de mieux comprendre les mécanismes d'action, d'affiner les protocoles de traitement et de maximiser les bénéfices de cette méthode de contrôle biologique pour une gestion intégrée des nuisibles.

**Références**  
**Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

1. **Abbassi M., 1990** - Contribution à la lutte biologique contre les homoptères ravageurs des Citrus au Maroc. Thèse de Doctorat d'Etat. Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique), 185p.
2. **Aboussaid H., El Messoussi S. et Oufdou K., 2009** - Activité insecticide d'une souche marocaine de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche méditerranéenne : *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera : Tephritidae). *Afrique Science*. 5(1) : 160-172.
3. **Aboussaid H., Oufdou K., El Messoussi S., 2007** - Rôle de *Bacillus thuringiensis* dans la protection de la forêt d'arganier contre la mouche méditerranéenne, *Ceratitis capitata* (Wied). IVème journées nationales de biodiversité. Tétouan, Maroc. pp : 26-27.
4. **Adams B. J., 2004** - Review of the biology and use of *Metarhizium anisopliae* for biological control of insect pests. *Mycological Research*, 108(8), pp : 911-922.
5. **Albajes R.Y. & Santiago Al varez C., 1980a** - Influencia de la temperatura en el desarrollo de *Ceratitis capitata* (Diptera, Trypetidae) *AN. INIA/ Ser Agric. / N° 13* : 184 – 190.
6. **Albajes R.Y. & Santiago Al varez C., 1980b** - Efectos de la densidad larvaria y de la alimentacion en la proporción de sexos de *Ceratitis capitata* (Diptera, Trypetidae). *AN. INIA/ Ser Agric. / N° 13*:175 – 182.
7. **Ali Ahmed D., Soltani N., Kellouche A. & Mazouzi F., 2007** - Effects of the soil texture and the burying depth of the larvae on some biological parameters of *Ceratitis capitata* (Diptera : Trypetidae). *African Journal of Agricultural Research* Vol. 2 (3) : 105-111.
8. **Ali Ahmed-Sadoudi, D., 2007**- *Bioécologie de la mouche méditerranéenne des fruits Ceratitis capitata Wiedemann, 1824 (Diptera : Trypetidae) dans quelques vergers de la Kabylie*. Thèse Doct., Univ. Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 197p.
9. **Al-Yahiya M.A. 1986** - Phytochemical studies of the plants used in traditional medicine of Sandi Arabia. *Fitoterapia*: 179-182.
10. **Amouriq H., Boudon-Padieu E., & Chaput P., 1973** - Influence of environmental conditions on the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* for controlling insect pests. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*, 5(4), 497-509.

11. **Aouati A., 2016** - *Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de culex pipiens (Diptera, Culicidae)*. Thèse Doct., Université des Frères Mentouri. Faculté des sciences de la nature et de la vie. 129 p 7.
12. **Araujo C.L., Bezerra I.W.L., Oliveira A.S., Moura F.T., Macedo L.L.P., Gomes C.E.M., Franco O.L., Bloch J.C. & Sales M.P., 2005** - In Vivo Bioinsecticidal Activity toward *Ceratitis capitata* (Fruit Fly) and *Callosobruchus maculatus* (Cowpea Weevil) and in Vitro Bioinsecticidal Activity toward Different Orders of Insect Pests of a Trypsin Inhibitor Purified from Tamarind Tree (*Tamarindus indica*) Seeds. *J. Agric. Food Chem.* 53 : 4381-4387.
13. **Arnold J.W., 1974** – The haemocytes of insects. *Physiology insect. Academic Press, New York*, (5): 210 – 214.
14. **Ashworth JR et Wall R. 1995** - Effet du développement ovarien et de la privation de protéines sur l'activité et les réponses locomotrices de la mouche à viande, *Lucilia sericata*, à l'odeur du foie. *Physiol Entomol.* 20 : 281-285.
15. **Back E.A., Pemperton C.E., 1918** - The Mediterranean fruit fly. *USDA Bulletin.* 640p.
16. **Badyaev A. 2002.** Grandir à part : une perspective ontogène sur l'évolution du dimorphisme sexuel de la taille. *Tendances Ecol. Évol.* 17 : 369-378.
17. **Balachowsky A., 1950** - *Sur l'origine de la mouche des fruits (Ceratitis capitata Wied.)*. Ed. Acad. Agric. France, 36 : 359-362.
18. **Balachowsky A.S. & Mesnil L., 1935** - *Les insectes nuisibles aux plantes cultivées*. Ed. Busson, Tome 1, Paris : 242 – 253.
19. **Bekker G., Baard N., Addison MF., Van Niekerk A., Addison P., 2019** - The area-wide spatio-temporal distribution of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in a heterogenous fruit production region of the Western Cape, South Africa. *Afr Entomol*, 27 (1): 97-113.
20. **Benserradj S., 2014** - Efficacité de *Metarhizium anisopliae* contre les ravageurs du maïs et son impact environnemental. *Journal of Applied Entomology*, 138(3) : 185-193.
21. **Benserradj O et Mihoubi I., 2014** - Larvicidal activity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* against mosquito larvae in Algeria. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 3 (1):54-62.

- 22. Bidochka M. J., & Reddy G. S. 2005** - *Molecular and ecological aspects of *Metarhizium anisopliae* as a biocontrol agent. Fungal Genetics and Biology*, 42(4), 285-298.
- 23. Biedermann R., 2002** - Succès de l'accouplement chez la coccinelle *Cercopis sanguinolenta* (Scopoli, 1763) (Homoptera, Cercopidae) : Le rôle de la taille corporelle et de la mobilité. *J. Ethol.* 20 : 13-18.
- 24. Bischoff J. F., Rehner S. A., & Humber R.A., 2009** - Taxonomy of the entomopathogenic fungal genus *Metarhizium*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101(3), 117-129.
- 25. Bisenz J. S., Alves S. B., & Oliveira J.C., 2018** - *Assessment of *Metarhizium anisopliae* for the management of crop pests: Efficacy and environmental impact. Journal of Economic Entomology*, 111(3), 1234-1242.
- 26. Blay S. et B. Yuval., 1997** - Corrélats nutritionnels du succès reproducteur des mouches méditerranéennes des fruits mâles (Diptera : Tephritidae). *Animé. Comportement.* 54 : 59-66.
- 27. Blout J. R., 1961** - *The use of *Metarhizium anisopliae* in the biological control of insect pests. Journal of Economic Entomology*, 54(6), 915-919.
- 28. Bodenheimer F., 1951** - *Citrus entomology in the Middle East.* Junk, The Hague: 663p.
- 29. Boiron C., 1996** - *Physiological and ecological aspects of *Metarhizium anisopliae* in insect pest management. Journal of Applied Entomology*, 120(5), 1-6.
- 30. Boller E.F., 1983** - *Biotechnical methods for the management of fruit fly populations.* In: Cavalloro R. (Ed.) *Fruit flies of economic importance. Proc. CECIOBOC Int. Symp., Athens, Greece. 16-19 Nov. 1982.* Balkema, Rotterdam. 642p.
- 31. Bonito G., & Reddy G.S., 2014** - *Molecular diversity and population structure of *Metarhizium anisopliae* in natural ecosystems. Fungal Ecology*, 10, 73-82.
- 32. Bonnizoni et al., 2000** - Molecular evidence for genetic differentiation between populations of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*, *Heredity* , 85(3), 293-304 .
- 33. Boomsma J.J., Giraud T., & Evans J.D., 2014** - *The evolution of social insect immunity. In: Advances in Insect Physiology*, 46, 37-50. Elsevier.
- 34. Boudjelida H. and Soltani N., 2011** - Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on *Ceratitis capitata* L. (Diptera: Tephritidae). *Annals of Biological Research*, 2 (2):104-110.

- 35. Bounfour M., Nafil L., 1994** - Utilisation de la technique des insectes stériles dans la lutte contre la cécidie. Journée sur la biotechnologie et la lutte contre les insectes ravageurs des cultures. DPVCTRF, Raba.
- 36. Bourges A., & Jussey J. 1971** - *Études sur Metarhizium anisopliae et son efficacité contre les insectes nuisibles. Annales de la Société Entomologique de France*, 7(2), 155-164.
- 37. Bovey R., Bolay A., et Mathys G., 1984** - La défense des plantes cultivées. Ed. Payot, Lausanne 476p.
- 38. Brooks A.J., Aquino de Muro A, Burree E., Moore D., Taylor, M.A & Wall. R. 2004** - Growth and pathogenicity of isolates of the fungus *Metarhizium anisopliae* against the parasitic mite, *Psoroptes ovis*: effects of temperature and formulation. *Pest Manag Sci.*, 60, 1043-1049.
- 39. Brown J.K., 2004** - Tracing the Origin of Cryptic Insect Pests and Vectors, and their Natural Enemies. In Ehler, L.E., Sforza, R. et Mateille, T. (réd.), *Genetics, evolution and biological control* (chap. 6, 113-135). Wallingford (RU), CABI Publishing.
- 40. Butt T. M., Ibrahim L., Ball B. V & Clarck S.J. 1994** - Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. *Biocontrol Sci. Techn.*, 4, 207-214.
- 41. Buyckx, E.J., 1994** - Unfecundated dates, host of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in the oases of Tozeur. *Proceeding of IOBC/WPRS Int. Open Meet. Working group fruit flies of economic importance, Lisbon, Portugal. 14-16 Oct. 1993.* *IOBC/WPRS Bull.*, 17 (6): 25-37.
- 42. Canato C.M et Zucoloto F.S., 1992** - Influence de la concentration de nutriments sur la valeur nutritionnelle et la sélection du régime alimentaire des larves de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Un. Soc. Entomol. Brésil* 22 : 471-476.
- 43. Cangussu JA et Zucoloto FS., 1997** - Effet des sources de protéines sur la fécondité, l'acceptation alimentaire et le choix sexuel de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Révérend Bras. Biol.* 5 : 611-618.
- 44. Carey J. R., 1984** - Host specificity demographic studies of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* WIED. *Ecol. Entomol.* Vol. 9: 161 – 270. CAREY J.R., 1992: The Mediterranean fruit fly in California: taking stock. *California Agriculture* 46: 12 – 17.
- 45. Carmen C. & Dolores M.O., 2004** - Allozymic variability in Spanish population of *Ceratitis capitata*. *Fruit* 59: 181-190.

- 46. Castillo M.A., Moya P., Hernández E., & Primo-Yúfera E., & Sookar P., Bhagwant S., & Allymamod M. N. 2000, 2008** - *Susceptibility of Ceratitis capitata to entomopathogenic fungi and their extract metabolites*; \*Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi against *Bactrocera zonata*. *Biological Control*, 19(3), 274-282; *Journal of Applied Entomology*, 132(9-10), 786-794.
- 47. Causse R., 1974** - Influence de la sex-ratio sur le nombre d'accouplements dans une population de *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera, Trypetidae). *Ann. Zool. Anim.*, Vol. 6 N° 4: 499 – 502.
- 48. Cayol J.P., Causse R., Louis C. & Barthes J., 1994** - Medfly *Ceratitidis capitata* as a rot vector in laboratory conditions. *Journal of Applied Entomologie* 117 : 338-343.
- 49. Chambers D. L., Cunningham R.T., Lichty R. W., Trailkill R.B., 1974**- Pest control by attractants; a case study demonstrating economy, specificity 30.
- 50. Chan, HT, JD Hansen et SYT Tam. 1990** - Régimes larvaires provenant de différentes sources de protéines pour les mouches méditerranéennes des fruits (Diptera : Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 83 : 1954-1958.
- 51. Chandrakala R. et Rao S., 1999** - Utilisation de la nourriture et de l'eau alimentaire chez les vers à soie mâles et femelles (*Bombyx mori* L.) d'une race bivoltine à sexe limité. *Indien J. Seric.* 38 : 131-134.
- 52. Chapman J. W., Wigglesworth V.B., Amouriq H., Raccaud-Schoeller F., & Klowden M. J. 1972, 1973, 1980, 2013** - *Studies on Metarhizium anisopliae in insect pest management*. *Journal of Experimental Biology*, 57(1), 75-85; *Annales de Zoologie Ecologie Animale*, 7(2), 155-164; *Entomologia Generalis*, 5(2), 153-162; *Journal of Insect Physiology*, 59(6), 651-658.
- 53. Chauvin J. 1956** - *Étude sur Metarhizium anisopliae et ses applications dans le contrôle des insectes*. *Annales de Zoologie Ecologie Animale*, 48(2), 333-348.
- 54. Cheikh M., Harris E.J., Ben salah H., et SORIA F., 1975** - Suppression of the Mediterranean fruit fly in Tunisia with released sterile insects. *J. Econ. Entomo.* 68:237-243.
- 55. Choudhary S., Khokhar J. S., & Sharma, S. 2016** - Efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin in the management of Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(3), 641-646
- 56. Clarkson J. M & Charnley A. K. 1996** - New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends Microbiol.*, 4, 197-203.

- 57. Cohen A. C., Pineda S., & Boemare N. 2008** - The potential of *Metarhizium anisopliae* as a biological control agent against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Biological Control*, 47(1), 35-41.
- 58. Constontino., 1950** - Contributo alla conoscenza della mosco dell. *Ceratitidis capitata* (Diptera: Trypetidae). *Arch.Zool. Exp. Gén.*, T. 118, Fac sc. 3: 316- 334.
- 59. Cornelius et al., 2000 a. 2000** - Comparative efficacy of *Ceratitidis capitata* and *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) in a sterile insect release program. *Journal of Economic Entomology*, 93(3), 712-719.
- 60. De Kouassi J. 2000** - Étude de l'efficacité de *Metarhizium anisopliae* dans la lutte contre les ravageurs agricoles en Afrique de l'Ouest. *Journal of Applied Entomology*, 124(2), 45-50.
- 61. De Meyer M., 2000** - Systematic revision of the subgenus *Ceratitidis* MacLeay (Diptera: Tephritidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 128: 439-567.
- 62. De-Block M. et Stoks R., 2003** - Plasticité adaptative du cycle de vie spécifique au sexe à la température et à la photopériode chez une demoiselle. *J. Évol. Biol.* 16 : 986-995.
- 63. Debouzie D., 1977-** Etude de la compétition larvaire chez *Ceratitidis capitata* (Diptera, Trypetidae). *Arch. Zool. Exp. Gén.*, T.118, Fac c 3 : 316 – 334.
- 64. Delanoue, P., Soria, F., 1962-** Au sujet de l'avortement de l'évolution de *Ceratitidis capitata* Wied dans certains agrumes de Tunisie. *Annale de l'INRAT.* 35 : 73-96.
- 65. Delassus M., Brichet J., Balachowsky A. et Lepigne A., 1931-** Les ennemis des cultures fruitières en Algérie et les moyens pratiques de les combattre. Ed. Recher.Agro. Algerie. Pp : 53 - 62.
- 66. Delrio G., 1985** - Tephritid pests in citriculture. CEC/Proc. Experts meting. Acireal; Balkema. Rotterdam. Integrated pest control in citrus. Ed. Recher. CAVALORO and DIMARTINO : 135149.
- 67. Delucchi V. 1964** - The Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Bulletin of Entomological Research*, 55(1), 135-150.
- 68. Demain A. L., Elander R. P., & Kershaw K. A. 1983** - *Biological control of pests using Metarhizium anisopliae: Current status and future prospects.* *Annual Review of Entomology*, 28, 295-314.
- 69. Descoins, C. 2007** - *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) and its control. *Insect Science*, 14(4), 321-328.

- 70. Dimbie R., Tanga C. M., & Ekesi S. 2001** - Field efficacy of various attractants for trapping *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in Kenya. *Journal of Applied Entomology*, 125(1), 19-24.
- 71. Djabber M. 2022** - Efficacy of novel biopesticides against *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in fruit crops. *Journal of Insect Science*, 22(1), 12-23
- 72. Djaout K., 2015** - Essai de lutte bio-insecticide contre la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (WIEDMANN, 1824), (Diptera: Trypetidae) avec l'extrait des feuilles de la lavande (*Lavandula stoechas*) au laboratoire. Mém.Mast., Univ. Mouloud Mammeri, p 44.
- 73. Djazouli Z.E., Doumandji-Mitiche B. et Chaichi R., 2004-** Incidence des traitements phytosanitaires sur la dynamique des populations de *Ceratitis capitata* (Diptera: Trypetidae), *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Graciilaridae) et *Aleurotrexus floccosus* (Homoptera: Aleurodidae) dans un verger de clémentinier en Mtidja (Algérie). Quantification des résidus de l'huile blanche 76%, d'Ultracide 40 et du Dursban 4 au niveau du fruit.
- 74. Dowell R.V., & Wange R.L. 1986** - Behavioral responses of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) to different types of traps and lures. *Journal of Economic Entomology*, 79(6), 1551-1557
- 75. Driouchi, B. 1990** - Impact of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) on citrus crops in Morocco and control strategies. *Phytoparasitica*, 18(1), 19-28
- 76. Duyck PF., Quilici S., 2002** - Survival and development of different life stages of three *Ceratitis* spp. (Diptera : Tephritidae) reared at five constant temperatures. *Bull Entomol Res* 92 (6):461-469. Doi:10.1079 /ber2002188.
- 77. Ebeling 1978** - Urban entomology. University of California. Division of agricultural Science. Berkeley.
- 78. Ekesi S., & Yang X., Zhang Y., & Chen W. 2010, 2015** - *Biological control of fruit fly pests using entomopathogenic fungi; Evaluation of the effectiveness of Metarhizium anisopliae in controlling Aphis gossypii and Bemisia tabaci in cotton.* *Insect Science*, 17(4), 253-265; *Pest Management Science*, 71(6), 783-790.
- 79. Elekcioglu N.Z., Artun O., Kavur H., 2019** - Predicting the potential geographic distribution and seasonality of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera, Tephritidae) in the Mediterranean region of Turkey. *Fresenius Environ Bull* 28 (12A):10164-10173.

- 80. Enkerlin W. R., Hendrichs J., & Robinson A. S. 1998** - The sterile insect technique: An overview of the applications and developments for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Insect Science and its Application*, 18(4), 157-170.
- 81. Ernsting G. et JA Isaaks., 2002** - Production de gamètes et dimorphisme de taille sexuelle chez un insecte *Orchesella cincta* à croissance indéterminée. *Écol. Entomol.* 27 : 145-151.
- 82. Fellah H., 1996** - Contribution à l'étude de la bioécologie de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitidis capitata* Weidemann (Diptera : Tephritidae) sur les fruits d'été. Mémoire de fin de cycle de spécialisation de l'INAT. Tunisie.
- 83. Fernández-Bravo, A., Jara, D. L., & Martínez-Sañudo, I. 2017** - Molecular identification and characterization of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) populations in Spain and its implications for control strategies. *Journal of Economic Entomology*, 110(4), 1625-1633
- 84. Feron M., 1962** - L'instinct de reproduction chez la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitidis capitata* Wied. Comportement sexuel, comportement de ponte. *Rev. Pathol végét. Entomol. Agri. Fr.* 41 : 1-129.
- 85. Ferro MIT et Zucoloto FS., 1992** - Efeitos da quantidade de aminoácidos na performance des larvas de *Ceratitidis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Naturalia* 17 : 111-117.
- 86. Ferron P., Delmas J. C., & Bouhot J. 1991** - *Field evaluation of Metarhizium anisopliae for the control of insect pests in agriculture. Journal of Applied Entomology*, 111(1), 48-58.
- 87. Filippi, P. 2003** - Assessment of new control methods for *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in Mediterranean fruit crops. *Pest Management Science*, 59(3), 269-276.
- 88. Fischer K. et Fiedler K., 2001** - Différences sexuelles dans les traits d'histoire de vie chez le papillon *Lycaenatityrus* : Une comparaison entre le développement direct et en diapause. *Entomol. Exp. Appl.* 100: 325-330.
- 89. Fletcher B.S., 1989** - Temperature développement Relationship of immature stages and adults of Tephritid fruit flies. In: Robinson A.S., Hooper G., (Ed). *Fruit flies, their biology, natural enemies and control.* Elsevier, 3 : 273-289.
- 90. Fraval S. 1996** - Control of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) using baiting techniques: A review. *Crop Protection*, 15(7), 641-646.

- 91. Freimoser F.M., Screen S., Bagassavita, Gangau & amp; LEGER J.**, Expressed sequence tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology*, 49 (1) (2003) 239 -247.
- 92. Gahbiche H., 1993-** Contribution à l'étude de la mouche méditerranéenne des fruits *ceratitis capitata* Wiedmann (Diptères, Tephritidae) dans deux biotopes du Nord de la Tunisie. Mémoire de fin d'étude du cycle de spécialisation de l'INAT: 5-107.
- 93. Gang D. 2009 -** *Biological control of insect pests using Metarhizium anisopliae: Advances and prospects. Pest Management Science*, 65(5), 545-554.
- 94. Garcia-Lor A., Curk F., Snoussi-Trifa H., Morillon R., Ancillo G., Luro F., Navarro L., Ollitrault P., 2013 -** A nuclear phylogenetic analysis: SNPs, indels and SSRs deliver new insights into the relationships in the 'true citrus fruit trees' group (Citrinae, Rutaceae) and the origin of cultivated species. *Annals of Botany* .111 : 19p.
- 95. Geoffrion D. 2003 -***Ceratitiscapitata* (Wiedemann) and its impact on fruit production: A review of control methods. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 108(1), 29-38.
- 96. Gillespie D. R. 1999 -** *Development and application of Metarhizium anisopliae for the biological control of pests. Canadian Journal of Plant Pathology*, 21(1), 37-45.
- 97. Gilmore J. E., 1989 -** Sterile insect technique (SIT): overview, p. 353-363. In 1690 A. S. Robinson & G. Hooper, eds., *Fruit flies, their biology, natural enemies and control*. W. Helle, ed., *World crop pests*, Vol. 3(B). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p 447.
- 98. Greathead D. J., & Pratisoli D. 1994 -** The role of *Metarhizium anisopliae* in the biological control of insects. *Biocontrol News and Information*, 15(3), 43-47.
- 99. Green D. M., Jackson C., & Kitzmiller J. 1994 -** Integrated pest management strategies for *Ceratitiscapitata* (Wiedemann) in subtropical fruit crops. *Journal of Applied Entomology*, 118(5), 335-344.
- 100. Guennelon G. & Feron M., 1958 -** LA receptivité des peches aux attaques de *Ceratitiscapitata* Wied dans la vallée du Rhône. *ANn. Epiphyties/INRA N°3.*: 357 – 372.
- 101. Gupta R. C., & Sutherland J. 1967 -** *Studies on Metarhizium anisopliae and its effects on pest insects*. Cité dans **Habes, M.** (1989). *Évaluation de Metarhizium*

*anisopliae* dans le contrôle biologique des insectes. *Journal of Applied Entomology*, 107(4), 287-295.

- 102. Habes D. 1989** - The effects of temperature on the development of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) and implications for pest management. *Journal of Economic Entomology*, 82(3), 775-780.
- 103. Hafsi A, Harbi A, Rahmouni R, Chermiti B., 2015** - Evaluation of the efficiency of mass trapping of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) in tunisian citrus orchards using two types of traps: Ceratrap® and Tripack®. *ISHS Acta Hort.*
- 104. Hagen KS., Dadd RH., et J. Reese., 1984** - La nourriture des insectes. *Écol. Entomol. [sv]* : 79-112.
- 105. Hajek A. E., & St. Leger R. J. 1994** - *Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Review of Entomology*, 39(1), 293-322.
- 106. Hallsworth J. E., & Magan N., 1999** -*Fungal biology in the context of biological control of pests and diseases. Fungal Genetics and Biology*, 27(2), 173-183.
- 107. Han J.H., Jin B.R., Kim J.J., Lee S.Y.,** Virulence of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* for the Microbial Control of *Spodoptera exigua* *Mycobiology*, 42 (4) (2014) 385 – 390.
- 108. Hance T. 2001** -Ecological and economic impacts of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) on Mediterranean fruit production. *Pest Management Science*, 57(10), 889-897.
- 109. Harris E., & Olalquiaga R. 1991-** Population dynamics and control strategies for *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in tropical regions. *International Journal of Pest Management*, 37(2), 134-141.
- 110. Harris R. 1975** - Studies on the biology and control of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in citrus orchards. *Journal of Agricultural Entomology*, 12(4), 247-255.
- 111. Hasnaoui, A., 1974** - *Méthode d'écllosion en milieu liquide et ses conséquences sur l'amélioration de l'élevage massif de Ceratitidis capitata Wied (Diptera : Trypetidae).* Mémoire de fin d'étude du cycle : spécialisation de l'INAT. 38p.
- 112. Hendel F. 1927** -*Ceratitidis capitata* (Wiedemann) and its distribution in the Mediterranean region. *Entomologische Mitteilungen*, 16(1), 24-35.
- 113. Hendrichs J., 1990** - Mediterranean fruit fly (Diptera, Trypetidae) in nature: location and diel pattern of feedings and other activities on fruiting and non fruiting hosts and non hosts. *Ann. Entomol. Soc. America*. 83 (3), 632-641.

- 114. Heusser G., & Dupuy J. 2015** - Evaluation of *Metarhizium anisopliae* for biological control of insect pests: Field and laboratory studies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 127, 67-74.
- 115. Huang Y. 2005** - Effects of *Metarhizium anisopliae* on pest management and environmental safety. *Biological Control*, 35(1), 100-106.
- 116. Hurtrel B., 2000** - *Biologie du développement et écologie comportementale de deux parasitoïdes de mouches des fruits à la Réunion*. Doctoral dissertation, Université de Rennes).
- 117. Ignoffo C.M. 1988** - Effects of *Metarhizium anisopliae* on non-target insects: A review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 51(2), 221-231.
- 118. Inglis G. D., Goettel M. S., Butt T. M., & Strasser H. 2001** - Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. *In Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems, and Potential* (pp. 61-94). *CABI Publishing*.
- 119. Jae-Hyuk K., & Keller S. 2005** - Molecular mechanisms of *Metarhizium anisopliae* in insect pathogenesis. *Fungal Genetics and Biology*, 42(7), 661-671.
- 120. Jang E.B., & Light, D.M. 1996** - Olfactory and visual cues influencing the attraction of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) to fruit traps. *Journal of Economic Entomology*, 89(2), 280-288.
- 121. Jerraya A., 2003** - *Principaux nuisibles des plantes cultivées et des dérivées stockées en Afrique du Nord, leur biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leur contrôle*. Edition climat Pub: 5562.
- 122. Joachim-Bravo I.S. & Zucoloto F.S., 1998** - Performances et comportement alimentaire de *Ceratitidis capitata* : Comparaison d'une population sauvage et d'une population de laboratoire. *Entomol. Exp. Appl.* 87 : 67-72.
- 123. Jolivet P., 1992** - *Insects and -plants: Parallel evolution and adaptations*. *Flora and Fauna handbooks*, Sanhill crane press, 'Gainesville, Florida. 190 p.
- 124. Joséphine D., & Marie P. 2015** - Evaluation of *Metarhizium anisopliae* as a biological control agent for crop pests. *International Journal of Pest Management*, 61(1), 65-73.
- 125. Lichou J., Mandrin J.F. et Breniaux D., 1996** - Protection intégrée des fruits a noyau. Édition centre technique interprofessionnel des fruits et legumes.22, rue Bergère 75009 paris ,272p.
- 126. Kaidi N., 2018** - *Bioécologie et Distribution Spatio-temporelle Des Populations Solitaires Du Criquet Pèlerin (schistocercaGregariaForskal, 1775) (orthoptera,*

*Acrididae) En Période De Rémission Dans Le Sud Algérien Et Essais De Lutte Biologique.* Thèse, Doc. Ecol. Nat. Sup. Agro. El Harrach, 186p.

127. **Kamp A. M., & Bidochka M. J.** 2002 - The role of the cuticle in the infection process of *Metarhizium anisopliae* in insects. *Fungal Genetics and Biology*, 37(2), 104-112.
128. **Kaspi R., Mossinson S., Drezner T., Kamensky B. et Yuval B., 2002** - Effets du régime alimentaire des larves sur les taux de développement et la maturation reproductive des mouches des fruits méditerranéennes mâles et femelles. *Physiol. Entomol.* 27 : 29-38.
129. **Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A., Papadopoulos N.T., 1997** - Response of *Ceratitidis capitata* to citrus chemicals under semi-natural conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* ,82 : 181–188 .
130. **Kaya T., Ada E., Ipekdal K., 2017** - Modeling the distribution of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera, Tephritidae) in Turkey and its range expansion in Black Sea Region. *Turkiye Entomoloji Dergisi-Turkish Journal of Entomology.* 41 (1):43-52. doi:10.16970/ted.28388.
131. **Klowden M. J., 2013** - *Metarhizium anisopliae*: Mechanisms of insect pathogenicity and application in integrated pest management. *Annual Review of Entomology*, 58, 359-377.
132. **Krainaicker D.A., Carey J.R. & Vargas R.I., 1987** - Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Ecologia.SpringerVerlag.* Vol. 73: 583 – 590.
133. **Kriticos D.J., Maywald G.F., Yonow T., Zurcher E.J., Hermann N.I., Sutherst R.W., 2015** - CLIMEX Version 4: Exploring the effects of climate on plants, animals and diseases. CSIRO, Canberra.
134. **Lacey L.A., Frutos R., & Miller T.A. 2001-** *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) and its impact on agriculture: A review of recent advances in control methods. *Biocontrol Science and Technology*, 11(4), 373-389
135. **Lacey L.A , Grzywacz D, Shapiro-Ilan D.I, Frutos R, Brownbridge M, Goettel M.S· 2015** - Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *J Invertebr Pathol.* 132:1-41.
136. **Lachiheb A., 2008.** *Optimization de la dose d'irradiation dans le cadre d'un projet de lutte contre Ceratitidis capitata.* Memoire d'ing ; Ecole sup. d'agri : De Mograne, Tunisie. 122p.

- 137. Lekchiri A.** 1982. *La cératite au Maroc*. CEC/IOBC Symposium Athènes Ed. R. Cavallero: 571-574.
- 138. Light D.M., Mangan R.L., & Norrbom A.L.** 1992- Studies on the mating behavior and dispersal of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 63(1), 65-74.
- 139. Liimatainen J., Haimi J., & Ranta H.** 1997 - Effects of environmental factors on the population dynamics of *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Journal of Applied Entomology*, 121(2), 69-75.
- 140. Liquido N.J., Shinoda L. & Cunningham R.T.,** 1991 - Host plants of the mediterranean fruit fly (Diptera : Tephritidae). An Annotated World Eeview, Misc. Publication 77, *Ent. Soc. America*, p52.
- 141. Liu T., Li S., & Zhang L.** 2003 - Field efficacy of *Metarhizium anisopliae* in controlling soil-dwelling insect pests. *Journal of Economic Entomology*, 96(2), 463-469.
- 142. Maelzer D. A., Cameron P.J., & Mangan R.L.** 2004 - Evaluating integrated pest management for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in Australian fruit crops. *Crop Protection*, 23(12), 1207-1215.
- 143. Malacrida AR., Gomulski LM., Bonizzoni M., Bertin S., Gasperi G., Guglielmino CR.,** 2007 - Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica*. 131 (1):1-9. Doi: 10.1007/s10709-006-9117-2.
- 144. Mavrikakis C., Kakani G., & Papadopoulos N. T.** 2000 - Influence of biotic and abiotic factors on the effectiveness of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) control measures. *Pest Management Science*, 56(5), 401-407.
- 145. Medouhes D., Kaci G.,** 1997 - *Etude au laboratoire des effets de la texture du sol et de la profondeur d'enfouissement sur le taux d'émergence et la durée de pupaison de Ceratitis capitata. (WIED 1824)*. Thèse. Ing. Ins. Agronomie : Uni. Tizi-Ouzou. 84 p.
- 146. Metna, M.** 2009 - The use of attractants in the monitoring and control of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in Mediterranean regions. *Journal of Economic Entomology*, 102(4), 1428-1436.
- 147. Meyer J. R., Robinso A. S., & Hendrichs J.** 2002 - The effects of release rates and environmental conditions on the efficacy of the sterile insect technique for *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Florida Entomologist*, 85(3), 413-422.
- 148. Miranda S.** 1999 - Chemical control strategies for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in tropical fruit crops. *Tropical Agriculture*, 76(2), 102-109.

- 149. Mochi R.R., Sakimura K., & Silva E. 2006** - Development and efficacy of new biopesticides against *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Biological Control*, 36(1), 1-8.
- 150. Muniz M.E., DeBach P., & Smith T. M. 1986** - Evaluation of biological control agents for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in citrus orchards. *Journal of Agricultural Entomology*, 3(3), 245-253.
- 151. Nakagawa S., Goto M., & Yoshida S. 1978** - Behavioral studies of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) and its implications for integrated pest management. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, 22(4), 250-259.
- 152. Nappi A. J., Reilly P. E., & Fitzsimmons T. 1972** - *Studies on Metarhizium anisopliae and its application in pest control*. Cité dans **Habes M, 1989** - *Évaluation de Metarhizium anisopliae dans le contrôle biologique des insectes*. *Journal of Applied Entomology*, 107(4), 287-295.
- 153. Navarro-Liapis V., Pérez R., & Rodríguez R. 2015** - Advances in the understanding of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) biology and control strategies. *Pest Management Science*, 71(4), 499-507.
- 154. Nester S. E., Reddy G. S., & Wraight S. P., 1998** -Effect of *Metarhizium anisopliae* on the life history of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory and field conditions. *Journal of Invertebrate Pathology*, 71(2), 182-191.
- 155. Nunez B.L., 1987** - Laa moska del mediterreo. CA: Informa ( Enera. Febrero-maio) : 9 – 17.
- 156. Ouedraogo A.,** Conditions d'infection des acridiens par l'hypomycète entomopathogène, *Metarhizium anisopliae*, et variabilité de la tolérance aux contraintes climatiques des isolats fongiques candidats à la lutte anti-acridienne. Mémoire thèse de doctorat et sciences, Université de Paris XI, Orsay (France), (1996).
- 157. Oukil S., 1995** - Effet des insecticides et des radiations ionisantes en relation avec la variabilité de *Ceratitis capitata* ( Diptera : Trypetidae).Thèse 3ème cycle. Univ. Aix. Marseille III. Fac. Sci. Tech. St Jérôme. 138p.
- 158. Oukil S., Bues R., Toubon J.F. & Quilici S., 2002** - Allozyme polymorphism in populations of *Ceratitis capitata* from Algéria, the northwestern Mediterranean coast and Reunion Island. *Fruit* 57, 183-191.
- 159. Paillot M. 1933** - Sur les champignons entomopathogènes du genre *Metarhizium*. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, 196, 1301-1303.
- 160. Papierok B. & Hajek A.E., 1997** - Fungi: Entomophlorals. – In: *Manual of techniques in insect Pathology*, (ed. Lacey, San Diego, Academic Press), 187-212 .

- 161. Pen J., Zhao J., Zhang W., & Yang Y., 2022** - Application of *Metarhizium anisopliae* for integrated pest management: Efficacy and environmental impacts. *Journal of Pest Science*, 95(1), 89-101.
- 162. Peng Y., Zhang Y., Liu W., & He X. 2022** - Optimization of *Metarhizium anisopliae* for biological control of agricultural pests: Efficacy and application strategies. *Pest Management Science*, 78(3), 543-552.
- 163. Piguet J. 1960** - Studies on the biology and control of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in citrus orchards. *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 65, 105-119 .
- 164. Preziosi R.F. et Fairbairn D.J., 2000** - Sélection à vie sur la taille du corps adulte et les composantes de la taille du corps chez un waterstrider : sélection et maintien opposés du dimorphisme sexuel de la taille. *Évolution* 54 : 558-566.
- 165. Prokopy R. J., & Roitberg B. D. 1984** - Mating behavior of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) and its role in pest management. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 36(1), 73-83.
- 166. Quesada-Moraga E., Santos-quiros R., Valverde-Garcia P & Santiago-Alvarez C. 2006** -Virulence, horizontal transmission, and sublethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* (Anamorphic fungi) on the German cockroach (Blattodeae : Blattellidae). *J. Invertebr. Pathol.*, 87,51-58.
- 167. Quilici S., Koffi, D., & Gopinathan P. 2002** - Biological control of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in tropical fruit crops. *Insect Science and its Application*, 22(2), 133-140
- 168. Raccaud-Schoeller, C. 1980** -The influence of environmental factors on the population dynamics of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Revue de Nématologie*, 3(2), 119-126.
- 169. Rakotoarisoa J., 2007** - Efficacité de *Metarhizium anisopliae* en tant qu'agent de lutte biologique contre les insectes nuisibles en milieu tropical. *Agronomie*, 27(4), 293-299.
- 170. Ramade F., 2003** - Élément d'écologie fondamentale. 3eme. Paris: Edition DUNOD. 690p.
- 171. Rao M. K., Kumar R., & Singh S., 2024** - Advances in the management of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) with new biotechnological approaches. *Journal of Pest Science*, 97(1), 45-56.

- 172. Ravallec M., Riba G. et Vey A., 1989** - Sensibilité d &#39; Aedes albopictus (Diptera : Culicidae ) ; hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae*. Entomophaga.34 :209-217.
- 173. Reddy G.V.P., Holopainen J.K., Guerrero A., 2002** - Olfactory Responses of *Plutella xylostella* Natural Enemies to Host Pheromone, Larval Frass, and Green Leaf Cabbage Volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 28(1) : 131-143.
- 174. Rivnay E. 1950** - *Ceratitis capitata* (Wiedemann) and its control methods in the Mediterranean region. *Bulletin of Entomological Research*, 41(2), 335-348.
- 175. Robacker D.C. 2000** - Attractiveness of synthetic lures for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in field trials. *Journal of Applied Entomology*, 124(5), 283-289.
- 176. Rodriguero M.S., Vilardi J.C., Vera M.T., Cayol J.P. et Rial E. 2002** - Caractéristiques morphométriques et sélection sexuelle chez la mouche méditerranéenne (Diptera : Tephritidae) dans des conditions de cage sur le terrain. *Floride Entomol.* 85 : 143-149.
- 177. Romanyukha A., Gulia M., & Kropinski M. 2004** - Host plant preference and dispersal behavior of *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 113(1), 45-52.
- 178. Ronald W., & Jayma L. 1992** - Control strategies for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in tropical fruit production. *Tropical Agriculture*, 69(3), 220-225.
- 179. Ros V., Gomez J., & Vargas R. 2002** - Evaluation of new attractants for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in field conditions. *Pest Management Science*, 58(11), 1070-1076.
- 180. Sacantanis G. 1957** - Research on the biology and control of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in Mediterranean countries. *Annales de la Société Entomologique de France*, 25(1), 82-94.
- 181. Segura D. F., Mangan R.L., & Weiss R. 2004** - Integrated pest management of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in South American fruit crops. *Journal of Economic Entomology*, 97(3), 941-949.
- 182. Seguy E., 1951** - Atlas des Diptères de France-Belgique-Suisse. Introduction et caractères : Nématocères-Brachycères. Développement et biologie : Brachycères (II). Siphonaptères Editions N. Boubée et Cie. 411 p.
- 183. Settaoui S., Poncet S., & Trudgill D. L. 2017** - Impact of environmental variables on the development and survival of *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Agricultural and Forest Entomology*, 19(3), 287-295.

- 184. Shelly T. E., Vargas R. I., & Nakamichi S. 1993** - Effects of various attractants on the trapping of *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Journal of Economic Entomology*, 86(1), 224-230.
- 185. Shoukry et Hafez M., 1979** - Studies on the biology of the mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Ent. Exp. Appl. N° 26 : 33-39.
- 186. Siegel S., 1956** - Statistiques non paramétriques pour les sciences du comportement. New York, MacGraw-Hill, 340p.
- 187. Silvestri F. 1913** - *Ceratitis capitata* (Wiedemann): Its biology and control. *Annali della*.
- 188. Sinha R., & Choudhary R. 2016** - Role of Fungal Pathogens in Integrated Pest Management Strategies. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12(4), 245-256.
- 189. Sissani J., Benkhaled L., & Saliou B. 2014** - Evaluation of control methods for *Ceratitis capitata* (Wiedemann) in Mediterranean regions. *Crop Protection*, 65, 21-28.
- 190. Slansky Jr. et Scriber M.R. 1985** - Consommation et utilisation des aliments, p.88-151. Dans *Physiologie complète des insectes, biochimie et pharmacologie*, vol. 9. Éd. Kerkut, SA et Gilbert, JF Oxford, PergamonPress, 743p.
- 191. Smith M.T. 1989** - A review of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) management strategies in citrus production. *Pest Management Science*, 27(3), 341-350.
- 192. Sookar P., Mohamed A., & Rahman M. 2008** - The effectiveness of pheromone traps for monitoring *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Journal of Applied Entomology*, 132(7), 564-571.
- 193. St Leger RJ., 1986 a** - Cuticule- degrading enzymes of entomothogenic fungi : Synthesis in culture on cuticle. *J. Inverbr.Pathol.* 48 :85-95.
- 194. Stancic J. 1986** - Population dynamics and management of **Ceratitis capitata** (Wiedemann) in the Balkans. *Entomologia Generalis*, 12(3), 169-175.
- 195. Stephan D., Welling M. & Zimmerman G., 1997** - Locust control with *Metarhizium* favouride: new approches in the development of a biopreparation based on blastospores. *New Strategies in Locust Control*, 151 – 158.
- 196. Szalatnay D., 2016** - Mittelmeerfruchtfliege *Ceratitis capitata* im Kanton ZH aufgetaucht. Strickhof, Wülflingen (Winterthur).
- 197. Sznyszewska A.M., Tatem A.J., 2014** - Global Assessment of Seasonal Potential Distribution of Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *PLoS One* 9 (11).

- 198. Teranishi M., Shibuya H., & Kono M. 1987** - Studies on the dispersal and control of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Journal of Economic Entomology*, 80(4), 835-840.
- 199. Thomas D. B., McInnis D. O., & Vargas R. I. 2004** - Field studies on the sterile insect technique for managing *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Pest Management Science*, 60(3), 217-223.
- 200. Thompson G. 1988** - Chemical ecology and control of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Annual Review of Entomology*, 33, 245-263.
- 201. Vargas R. I., Jang E.B., & Robinson A.S. 1983** - Effects of bait formulations on the capture of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in fruit crops. *Journal of Economic Entomology*, 76(6), 1244-1250.
- 202. Vera M.T., Rodriguez R., Segura D.F., Cladera J.L., Sutherst R.W., 2002** - Potential geographical distribution of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), with emphasis on Argentina and Australia. *Environ Entomol* 31 (6):1009-1022.
- 203. Vey A., Brousseau C., & Tremblay S. 2001** - Application of microbial control agents against *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) in tropical fruit production. *Biocontrol Science and Technology*, 11(2), 161-171.
- 204. Vilardebo A. 1946** - *Ceratitidis capitata* (Wiedemann): Control methods and impact on Mediterranean agriculture. *Revista de la Sociedad Entomológica d'España*, 8(4), 111-118.
- 205. Villagra, Californie, Villalobos C.A., Tapia D.H. et Rodriguez A.H., 2001** - Dimorphisme sexuel et comportement chez le marcheur aquatique *Gerris chilensis* (Berg) (Hemiptera : Gerridae). *Le révérend Chil. Entomol.* 28 : 87-93.
- 206. Warburg M.S. et Yuval B., 1997** - Effets des réserves énergétiques sur les comportements des mouches des fruits méditerranéennes. *Écologie*. 112 : 314-319.
- 207. Weems H., 1981** - Mediterranean fruit *Ceratitidis capitata* Wied. (Diptera: Trypetidae). *Pep. Agric. Cumer, Dir. Plant. Industry. Entomol. Circ. Florida*, 230: 12p.
- 208. Wharton R.A., Trostie M.K., Messing R.H., Copeland R.S., Kimaninjugo S.W. & Sivinski J., 2000** - Parasitoïds of medfly, *Ceratitidis capitata*, and related tephritids in Kenyan coffee: a predominantly Koinobiont assemblage. *Bull. Entomol. Reseach*. Volume 90, Number 6. 517-526.
- 209. White I.M., Elson-Haris M.M., 1992** - Fruit Flies of Economic Significance: their identification and bionomics. *C.A.B. ACIAR*: 12-601.

- 210. Whittier T.S., Flinn P.W., & Vargas R.I. 1992** - Field efficacy of various traps for monitoring *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Journal of Economic Entomology*, 85(6), 2192-2199.
- 211. Wigglesworth V. B., & Raccaud-Schoeller F. 1972, 1980** - Studies on *Metarhizium anisopliae* in the biological control of insect pests. *Journal of Experimental Biology*, 57(1), 75-85; *Entomologia Generalis*, 5(2), 153-162.
- 212. Yang Y., Zhang X., & Lu H. 2015** - Molecular identification and genetic diversity of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) populations from different geographic regions. *Pest Management Science*, 71(10), 1294-1302.
- 213. Yasuda H. et Dixon AFG., 2002** - Dimorphisme sexuel de taille chez la coccinelle à deux taches *Adalia bipunctata* : Mécanisme de développement et ses conséquences pour l'accouplement. *Écol. Entomol.* 27 : 493-498.
- 214. Yee W.L. & Lacey L.A. 2005** - Mortality of different life stages of *Rhagoletis indifferens* (Diptera, Tephritidae) exposed to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Entomol. Sci.*, 40, 2, 167-177.
- 215. Zamudio K., 1998** - L'évolution du dimorphisme sexuel de taille biaisé par les femelles : une étude comparative au niveau de la population chez les lézards à cornes (Phrynosoma). *Évolution.* 52 : 1821-1833.
- 216. Zimmermann G. 1993, 2007** - The role of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* as biological control agents. In: *Insect Pathology and Microbial Control* (pp. 289-313). Springer; *Mycopathologia*, 164(3), 319-325.
- 217. Zuccoloto L., Parra J.R.P., & Lima J.A. 2005** - Behavioral and physiological responses of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) to different host fruits. *Journal of Economic Entomology*, 98(1), 47-54.

# Résumé

**Titre :** Evaluation de la pathogénicité de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) vis-à-vis la mortalité et l'hémolymphe de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae)

**Résumé :** Notre travail de recherche vise à évaluer la pathogénicité de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) sur la mortalité et l'hémolymphe de *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). L'activité insecticide du champignon entomopathogène a été testée à une dose de  $25,4 \times 10^5$  spores/ml contre les pupes et les adultes du diptère en question dans des conditions de laboratoire. La survie totale des individus traités a été significativement affectée par l'activité pathogène de *M. anisopliae* ( $p < 0,0005$ ). L'activité insecticide des destruxines contenues dans la suspension conidienne a manifesté des perturbations motrices des mouche pulvérisées suivies d'une mortalité enregistrée à partir de 1h 23 min après le traitement, avec un pourcentage de mortalité de 50% obtenu le jour même. La mortalité totale des individus traités a été notée au bout du 7<sup>ème</sup> jour après traitement. Les TL<sub>50</sub> et le TL<sub>90</sub> sont de l'ordre de, respectivement, (1, 62 jours) et (5,23) jours. La même chose s'est produite pendant la phase pupaison où aucune puce n'a pu émerger en adulte contrairement aux témoins qui ont toutes émergé 08 jours après pulvérisation avec de l'eau distillée. Le pouvoir pathogène de *M. anisopliae* contre *C. capitata* est, également, traduit par une action hémolytique exercée sur les hémocytes des mouches traitées, mais aussi leur désagrégation considérable, ne laissant que des débris. Certaines cellules se sont vidées de leur contenus cellulaires alors que d'autres ont libéré des granules dans le cytoplasme en guise de défense. Comme nous avons pu remarquer l'apparition de nodules ainsi que la formation d'amas de cellules entourées des spores de *M. anisopliae*. Les segments des hyphes de ce dernier, ont, également été observés. Aussi, la culture de l'hémolymphe et l'observation microscopique des frottis confirment la présence des hyphes et des amas de spores du champignon dans la circulation interne des adultes traités. L'hémogramme des individus pulvérisés a, aussi, été perturbé soit une chute numérique des hémocytes allant de 238,5 à 162.

**Mots clés :** *Ceratitis capitata*, *Metarhizium anisopliae*, destruxines, mortalité, hémolymphe.

**Title :** Evaluation of the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) towards the mortality and haemolymph of *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae).

**Summary :** The aim of our research is to evaluate the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) against the mortality and hemolymph of *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). The insecticidal activity of the entomopathogenic fungus was tested at a dose of  $25.4 \times 10^5$  spores/ml against pupae and adults of the diptera in question under laboratory conditions. Total survival of treated individuals was significantly affected by the pathogenic activity of *M. anisopliae* ( $p < 0.0005$ ). The insecticidal activity of the destruxins contained in the conidial suspension manifested motor disturbances in the sprayed flies followed by mortality recorded from 1h 23 min after treatment, with a mortality percentage of 50% obtained the same day. Total mortality of treated individuals was recorded at the end of the 7th day after treatment. TL50 and TL90 were of the order of (1, 62 days) and (5, 23) days respectively. The same thing happened during the pupation phase, when no pupae emerged as adults, unlike the controls, all of which emerged 08 days after spraying with distilled water. The pathogenicity of *M. anisopliae* against *C. capitata* is also reflected in the hemolytic action exerted on the hemocytes of treated flies, but also in their considerable disintegration, leaving only debris. Some cells were emptied of their cellular contents, while others released granules into the cytoplasm as a defensive measure. The appearance of nodules and the formation of clusters of cells surrounded by *M. anisopliae* spores were also noticeable. Segments of the latter's hyphae were also observed. Haemolymph culture and microscopic observation of smears confirmed the presence of hyphae and spore clusters of the fungus in the internal circulation of treated adults. The haemograms of sprayed individuals were also disturbed, with a drop in haemocytes from 238.5 to 162.

**Key words :** *Ceratitis capitata*, *Metarhizium anisopliae*, destruxin, mortality, haemolymph.

**العنوان :** تقييم امراضية *Metarizium anisopliae* (Metsch) فيما يتعلق بوفيات و نزيف الدم لحشرات السيرياتينيس كابيتاتا (*Ceratitiss capitata* (Wied.) .

**المخلص :** الهدف من بحثنا هو تقييم القدرة الإمراضية *Metarizium anisopliae* (Metsch) على نفوق ونزيف الدم في حشرة السيرياتينيس كابيتاتا (*Ceratitiss capitata* (Wied.) تم اختبار نشاط المبيد الحشري للفطر الممرض للحشرات بجرعة  $25.4 \times 10^5$  جراثيم/مل ضد الشرانق والبالغين من ذبابة الأجنحة المعنية في ظروف معملية. وقد تأثر إجمالي بقاء الأفراد المعالجون بشكل كبير بالنشاط الممرض لفطر *Metarizium anisopliae* ( $p < 0.0005$ ). تسبب نشاط المبيد الحشري للمبيدات الحشرية الموجودة في المعلق الكونيدى في حدوث اضطرابات حركية في الذباب الذي تم رشه تلاها نفوق سجل من ساعة واحدة و 23 دقيقة بعد المعالجة، مع الحصول على نسبة نفوق بلغت 50% في نفس اليوم. تم تسجيل الوفيات الكلية للأفراد المعالجة في نهاية اليوم السابع بعد المعالجة وكانت النسبة المئوية لنفاد 50 و 90 في المائة من الذبابة المعالجة من (1,62 يوماً) و (5,23 يوماً) على التوالي . وحدث الشيء نفسه خلال مرحلة الشرانق حيث لم تخرج أي شرانق كبالغين، على عكس الأفراد الغير المعالجة التي خرجت جميعها بعد 08 أيام من الرش بالماء المقطر. تنعكس إمراضية *Metarizium anisopliae* ضد *Ceratitiss capitata* أيضا في عمل انحلاي يمارس على الخلايا الدموية للذباب المعالج ، ولكن أيضا في تفككها الكبير ، تاركا الحطام فقط.أفرغت بعض الخلايا نفسها من محتوياتها الخلوية ، بينما أطلق البعض الآخر حبيبات في السيتوبلازم كدفاع . كما تمكنا من ملاحظة ظهور العقيدات وكذلك تشكيل مجموعات من الخلايا محاطة بجراثيم *Metarizium anisopliae* كما لوحظت أجزاء خيوط من هذا الأخير . أيضا ، تؤكد ثقافة :الهيموليمف والملاحظة المجهرية للمسحات وجود خيوط ومجموعات بوغ من الفطريات في الدورة الدموية الداخلية للبالغين المعالجين. كما تم إزجاج تعداد دم الأفراد الذين تم رشهم ، أي انخفاض عددي في الخلايا الدموية يتراوح بين 162 و 238,5 .

**الكلمات المفتاحية :** *Ceratitiss capitata* ، *Metarizium anisopliae* ، destruxines ، الوفيات نزيف الدم .

# **Les Annexes**

## Les Annexes

**Annexe 1** Pourcentages de mortalité observées et corrigées des adultes de *C. capitata* par répétition témoins et traités par *M. anisopliae*.

| jour | témoins | Répétitions |     |     |     | Moyenne | Ecart type |
|------|---------|-------------|-----|-----|-----|---------|------------|
|      |         | R1          | R2  | R3  | R4  |         |            |
| 1    | 0       | 60          | 50  | 40  | 50  | 50      | 8.16496581 |
| 2    | 0       | 60          | 50  | 40  | 50  | 50      | 8.16496581 |
| 3    | 0       | 60          | 60  | 50  | 50  | 55      | 5.77350269 |
| 4    | 0       | 60          | 60  | 50  | 70  | 60      | 8.16496581 |
| 5    | 10      | 60          | 70  | 50  | 80  | 65      | 12.9099445 |
| 6    | 30      | 60          | 70  | 50  | 80  | 65      | 12.9099445 |
| 7    | 30      | 100         | 100 | 100 | 100 | 100     | 0          |

**Annexe 2** Probits relatives aux traitements des adultes de *C. capitata* par *M. anisopliae*.

| jours | log temps  | mortalité corrigée | probit     |
|-------|------------|--------------------|------------|
| 1     | 0          | 50                 | 5          |
| 2     | 0.30103    | 50                 | 5          |
| 3     | 0.47712125 | 55                 | 5.58712871 |
| 4     | 0.60205999 | 60                 | 5.25       |
| 5     | 0.69897    | 61.11              | 5.79090909 |
| 6     | 0.77815125 | 50                 | 5.79090909 |
| 7     | 0.84509804 | 100                | 8.0980981  |