MINISTERE DE L'AGRICULTURE, DES RESSOURCES HYDRAULIQUES ET DE LA PECHE

REPUBLIQUE TUNISIENNE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE DE TUNISIE

Ecole Doctorale Sciences et Techniques de L'Agronomie et de l'Environnement

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES AGRONOMIQUES

Spécialité : Phytiatrie

Les ravageurs des oranges Thomson, cas d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae) : diversité génétique, bio-écologie et moyens de lutte

Soutenue publiquement par

Mme. Wiem HACHED

14 Février 2019 à INAT

Devant le jury composé de

Mr. Mehdi BEN MIMOUN,	Professeur,	INAT,	Président
Mme. Kaouthar GRISSA LEBDI,	Professeur,	INAT,	Directeur de thèse
Mr. Mohamed Lahbib BEN JAMAA,	Professeur,	DGPCQPA,	Rapporteur
Mme. Jouda MEDIOUNI BEN JEMAA,	Maître de Conférences,	INRAT,	Rapporteur
Mr. Mohamed AMMAR,	Maître de Conférences,	INAT,	Examinateur

Remerciements

« *On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination* ». Au terme de ce travail j'ai le plaisir d'exprimer mes vifs remerciements à l'intention de tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette Thèse de doctorat.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma grande reconnaissance et gratitude à ma directrice de thèse, **Pr**.**Kaouthar GRISSA LEBDI,**qui a dirigé ce travail avec volonté et patience. Je lui adresse mes sincères remerciements pour ses qualités scientifiques et humaines, ses remarques pertinentes, ses conseils fructueux et pour les encouragements qu'elle m'a prodiguée. C'est bien grâce à son appui et sa compétence que mon travail a pris forme. Qu'elle trouve dans cette thèse le témoignage de mon profond respect et reconnaissance.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers**, Pr.Mohamed LahbibBENJAMAA** et **Dr.Jouda MEDIOUNI-BEN JEMAA,**qui m'ont fait l'honneur d'être rapporteursde ma thèse. Je les remercie pour le temps qu'ils ont accordé à la lecture de ce manuscrit.Vos remarques pertinentes et vos multiples conseilsm'ont beaucoup aidé à améliorer la qualité de mon travail. Que vous en soyez vivement remerciés.

J'exprime mes sincères considérations à **Pr. Mehdi BEN MIMOUN,** pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

J'exprime ma vive gratitude à **Dr. Mohamed AMMAR,** pour avoir accepté d'examiner ce travail.

J'aimerais remercier également mon directeur de stage au musée de zoologie de Munich (Z.S.M) **Pr.Axel HAUSMANN** et également **Dr.Glàucia MARCONATO** pour la qualité de leurs encadrements.

Mes vifs remerciements s'adressent au **Pr.Haythem MHADHBI**, directeur du laboratoire des légumineuses au Centre de Biotechnologie de Borj Cédria (C.B.B.C) qui a bien accepté de m'accueillir.

Je remercie aussi vivement tout le personnel du centre technique des agrumes (C.T.A) particulièrement **Mme.Salma BEN ROMDHANE**, **Dr.Hajer SAHRAOUI**, **Mr. Hatem NAOUI**, **Mr.Ali AYARI**, **Mr.Brahim MESSALMANI**et **Mr.Achref BLEL** ainsi que **Mr. Mohamed CHEBBI** (G.D.A Testour) pour leurs collaborations.

Je souhaite aussi remercier **Dr. Sabrine ATTIA – BARHOUMI** pour ses encouragements et ses conseils pratiques.

Finalement, je remercie tout le personnel du laboratoire d'entomologie-acarologie de l'INAT, particulièrement **Mme.Sonia JENDOUBI,** mes collègues et tous les ouvriers pour leurs collaborations dans la réalisation de mes travaux de recherche au laboratoire .Sans oublier tous les agriculteurs qui ont bien voulu nous accepter dans leurs parcelles.

Résumé

La culture des agrumes est sujette à l'attaque de plusieurs ravageurs d'importances économiques variables. Depuis l'année 2008, les dégâts de la pyrale des dattes*Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera : pyralidae)ont été signalés dans les vergers d'agrumes particulièrement sur les oranges var.Thomson.

Les résultats de notre étude ont montré que la présence de ce nuisible est plus importante dans le biotope de Morneg qui abrite également une population moyenne de la cochenille farineuse alors que les thrips y sont peu présents.

Par ailleurs, deux techniques de la biologie moléculaire « le gêne COI » et la « RAPD-PCR » ont été testées afin d'étudier la diversité génétique de la pyrale des dattes selon la plante hôte : palmier dattier, grenadier et oranges Thomson. Une variabilité génétique élevée a été démontrée avec absence de fidélité par rapport à la plante hôte.

D'autre part, en étudiant la bio-écologie de ce lépidoptère, l'activité de vol des adultes d'*E. ceratoniae* s'étale généralement du mois d'avril jusqu'à fin novembre – début décembre, en présentant 3 à 5 pics de volssuccessifs dans les différents vergers d'oranges Thomson. A la fin de l'infestation, la nymphose se déroule dans les feuilles d'orangers chutées et enroulées. Les dégâts occasionnés par ce ravageur peuvent atteindre les 19 % de la totalité de la production. Il a été aussi dégagé que la présence de la pyrale des dattes n'est pas associée à la cochenille farineuse au niveau des parcelles d'oranges Thomson.

Le spinosade à 60 cc/hl appliqué en pulvérisation foliaire, ainsi que la densité de 10 pièges par hectare ont montré leurs efficacités dans la baisse du niveau d'infestation. Alors que l'huile essentielle du laurier noble présente un fort effet de répulsion contre ce nuisible.

La dose de 3000 parasitoïdes de *Trichogramma cacoeciae* / pied d'orange Thomson / lâcher, a permis une faible baisse du niveau d'infestation d'où la nécessité d'essayer autres doses permettant de contrôler la pyrale des dattes.

Cependant, la toxicité de quelques insecticides, les plus utilisés dans les vergers agrumicoles en Tunisie, sur ce parasitoïde a été démontrée et qui variait selon son stade de développement.
L'ensemble de ces résultats pourrait être donc valorisé dans un programme de lutte intégrée contre la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson.

Mots clés :orange Thomson, piégeage de masse, pyrale des dattes, spinosade, *Trichogramma cacoeciae*, variabilité génétique.

Abstract

Citrus cultivation is prone to attack by many pests of varying economic importance. Since the year 2008, the damages of the date moth *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) have been reported in citrus orchards especially on oranges var. Thomson.

The results of our study showed that the presence of this pest is more important in the Morneg biotope, which is also home to a moderate population of the mealybug whereas thrips are fewly present.

In addition, two molecular biology techniques "COI gene" and "RAPD-PCR" were tested to study the genetic diversity of the date moth according to the host plant: date palm, pomegranate and Thomson oranges. High genetic variability has been demonstrated with no fidelity to the host plant.

On the other hand, by studying the bio-ecology of this lepidopteran, the flight activity of *E. ceratoniae* adults extend generally from april to the end of november - beginning of december, with 3 to 5 peaks of successive flights periods in the different Thomson oranges orchards. At the end of the infestation, the nymphosis takes place in the fallen and rolled orange leaves. Damages caused by this pest can reach 19% of the total production. It was also clear that the presence of the date moth is not associated with the mealybug in the Thomson oranges plots.

Spinosad applied at the dose of 60 cc / hl in a foliar spray, as well as the density of 10 traps per hectare, showed their efficiencies in decreasing the infestation level. While the bay laurel essential oil has a strong repelling effect against this pest.

The dose of 3000 *Trichogramma cacoeciae* parasitoids/ Thomson orange tree / release, allowed a little decrease in the infestation level, hence, the need to try other doses to control the date moth. However, the toxicity of some insecticides, the mostly used in citrus orchards in Tunisia, on this parasitoid has been demonstrated and which varied according to its stage of development.

All these results could therefore be valued in an integrated program against date moth in the Thomson oranges orchards.

Key words: date moth, genetic variability, mass trapping, spinosad, Thomson oranges, *Trichogramma cacoeciae*.

ملخّص

تتعرّضغراسات القوارص إلى خطر الإصابة بكثير من الآفات الزراعيّة ذات الأهميّة الاقتصادية المتفاوتة.

منذ سنة 2008، تمّ الإبلاغ عن الأضرار الناجمة عن عثّة التمر *Ectomyelois ceratoniae* في بساتين القوارص على نوع برتقال الطمسون.

أظهرت نتائج دراستنا، أنّ هذه الآفة موجودة بنسبة هامة في منطقة "مرناق" التي تأوي أيضا مجموعات متوسطة من حشرة "بقّ الحمضيّات الدقيقي" في حين أنّ حشرة "التريبس" قليلة التواجد بهذه المنطقة.

بالإضافة إلى ذلك، تمّ اعتماد تقنيتين من البيولوجيا الجزئية "جين COI" وRAPD–PCR"" لدراسة التنوع الجيني لعثّة التمر حسب الشجرة العائلة: نخيل التمر، الرّمان وبرتقال الطمسون وقد أثبت التنوع الجيني الهام لهذه الآفة دون الإخلاص للشجرة العائلة.

من ناحية أخرى، من خلال دراسة الإيكولوجيا الحيوية لهذه الفراشة، تمتدّ فترة طيران الطور البالغ *E.ceratoniae* بشكل عام منذ بداية شهر أفريل حتى نهاية شهر نوفمبر – بداية شهر ديسمبر على3– 5 أجيال متعاقبة في بساتين قوارص "الطمسون". وفي نهاية مرحلة الإصابة تتم فترة الاحتفاظ في أوراق البرتقال المتساقطة والملفوفة.

كما تصل الأضرار الناجمة عن هذه الآفة إلى 19% من إجمالي الإنتاج كما تبيّن، أن وجود عثّة التمر غير مرتبط بوجود البقّ الدقيقي في بساتين قوارص "الطمسون".

وقد أظهرت عملية الرش الورقي لمادة "السبينوزاد" بجرعة 60 مل/هل"، وكذلك كثافة 10 مصائد للهكتار الواحد فاعليتها في خفض مستوى الإصابة. في حين أنّ الزيت العطري لورق الرند/الغار، له مفعول طارد هام لهذه الآفة.

كما تمكنت جرعة 3000 *Trichogrammacacoeciae*/شجرة برتقال الطمسون/الإطلاق، من خفض بسيط لمستوى الإصابة لذا وجب تجربة جرعات أخرى من هذا الطفيلي للسيطرة على عثّة التمر. كما أثبتت بعض المبيدات الحشرية الأكثر استعمالا في غراسات القوارص بتونس، سميتها على هذا الطفيلي والتي تختلف حسب مراحل نموه.

وبالتالي، يمكن تفعيل كل هذه النتائج في برنامج مكافحة مندمجة ضد عثّة التمر في بساتين برتقال "الطمسون".

الكلمات المفاتيح:برتقال الطمسون، تنوع جيني،"سبينوزاد"، عثّة التمر، مكثفةمصائد،، *Trichogrammacacoeciae*.

SOMMAIRE

Dédicaces
Remerciements
Résumé
Abstract
ملخّص
Sommaire
Liste des abréviations
Liste des figures
Liste des planches
Liste des tableaux
Introduction générale ……..... **1**
Chapitre I : Synthèse Bibliographique …… **6**
A. Présentation générale de la culture des agrumes ……... 6
I. Origine ……..……. 6
II. La culture des agrumes en Tunisie ……. 6
II.1. Importance du secteur agrumicole …….. 6
II.2.Contraintes du secteur agrumicole …… 8
II.2.1.Les maladies des agrumes …… 8
II.2.2.Les principaux ravageurs des agrumes …….. 8
II.2.3.Les ravageurs d'agrumes élaborés dans cette étude ……... 10
II.2.3.1.La cochenille farineuse *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera : Pseudococcidae) ……. 10
II.2.3.2.Les thrips spp. (Thysanoptera : Thripidae) ……. 11
B. La pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1881(Lepidoptera : Pyralidae) …… 12
I. Taxonomie et Systématique d'*Ectomyelois ceratoniae*…… 12
II. Caractéristiques morphologiques et cycle de vie d'*Ectomyelois ceratoniae* ……..... 12
II.1.Description morphologique d'*Ectomyelois ceratoniae*…….. 12
II.1.1.L'adulte …… 12
II.1.2.L'œuf …… 13
II.1.3.La chenille ……..…….. 14
II.2 Cycle biologique …….. 14
II.3. Nombre de générations ……..……... 17
III. Distribution géographique ……..... 17
IV. Plantes hôtes …….. 17

IV.1. Plantes hôtes à intérêt agronomique …….. 19
IV.2. Plantes hôtes ornementales ……. 21
V. Symptômes d'attaque et dégâts d'*E. ceratoniae* ……. 21
V.1. Sur palmier dattier …… 21
V.2. Sur grenadier ……..... 22
V.3. Sur les Citrus ……..…….. 22
V.4. Sur amandier ……..……..……. 23
VI. Moyens de lutte utilisés contre la pyrale des dattes ……... 24
VI.1. Sous conditions contrôlées ……. 24
VI.1.1.Lutte physique …….……. 24
VI.1.2.Lutte par les huiles essentielles …….…….... 25
VI.2. Sous conditions de vergers ……. 26
VI.2.1.Lutte culturale ……... 26
VI.2.2. Lutte mécanique …….. 27
VI.2.3.Lutte physique…….…….. 27
VI.2.4.Lutte chimique …….. 29
VI.2.5.Lutte par les huiles essentielles ……..... 29
VI.2.6.Lutte par le contrôle de la reproduction …… 30
a)Piégeage de masse et confusion sexuelle……... 30
b)Technique de l'Insecte Stérile (TIS)…… 31
c)Perturbation de l'accouplement par la technique de SPLAT ….... 32
VI.2.7. Lutte biologique ……... 33
a)Par un bio-insecticide à base de Bacillus thuringiensis…… 33
b) Par les insectes entomophages…… 34
- *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera:Braconidae)…….. 34
- *Phanerotoma flavitestacea* Fisher *et Phanerotoma ocuralis* Khol (Hymenoptera: Braconidae) ……..….. 35
- *Les Trichogrammes*……..… 35

C. Techniques de biologie moléculaire…….…….. 38
I.Le Barcode : Gène COI ……..... 38
I.1. Intérêt taxonomique du gène COI …… 38
I.2. Utilisation chez les lépidoptères ……..…….. 39
II.La RAPD- PCR ……..... 40
II.1. Principe de la technique …….. 40
II.2. Utilisation de la technique …….…….……. 41

Chapitre II : Importance de quelques ravageurs sur les oranges Thomson : *Ectomyelois ceratoniae, Planococcus citri*et *Thrips* spp. …… **43**
Introduction ……. 43
I.Matériel et Méthodes ……. 44
I.1. Biotopes d'études et ravageurs cibles …… 44
I.2. Suivi des populations imaginales des différents ravageurs ….. 51
I.2.1. Piège Delta à Phéromone sexuelle ……..... 51
I.2.2. Plaques chromo-attractives ……. 52
I.3. Biodiversité au niveau des vergers d'agrumes …….……. 52
Richesse spécifique …….……. 53
Indice de Shannon ou Shannon-Weaver …….……. 53
Indice d'équitabilité ……...……. 53
Dominance ……... 54
I.4.Analyses des données ……..…….. 54
I.5. Données climatiques ……. 54
II.Résultats et Discussion ……. 55
II.1.Niveau de présence de chaque ravageur en fonction desbiotopes d'études 55
……....
II.1.1. La pyrale des dattes ……...…… 55
II.1.2. La cochenille farineuse …… 57
Relation entre la présence d'E. ceratoniae et de Pl. citri au niveau des vergers des oranges Thomson ……..……..…… 58
II.1.3. Les Thrips spp ……...…… 61
II.2. Diversité des ravageurs selon les biotopes d'études …… 62
II.2.1. Diversité des ravageurs au niveau de chaque biotope d'étude 62
II.2.1.1. Diversité des ravageurs au niveau du biotope du Cap Bon . 62
II.2.1.2. Diversité des ravageurs au niveau du biotope de Morneg .. 63
II.2.1.3. Diversité des ravageurs au niveau du biotope d'El Alia …. 64
II.2.1.4. Diversité des ravageurs au niveau du biotope de Boussalem …… 65
II.2.2. Diversité des ravageurs entre les biotopes d'études …….…. 65
Conclusion…….…… 66
Chapitre III : Etude de la spécificité génétique de la pyrale des dattes vis-à-vis trois plantes hôtes : palmier dattier, grenadier et oranges Thomson …….. **68**
Introduction …….…….. 68

Partie A : La phylogénie du gène cytochrome mitochondriale oxydase (COI)……..... 68
I. Matériel et Méthodes …… 68
I.1. Plantes hôtes et leurs localisations ……..…….…… 68
I.2. Echantillonnage des larves et des adultes ……. 69
I.3. Analyse Moléculaire par la phylogénie du gène « COI » ……. 69
I.4. Extraction de l'ADN et séquençage ……..… 70
I.5. Elaboration des arbres phylogénétiques …… 75
I.6. Variabilité phénotypique des stades larves et adultes ……... 75
II. Résultats et Discussion …… 75
II.1. La phylogénie du gène COI des spécimensd'*E. ceratoniae* infestant 3 plantes hôtes ……..…… 75
II.2. Spécificité génétique de la couleur des adultes d'*E.ceratoniae* émergeants des dattes infestées ……...…… 78
II.3. Approche phénotypique …….……..… 79
II.3.1. Taille des larves ……. 79
II.3.2. Couleur des adultes : morphe sombre et morphe claire …… 80
Partie B : Caractérisation d'*E. ceratoniae* par RAPD-PCR … 81
I. Matériel et Méthodes …….…… 81
I.1. Echantillonnage des larves ……..…… 81
I.2. Extraction de l'ADN …….…… 82
I.3. L'amplification RAPD-PCR …… 82
I.4. Analyses statistiques ……..…… 83
II. Résultats …….…… 83
II.1. Paramètres d'analyse de diversité génétique par RAPD-PCR.. 83
II.2. Dendrogramme et ACP ……. 86
III.Discussion ……. 89
Conclusion ……..….. 91
Chapitre IV: Bio-écologie de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson …….. **93**
Introduction …… 93
I. Matériel et Méthodes …….…… 93
I.1. Suivi de la fluctuation de la population imaginaled'*E. ceratoniae* ……. 93
I.1.1. Au niveau des 4 biotopes d'études en 2013 ……..…. 94
I.1.2. Au niveau des 3 parcelles d'études de Morneg en 2014 …… 94
I.2. Estimation du taux d'infestation d'*E. ceratoniae* ……. 94
I.3. Détermination du site de nymphose d'*E. ceratoniae* ……..... 95
I.3.1.Détermination du site de nymphose au niveau du terrain ….. 95

I.3.2. Détermination du site de nymphose au laboratoire …… 96
I.3.2.1. Elevage de la pyrale des dattes au laboratoire ……..… 96
a) Préparation du milieu d'élevage …….. 96
b) Matériel biologique …… 97
I.3.2.2. Protocole expérimental de la détermination du site de nymphose au laboratoire……. 98
I.4. Les entrepôts de stockage peuvent ils être responsables de la propagation de la pyrale des dattes au niveau des vergers agrumicoles ?..... 99
I.5. Données climatiques de Morneg en 2014 …… 100
II. Résultats et Discussion ……. 101
II.1. Fluctuation de la population imaginale d'*E. ceratoniae* ……... 101
II.1.1.Au niveau des 4 biotopes d'études en 2013 …… 101
II.1.2. Au niveau des 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014… 104
II.2. Pourcentage d'infestation d'*E. ceratoniae* au niveau des vergers d'oranges Thomson……. 108
II.2.1.Au niveau des 4 biotopes d'études en 2013 ……..... 108
II.2.2.Au niveau des 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014 …. 109
II.3. Structure de la population d'*E. ceratoniae* …….. 111
II.3.1. An niveau des 4 biotopes d'études en 2013 ……... 111
II.3.2. Au niveau des 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014…. 112
II.4. Détermination du site de nymphose d'*E. ceratoniae* …… 114
II.5. Les entrepôts de stockage peuvent ils être responsables de la propagation de la pyrale des dattes au niveau des vergers agrumicoles ?…….. 115
Conclusion……..… 117
Chapitre V : **Essais de différents bio-insecticides, de molécules chimiques et du piégeage de masse dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae*** ……..…….. **119**
Introduction …… 119
Partie A : Etude de l'effet répulsif de l'huile essentielle du laurier noble *Laurus nobilis* sur la pyrale des dattes *Ectomyeloisceratoniae* sous conditions contrôlées……. 120
Introduction ……..……..… 120
I. Matériel et Méthodes ……..……. 121
I.1. Matériel biologique utilisé ……..... 121
I.2. Extraction de l'huile essentielle du laurier noble au niveau du laboratoire …… 121

I.3.Protocole expérimental ……..…….. 122

I.4. Pourcentage de répulsion (PR) et détermination de la concentration répulsive médiane (CR_{50}) de l'huile essentielle du laurier noble ……. 123
I.5. Analyses statistiques …….. 124
II. Résultats et Discussion ……..…….…… 124
Conclusion ……..…… 126
Partie B :Efficacité des insecticides chimiques et biologiques dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae* sous conditions contrôlées et en verger d'oranges Thomson……..…….. 127
Introduction……..…….. 127
I. Matériel et Méthodes…….…… 127
I.1. Substances actives testées …….. 127
I.2. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au laboratoire …… 128
I.3. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au verger d'oranges Thomson de Morneg…….…. 128
I.4. Données climatiques …… 129
I.5.Analyses Statistiques.…….…… 130
II. Résultats …….. 130
II.1. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au laboratoire …….. 130
II.1.1. Détermination de la dose optimale pour chaque traitement testé ……..…… 130
II.1.1.1. Spinosade ……...…… 130
II.1.1.2. Azadirachtine …….…… 131
II.1.1.3. Abamectine …… 131
II.1.1.4. Emamectine-benzoate …… 131
II.1.2. Comparaison de l'effet des doses optimalesdéterminées des quatre substances actives testées sur les stades larvaires L1 et L5 d*'Ectomyelois ceratoniae* ……. 133
II.2. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au verger des oranges Thomson ……. 134
III.Discussion ……...…… 136
Conclusion ……..…….…… 138
Partie C : Efficacité du piégeage de masse et des insecticidesdans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae* au verger des oranges Thomson 139
…….……..
Introduction ……..……..…… 139

I.Matériel et Méthodes ……. 139
I.1. Site expérimental …….. 139
I.2. Protocole expérimental ……. 139
I.2.1. Effet combiné du piégeage de masse et des insecticidesdans la lutte contre la pyrale des dattes ……..…….……. 139
I.2.2. Comparaison de différentes densités de piégeage de masse 141
I.3. Evaluation de l'efficacité des différents traitements sur la pyrale des dattes ……... 141
I.4. Données climatiques ……..…… 142
I.5. Analyses statistiques ……..…… 142
II.Résultats et Discussion ……...…….. 143
II.1. Effet combiné du piégeage de masse et des insecticidesdans la lutte contre la pyrale des dattes …… 143
II.2. Effet de la densité du piégeage de masse dans la luttecontre la pyrale des dattes ……... 146
Conclusion ……..….... 147
Chapitre VI : *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) : lâchers innondatifs pour le contrôle Biologique d'*E. ceratoniae* et effets non intentionnels dessubstances les plus utilisées en vergers d'agrumes sur ce parasitoïde ……. **148**
Introduction ……...…… 148
Partie A : Lutte biologique contre *E. ceratoniae* par des lâchers de l'oo-parasitoïde *Trichogramma cacoeciae* Marchal dans un verger d'oranges Thomson …….……...…..…… 149
I.Matériel et Méthodes …….…….. 149
I.1. Site expérimental …….. 149
I.2. Élevage de *Trichogramma cacoeciae* …… 149
I.3. Lâchers de *Trichogramma cacoeciae* sur le terrain …..…….. 149
I.4. Taux d'émergence de *Trichogramma cacoeciae*…….. 151
I.5. Estimation du taux de parasitisme de Trichogramma sur le terrain …….. 151
I.6.Efficacité de *T. cacoeciae* pour lutter contre *E. ceratoniae* dans le verger d'oranges Thomson ……..……. 152
I.7. Données climatiques …….…… 152
I.8. Analyses statistiques ……...……. 153
II.Résultats et Discussion ……. 153
II.1. Taux d'émergence de *Trichogramma cacoeciae* ……..... 153
II.2. Estimation du taux de parasitisme ……..... 155

II.3.Évaluation de l'efficacité des 3 lâchers *T. cacoeciae* contre *E. ceratoniae* en verger d'oranges Thomson…..…….. 157
Conclusion ……..……. 160
Partie B : Effets non intentionnels des produits les plusutilisés au niveau des vergers d'agrumes sur les stades immatures de l'oo-parasitoïde *Trichogramma cacoeciae* Marchal sous conditions contrôlées ……..… 160
Introduction ……. 160
I.Matériel et Méthodes ……..… 161
I.1. Elevage du parasitoïde oophage ……..…. 161
I.2. Traitements testés ……..…… 161
I.3. Protocole expérimental ……..…….. 161
I.4. Détermination des effets du traitement ……..… 162
I.5. Analyses statistiques …….. 162
II.Résultats et Discussion ……..… 162
Conclusion …..…… 165

Conclusion générale……..……. **166**

Références bibliographiques…….. **168**

LISTE DES ABREVIATIONS

- ANOVA : analyse de la variance
- AMOVA : analyse de la variance moléculaire
- °C : degré Celsius
- Cc/hl : centimètre cube / hectolitre
- Cm : Centimètre
- COI : Cytochrome Oxydase I
- Gy : Gray (mesure pour l'irradiation)
- HL : Hectolitre
- HR : Humidité relative
- L, O : Lumière, Obscurité (Photopériode)
- M : mètre
- Mm : Millimètre
- RAPD- PCR :RAPD : Random Amplified Polymorphic DNA **;** PCR: Polymerase chain reaction amplification aléatoire de l'ADN polymorphe par l'amplification en chaine par polymérase.
- P : Pluviométrie
- T : Température
- UPGMA :Unweighted pair group method with arithmetic mean
- UV : Ultraviolet
- V : Volt

LISTE DES FIGURES

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Figure 1 :Morphe claire (a) et morphe sombre (b) de l'adulte de la pyrale des dattes ……. 13
Figure 2 : Répartition géographique d*'Ectomyelois ceratoniae* .. 18
Figure 3 : (a) Outil de nettoyage et (b) son mode d'utilisation sur palmier dattier …….…….. 27
Figure 4 : a) Ensachage des régimes de dattes par des sacs plastiqueset b) Ensachage des grenades par des sacs avec des mailles de 20 x 20 …….. 28
Figure 5 : Méthode d'utilisation de l'huile essentielle de *Ferulaassafoetida* au niveau du verger de grenadier …… 30
Figure 6 : Adulte d'*H .hebetor* parasitant une chenille de la pyrale ……. 35
Figure 7 : Cycle de vie du Trichogramme …… 36
Figure 8 : Une femelle de *Trichogramma cacoeciae* entrain de parasiter un œuf d'*Ectomyelois ceratoniae*……... 37
Figure 9 :Principe de la RAPD- PCR …..…….... 41

Chapitre II : Importance de quelques ravageurs sur les oranges Thomson : *Ectomyelois ceratoniae, Planococcus citri* et *Thrips* spp.

Figure 10 : Piège Delta à phéromone sexuelle: **(a)** Piège Deltapour le suivi d'*E. ceratoniae,* **(b)** Plaque engluée contenant lesadultes mâles de *Pl. citri* ……. 51
Figure 11 : Plaque engluée de couleur bleue pour la capture des Thrips ……..…….. 52
Figure 12 : Variation de la moyenne de pyrales adultes mâlescapturées en fonction du biotope entre le mois d'avril et le mois de décembre 2013 au niveau des vergers d'oranges Thomson….. 56
Figure 13 : Variation de la moyenne des adultes mâles de la cochenille farineuse capturés en fonction du biotopeentre le mois de juin et le mois d'octobre 2013 au niveau des vergers d'oranges Thomson ……... 57
Figure 14 : Variation de la moyenne des Thrips capturés en fonction du biotope entre le 20 mai et le 06 septembre2013 au niveau des vergers d'oranges Thomson ……..……. 61

Chapitre III : Etude de la spécificité génétique de la pyrale des dattes vis-à-vis trois plantes hôtes : palmier dattier, grenadier et oranges Thomson

Figure 15 :Arbre phylogénétique "Maximum Likelihood (ML)" incluant 14 spécimens d'***E. ceratoniae*** provenant de 3 plantes hôtes de Tunisie(de notre étude) en comparaison avec 10 spécimens d'*E. ceratoniae* du monde entier(études antérieures).. 76

Figure 16 :Arbre phylogénétique "Maximum Likelihood (ML)" incluant 6 adultes d'***E. ceratoniae*** émergeants des dattes infestées …….. 79

Figure 17 : Variation du nombre des morphes sombres et claires des adultes *d'E. ceratoniae* émergeants des trois fruits hôtes…. 80

Figure 18 : Profils RAPD généré par les trois amorces …….. 84

Figure 19:Dendrogramme de 30 spécimens d'*E. ceratoniae*appartenant à trois plantes hôtes généré par UPGMA analyse des similarités des profils RAPD…….. 87

Figure 20: Analyse bidimensionnelle des axes principaux (ACP) des 30 larves d'*E. ceratoniae* appartenant aux trois plantes hôtes en utilisant les trois marqueurs RAPD ……. 88

Chapitre IV: Bio-écologie de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson

Figure 21: Tamisage de la couche superficielle du sol 95

Figure 22 : Piège à eau installé sous la frondaison du pied…….. 95

Figure 23 : Bande piège au niveau du tronc et des branches …… 96

Figure 24 : a). Adultes d'*E. ceratoniae* se préparant à l'accouplement puis b) Dépôt du papier filtre contenant les œufs fertiles sur le milieu d'élevage …….. 98

Figure 25 : Cage en bois pour suivre le comportement denymphose de la pyrale des dattes…… 99

Figure 26 : Suivi d'*E. ceratoniae* autour de l'entrepôt de stockage …… 100

Figure 27 :Moyennes mensuelles de Température, de Pluviométrie et d'Humidité relative enregistrées pour le biotope de Morneg en 2014 …… 100

Figure 28 :Fluctuation de la population imaginale de la pyrale des dattes en fonction du biotope d'étude entre le mois d'avril et le mois de décembre 2013 au niveau des vergers d'oranges….. 102

Figure 29 :Comparaison de la fluctuation de la population imaginale de la pyrale des dattes entre les 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014 ……... 105
Figure 30 : Variation des pourcentages d'infestation par la pyrale des dattes au niveau des différentes parcelles d'oranges Thomson entre fin juillet et mi décembre 2013 ……. 108
Figure 31 :Relation entre le % d'infestation d'*E. ceratoniae* et le nombre total d'adultes mâles capturés au niveau des parcelles d'orange Thomson durant la campagne 2013 ……. 109
Figure 32 : Variation du pourcentage d'infestation entre les 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014 …….. 110
Figure 33 :Choix du site de nymphose pour les larves L5 déposées …… 115
Figure 34 : Evolution du nombre des adultes d'*E. ceratoniae* capturés au niveau des pièges installés à différentes distances de la fosse de déchets en fonction de la nature des fruits à l'entrepôt 116

Chapitre V : **Essais de différents bio-insecticides, de molécules chimiques et du piégeage de masse dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae***

Figure 35 : Etapes de l'extraction de l'huile essentielle du laurier noble au niveau du laboratoire ……. 122
Figure 36 : Comparaison de la mortalité des stades larvaires L1 (a) et L5 (b) sous l'effet des concentrations optimales déterminées des substances actives appliquées sous les conditions contrôlées du laboratoire à T°= 28 ± 1 °C, 16:8 (L: O) et 65 ± 5% (HR) …… 134
Figure 37 : Variation du niveau d'infestation de la pyrale des dattes en fonction de la densité du piégeage de masse au niveau du verger d'oranges Thomson de Takelsa en 2015 …….. 146

Chapitre VI : *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) : lâchers innondatifs pour le contrôle biologique d'*E. ceratoniae* et effets non intentionnels des substances les plus utilisées en vergers d'agrumes sur ce parasitoïde

Figure 38: Emplacement de la plaquette du trichogramme dans la moustiquaire …….. 150
Figure 39 : Variabilité du taux d'infestation entre le bloc témoin et les blocs traités après les 3 lâchers de *T. cacoeciae* au niveau

du verger agrumicole de Morneg en 2015 …… 158

LISTE DES PLANCHES

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Planche I :Dégâts internes d'*E. ceratoniae* sur les fruits de datte (a), grenade (b), orange Thomson Navel (c) et amande (d)…….. 23

Chapitre II : Importance de quelques ravageurs sur les oranges Thomson : *Ectomyelois ceratoniae, Planococcus citri* et *Thrips* spp.

Planche II : Températures moyennes mensuelles et Pluviométries moyennes mensuelles enregistrées pour les 4 biotopes d'études durant l'année 2013…….. 55

Planche III : Comparaisons entre les fluctuations des populations imaginales d'*E. ceratoniae* et de *Pl. citri* au niveau des vergers d'oranges Thomson répartis sur 4 biotopes d'études durant la période de 11 juin au 29 octobre 2013…….. 58 59

Chapitre IV: Bio-écologie de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson

Planche IV : Fluctuation de la population imaginale de la pyrale des dattes au niveau de toutes les parcelles d'orangesThomson des 4 biotopes d'études entre le mois d'avril et le mois de décembre 2013 ……..…. 104

Planche V :Structure de la population pré-imaginale de la pyrale des dattes au niveau des oranges Thomson chutésrécupérés des 4 biotopes d'études en 2013 …… 112

Planche VI : Structure de la population pré-imaginale d*'E. ceratoniae* au niveau des oranges Thomson chutésrécupérés des 3 parcelles d'études du biotope de Morneg en 2014 …… 113

Chapitre V : **Essais de différents bio-insecticides, de molécules chimiques et du piégeage de masse dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae***

Planche VII : Evolution de la mortalité corrigée chez les stades larvaires L1 et L5 sous l'effet des deux concentrations de chaque produit testé, appliquées sous les conditions contrôlées du laboratoire à T°= 28 ± 1 °C, 16:8 (L: O) et 65 ± 5% (HR). 132

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

Tableau 1 : Présence de la cératite sur ses fruits hôtes en fonction des mois (CTA, 2014)..... 9

Tableau 2 :Plantes hôtes à intérêt agronomique et pays de localisation de la pyrale des dattes …….. 19

Chapitre II : Importance de quelques ravageurs sur les oranges Thomson : *Ectomyelois ceratoniae, Planococcus citri* et *Thrips* spp.

Tableau 3.a : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope du Cap bon ……. 44

Tableau 3.b : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope du Morneg ……. 47

Tableau 3.c : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope d'El Alia ……. 49

Tableau 3.d : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope de Boussalem ……. 50

Tableau 4 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude au Cap Bon entre le 11 juin et le 02 septembre 2013 ……. 63

Tableau 5 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude à Morneg entre le 11 juin et le 06 septembre 2013 …….. 64

Tableau 6 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude à El Alia entre le 11 juin et le 06 septembre 2013 …….. 64

Tableau 7 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude à Boussalem entre le 11 juin et le 02 septembre 2013 …….. 65

Tableau 8 : Indices de diversité des 3 ravageurs entre les différents biotopes d'études entre le 11 juin et le 02 septembre 2013 …… 66

Chapitre III : Etude de la spécificité génétique de la pyrale des dattes vis-à-vis trois plantes hôtes : palmier dattier, grenadieret oranges Thomson.

Tableau 9 : Caractérestiques climatiques et la localisation géographique des sites d'échantillonnages avec T et P moyennes

annuelles de température et de pluviométrie respectivement … 69
Tableau 10 : Programme d'amplification utilisé pour l'amplification du gène COI …….. 71
Tableau 11.a :Caractéristiques des spécimens utilisés (notre étude) ……. 72
Tableau 11.b : Séquences de spécimens utilisées à partir de la banquedes gênes ……... 74
Tableau 12: La moyenne de la taille des larves émergées suivant les fruitshôtes …… 79
Tableau 13 :Programme d'amplification de la RAPD-PCR ….. 82
Tableau 14: Les différents paramètres de diversité calculés sur la base des résultats de la RAPD-PCR des individus d*'E. ceratoniae* infestant les trois plantes hôtes …… 85
Tableau 15: La distance génétique (Nei's genetic identity) ……. 85
Chapitre IV: Bio-écologie de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson
Tableau 16 : Caractéristiques des parcelles d'études du biotope de Morneg en 2014 ……. 94
Tableau 17: Composition du milieu d'élevage de la pyrale des dattes : pourcentage des ingrédients pour1000 g du milieu…. 97
Chapitre V : **Essais de différents bio-insecticides, de molécules chimiques et du piégeage de masse dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae***
Tableau 18 : Interprétation du pourcentage de répulsion ……. 123
Tableau 19 :Pourcentages de répulsions (moyenne ±ES) de l'huileessentielle du laurier noble sur les larves L5 d'*E. ceratoniae* en fonctionde la durée d'exposition et de la concentration de l'huile essentielle su papier filtre …….. 125
Tableau 20 : Valeur de (CR_{50}) de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* contre le dernier stade larvaire (L5) d'*E. ceratoniae* après 24 heuresd'exposition …….. 126
Tableau 21 :Substances actives, doses homologuées sur les ravageurs cibles et doses testées sur la pyrale des dattes aux niveaux du laboratoireet du verger d'oranges Thomson …….. 127
Tableau 22 :Données climatiques de la région de Morneg en 2014 ……. 129
Tableau 23 : Efficacité des produits testés (pourcentage de mortalité corrigée) sur le contrôle d'*Ectomyelois ceratoniae* après 3, 7, 14 et 21 jours de leurs applications par pulvérisation

foliaire au niveau duverger agrumicole de Morneg …….. 136
Tableau 24 : Substances actives testées et mode d'application 140
Tableau 25 :Températures mensuelles moyennes à Takelsa pour 2014 et 2015 …….. 142
Tableau 26 : Efficacité de l'effet combiné du piégeage de masse et des insecticides biologiques et chimiques testés et du piégeage de masse appliqué seul, exprimée en pourcentage de mortalité corrigée sur le contrôle d*'E. ceratoniae* dans le verger des oranges Thomson de Takelsa en 2014 …… 144
Chapitre VI : *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) : lâchers innondatifs pour le contrôlebiologique d'*E. ceratoniae* et effets non intentionnels des substances les plus utilisées en vergers d'agrumes sur ce parasitoïde
Tableau 27 : Données climatiques de Morneg en 2015 …….. 152
Tableau 28: Moyenne (± ES) du nombre des adultes de *T. cacoeciae* émergeant des œufs parasités d'*E. kuehniella* et le taux d'émergence correspondant (%) sous les conditions du 153
laboratoire et du verger 10 jours après le lâcher …….. 154
Tableau 29:Taux moyen de parasitisme de *T. cacoeciae* sur les œufs d'*E. kuehniella*…….. 156
Tableau 30: Variation du taux d'émergence (±ES) [(1)] , Réduction de l'émergence (%)[(2)], Classe de toxicité[(3)] des stades de développement de *Trichogramma cacoeciae* traités par les différentes dosesd'insecticides sous les conditions contrôlées de (T :25 ± 1 °C; HR :60 ± 10%; L/O: 16/8) …….. 164

Introduction générale

L'agrumiculture en Tunisie est un secteur clef qui joue un rôle important sur les plans économique et social. L'importance de ce secteur s'exprime par sa deuxième place au niveau de la production en fruits et son troisième rang au niveau de l'exportation des produits agricoles, principalement la variété Maltaise, après l'huile d'olive et les dattes (ONAGRI, 2014).

Bien qu'elle soit considérée comme une culture stratégique, la production des agrumes en Tunisie connait des alternances importantes d'une année à l'autre suite à certaines contraintes notamment sur le plan phytosanitaire. En effet, les agrumes constituent l'hôte privilégié de plusieurs ravageurs et maladies qui causent des dégâts multiformes allant des dépréciations quantitative et qualitative de la production jusqu'au dépérissement de l'arbre. Selon Lebdi-Grissa (2010), parmi les ravageurs inféodés aux agrumes qui peuvent engendrer des dégâts, on trouve la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (Wiedemann), qui est considérée comme le ravageur le plus redoutable dont les dégâts peuvent anéantir toute la récolte en cas de forte infestation.

Les pucerons des agrumes (*Aphis* sp.,*Toxoptera aurantii*, *Myzus persicae*) dont le danger est du principalement à leurs dégâts indirects de transmission de virus.

Les cochenilles (*Planococcus citri* (Risso) et *Parlatoria ziziphi* (Lucas) …..) qui sont des insectes piqueurs suceurs et peuvent coloniser et exploiter toutes les parties de leurs plantes hôtes.

Les aleurodes (*Aleurothrixus floccosus* (Maskell), *Parabemisia myricae* (Kuwana), dont les piqures de nutrition induisent la production de la fumagine et ils peuvent aussi transmettre des virus.

La mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* (Stainton) qui s'attaque principalement aux jeunes feuilles entrainant leurs chutes. Depuis l'arrivée de ce dernier nuisible dans les vergers agrumicoles tunisiens en 1994, l'utilisation non raisonnée des traitements phytosanitaires a commencé à prendre de l'ampleur. Depuis les problèmes dus aux acariens phytophages ont commencé à surgir.

Au cours de la campagne agricole 2007-2008, de nouvelles attaques sur les orangesThomson ont été décelées dans les vergers agrumicoles tunisiens. L'agent causal de ces dégâts était *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1881 (Lepidoptera : Pyralidae) (CTA, 2008).

Communément connue sous le nom de la pyrale des dattes ou la pyrale des caroubes, ce lépidoptère particulièrement vorace et polyphage est l'un des ravageurs les plus nuisibles sur plusieurs cultures et denrées stockées (Gothilf, 1969.a). La polyphagie de ce ravageur a favorisé d'avantage son extension géographique en lui donnant l'aspect de cosmopolitisme (Doumandji, 1981).

En Tunisie, le danger de cet insecte s'amplifie par son large spectre d'attaque vis-à-vis de plusieurs cultures fruitières comme le palmier dattier, le pistachier et le grenadier qui étaient signalées dans tout le territoire du pays dont les dégâts peuvent respectivement atteindre 20, 68 et 90% (Dhouibi, 1982,1989 ; Abderrahmane *etal.,* 2002 ; Ksentini *et al.,* 2010).

Sur agrumes, elle s'attaque principalement au groupe des navels, d'où le nom attribué de ver de l'ombilic. Cet insecte provoque une réaction physiologique et donne l'impression d'une fausse maturité qui se traduit à la fin de l'infestation par la pourriture et la chute des fruits (Gumpf *et al.,* 1996 ; Alford, 2007).

Au niveau des palmeraies et des grenaderaies, plusieurs efforts ont été déployés afin d'étudier les caractéristiques biologiques et écologiques d'*E. ceratoniae* en vue d'établir une stratégie de lutte contre ce ravageur (Dhouibi, 1982 ; Khoualdia *et al.,* 1996 a,b ; Lebdi-Grissa et Ben Ayed, 2005 ; Mediouni, 2005 ; Zouba, 2016).

Mais vue le développement endophyte de ce pyralide, la lutte chimique s'est avérée peu fiable d'où le recours à d'autres méthodes alternatives permettant à la fois de limiter l'infestation par cet insecte et de préserver la santé humaine, l'environnement et la faune utile.

Au niveau des agrumeraies, les données sur sa biologie et les moyens de son contrôle sont très limitées.

Dans ce contexte, compte tenu de l'existence de peu de recherches qui ont été effectuées sur la pyrale des dattes au niveau des vergers agrumicoles en Tunisie, ce travail de thèse vise à éclaircir certains aspects du nuisible sur les oranges Thomson et a pour objectif de procéder à:

- Déterminer les zones de productions agrumicoles les plus touchées par la présence de la pyrale des dattes ainsi que deux autres ravageurs des agrumes, à savoir, la cochenille farineuse et les thrips.
- Etudier la spécificité génétique de la pyrale des dattes en comparant des spécimens provenant des 3 plantes hôtes les plus attaquées par ce ravageur en Tunisie à savoir le palmier dattier, le grenadier et les oranges Thomson.
- Etudier le cycle biologique de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson.
- Etudier l'efficacité de plusieurs substances chimiques et biologiques sur la réduction de l'infestation de ce pyralide.
- Evaluer l'efficacité des lâchers du parasitoïde *Trichogramma cacoeciae* sur la réduction de l'infestation de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson.
- Evaluer la toxicité des insecticides sur la survie du parasitoïde *Trichogramma cacoeciae.*

Ce travail comporte six chapitres :

- Le premier chapitre se résume à une synthèse de littérature sur les agrumes, leurs principaux ravageurs spécialement la pyrale des dattes.
- Le deuxième chapitre : Importance de quelques ravageurs sur les oranges Thomson : *Ectomyelois ceratoniae*, *Planococcus citri* et *Thrips*spp., vise à déterminer les zones de productions agrumicoles les plus touchées par la présence de ces ravageurs dans 4 biotopes d'études : Morneg, le Cap bon , El Alia et Boussalem.

- Le troisième chapitre: Etude de la spécificité génétique de la pyrale des dattes vis-à-visde trois plantes hôtes : palmier dattier, grenadier et oranges Thomson : est consacré à étudier la spécificité génétique de ce ravageur vis –à- vis ces trois plantes hôtes grâce à deux techniques de la biologie moléculaire.

  La partie B de ce chapitre a fait l'objet d'un article intitulé : « Genetic diversity of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1881) (Lepidoptera: Pyralidae) collected from three different host-plants in Tunisia by using RAPD-PCR » accepté par le journal African Entomology et à paraitre dans le volume 27 (1) en Mars 2019.
- Le quatrième chapitre : Bio-écologie de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson, qui est dédié à déterminer le nombre de générations, le taux d'infestation et le site de nymphose d'*E. ceratoniae.*
- Le cinquième chapitre : Essais de différents bio-insecticides, de molécules chimiques et du piégeage de masse dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae*, se résume à l'évaluation de différentes molécules chimiques et biologiques sous les conditions contrôlées du laboratoire et au niveau des vergers d'oranges Thomson, ainsi que d'évaluer l'efficacité du piégeage de masse dans la lutte contre *E. ceratoniae*.

  La partie A de ce chapitre a fait l'objet d'une communication par affiche intitulée : « Etude de l'effet répulsif de l'huile essentielle du laurier noble *Laurus nobilis* contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* sous conditions contrôlées » au 1er Symposium Maghrébin sur la Protection Intégrée des Plantes SYMPIP 2017.

  La partie B de ce chapitre a fait l'objet d'un article intitulé : « Essais de lutte contre *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1881 (Lepidoptera : Pyralidae) sous conditions controlées et en vergers d'agrumes » publié par : Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 49(3) : 2961-2970 en 2018.

- Le sixième chapitre :*Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) : lâchers innondatifs pour le contrôle biologique d'*E. ceratoniae* et effets non intentionnels des substances les plus utilisées en vergers d'agrumes sur ce parasitoïde : est réservé à l'évaluation de l'efficacité des lâchers de *T. cacoeciae* dans le contrôle biologique d'*E. ceratoniae* ainsi qu'à déterminer l'effet secondaire des insecticides sur ce parasitoïde.

  La partie B de ce chapitre a fait l'objet d'un article intitulé : « Side effects of some insecticides used in citrus cultivation on the egg parasitoïd *Trichogramma cacoeciae* Marchal immature stages » publié par : Journal of Entomology and Zoology Studies, 5(6) : 2176-2178, en 2017.

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

A. Présentation générale de la culture des agrumes

I. Origine

Le mot 'agrume' provient du latin 'acrumen', désignant dans l'antiquité des arbres aux fruits acides. Les agrumes sont originaires des pays du sud-est asiatique notamment la péninsule Indo - Chinoise.

Les agrumes appartiennent à la classe des dicotylédones, l'ordre des géraniales, famille des Rutacées avec trois genres botaniques: *Citrus*, *Fortunella* et *Poncirus* (De Rocca Serra et Ollitrault, 1992).

Le genre *Citrus* comporte 145 espèces, c'est le genre le plus important puisqu'il renferme les principales espèces cultivées pour leurs fruits ou leurs huiles essentielles surtout : les orangers *Citrus sinensis,* les mandariniers *Citrus reticulata,* les clémentiniers *Citrus clementina,* les citronniers *Citrus limon,* les pomelos *Citrus paradisi* et les bigaradiers *Citrus aurantium* (De Rocca Serra et Ollitrault, 1992).

La culture des agrumes représente la première production fruitière mondiale, avec environ 120 millions de tonnes par an entre 2010 et 2014. Les principaux pays producteurs d'agrumes, sont la Chine, le Brésil, les pays du bassin méditerranéen et les États-Unis (plus particulièrement les Etats de Floride et de Californie). Ces pays comptent pour plus des deux tiers de la production totale d'agrumes (FAO Stat, 2015).

Le bassin méditerranéen, produit près du cinquième de la production mondiale, et le premier pays producteur est l'Espagne suivi de l'Egypte et de l'Italie.

II. La culture des agrumes en Tunisie

II.1. Importance du secteur agrumicole

Les agrumes étaient introduits en Tunisie par les pèlerins au 18ème siècle, mais la véritable production commerciale n'a commencé qu'au début du 20ème siècle (GIF, 2017).

Les agrumes sont bien adaptés aux régions côtières et semi-continentales du pays.

L'agrumiculture s'est développée principalement dans la péninsule du Cap Bon qui regroupe toutes les conditions favorables à son épanouissement notamment la disponibilité des ressources en eau, la qualité du sol et l'ensoleillement bénéfique. Le Cap Bon regroupe les principaux centres de production des agrumes en Tunisie : Nabeul, Menzel Bouzelfa, El Gobba, Niannou, Béni Khaled, Takelsa, Soliman et Hammamet. La péninsule du Cap Bon, représente 72,3 % de la surface agrumicole totale et 85% de la production totale du secteur (ONAGRI, 2014).

De nouvelles zones de production se sont développées dans les environs du Grand Tunis (Ben Arous, La Manouba et Morneg), Bizerte (Ras Djebel et El Alia), dans différents points le long de la côte (Sousse, Mahdia et Monastir), dans les plaines de Sidi Bouzid et Kairouan, dans quelques localités abritées de la région intermédiaire du Nord (Béja et Boussalem) (GIF, 2017).

En méditerranée, la Tunisie représente le 8ème pays producteur d'agrumes en 2014 (FAO Stat, 2015). De point de vue production arboricole nationale, le secteur agrumicole est l'un des secteurs-clefs de l'agriculture puisqu'il occupe la deuxième place en production fruitière avec 330 milles tonnes contre 1100 milles tonnes pour l'huile d'olive en 2013 (ONAGRI, 2014).

Sur le plan économico- social, environ 25 000 familles rurales tirent leur revenu principal des exploitations agrumicoles (Zekri et Laajimi, 2001).

Sur le plan de la production fruitière, ce secteur permet l'approvisionnement du marché intérieur en fruits frais pendant une période qui s'échelonne d'octobre à mai. La variété dominante est l'orange Maltaise, avec 34% de la production agrumicole nationale en 2014, dont 90% de sa production est destinée à l'exportation (ONAGRI, 2014).Le groupe des oranges Navels représente 18% de la production nationale des oranges avec une production qui s'est élevée à 94 000 tonnes en 2015 (FAO Stat, 2016).

Le groupe des oranges Navels comporte plusieurs variétés, les plus anciennes sont Thomson Navel et Washington Navel ; alors que les nouvelles sont Navelina, New Hall, Navel Late et Lane Late.

II.2.Contraintes du secteur agrumicole

L'activité agrumicole est sujette à certaines contraintes qui l'empêchent d'évoluer que l'on peut attribuer à plusieurs facteurs : le vieillissement inéluctable des vergers ; les conditions climatiques (vent, gelée..) et les disponibilités en eau d'irrigation en quantité et en qualité ; l'inadéquation des opérations culturales (fertilisation, taille….) ; les difficultés de commercialisation dues aux taux élevées de résidus de pesticides qui affectent la qualité des fruits et agissent directement sur l'exportation et finalement l'accentuation des problèmes phytosanitaires causés par les maladies et les ravageurs (Zekri et Laajimi, 2001 ; Farhat *et al.*, 2016).

II.2.1.Les maladies des agrumes

Les maladies cryptogamiques telles que la gommose du collet, la fumagine, l'anthracnose et le mal secco (qui s'attaque principalement aux citronniers) constituent les principales maladies fongiques des agrumes.
Cette culture est aussi sujette à l'attaque de virus causant la psorose écailleuse et récemment des dégâts provoqués par la Tristeza ont été reportés.
De plus, les viroïdes et les mycoplasmes qui causent la cachexie xyloporose et le stubborn s'attaquent également aux agrumes. D'autre part, les carences en oligo-éléments surtout le fer, le zinc et le manganèse constituent les principales maladies physiologiques de cette culture (CTA, 2015).

II.2.2.Les principaux ravageurs des agrumes

La mouche méditerranéenne des fruits, *Ceratitis capitata* (Wiedeman) (Diptera : Tephritidae) est considérée comme l'ennemi majeur des cultures agrumicoles en Tunisie, ce dangereux ravageur peut anéantir la totalité de la récolte en cas de forte infestation.
La cératite provoque deux types de piqures sur les fruits. Les piqures stériles, induisent des tâches brunâtres à la surface de l'écorce du fruit ce qui va déprécier leurs qualités marchandes.

Alors que les piqures fertiles (qui suivent la ponte) produisent dans un premier temps des auréoles transparentes puis brunâtres au niveau de la peau du fruit. Ensuite, au terme du développement des asticots, la chair du fruit devient molle ce qui indique sa pourriture menant à la chute prématurée des fruits.

Les conditions climatiques optimales de développement de la cératite sont une température supérieure à 15°C et une humidité relative de 60%. Elle développe de 7 à 10 générations par an et s'attaque à diverses plantes hôtes.

Les conditions climatiques du pays et le chevauchement de la maturité de ses fruits hôtes jouent en faveur de la présence de ce ravageur durant toute l'année (CTA, 2014) (Tableau 1) :

Tableau 1 : Présence de la cératite sur ses fruits hôtes en fonction des mois (CTA, 2014).

	Jan	Fev	Mar	Avr	Mai	Jui	Jui	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
Agrumes												
Prunes												
Raisins												
Abricots												
Nèfles												
Pêches												
Pommes												
Poires												
Figues de Barbarie												
Figues												

Les variétés d'oranges les plus attaquées en Tunisie sont le Thomson Navel et le Washington Navel (Braham *et al.*, 2007).

D'autres nuisibles, tels que les pucerons des agrumes : *Aphis sp*. ,*Toxoptera aurantii* et *Myzus persicae* représentent un danger pour cette culture qui s'accentue principalement par leur pouvoir de transmission de virus. Les dégâts des aleurodes (*Aleurothrixus floccosus* et *Parabemisia myricae)* se manifestent par des prélèvements de sève par les piqures de nutrition. Ce qui va engendrer le développement de la fumagine et représente aussi un risque de transmission de virus.

Les cochenilles (*Parlatoria ziziphi, Icerya purchasi* et*Planococcus citri*)représentent aussi un danger pour cette culture.
Au niveau des serres et des jeunes plantations, les différents stades larvaires de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* s'attaquent aux jeunes feuilles en creusant des galeries sinueuses ce qui provoque leur enroulement, jaunissement et desséchement entrainant ainsi leur chute (Lebdi Grissa, 2010).

II.2.3.Les ravageurs d'agrumes élaborés dans cette étude

II.2.3.1. La cochenille farineuse *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera : Pseudococcidae)

La cochenille farineuse est un ravageur extrêmement polyphage s'attaquant à diverses plantes hôtes principalement les agrumes (Bodenheimer, 1951) avec une préférence pour le pamplemousse (Griffiths et Thompson, 1957), les vignes (Mansour *et al*., 2009) et les plantes ornementales (Laflin et Parella, 2004).
La cochenille farineuseest caractérisée par un dimorphisme sexuel. La femelle est aptère, de couleur orangé à marron clair recouverte de cire blanche-cotonnée mesurant en moyenne 3,66 mm de longueur sur 2,49 mm de largeur alors que le mâle est ailé, mesurant 1,02 mm de longueur sur 0,3 mm de largeur avec une paire de cerques sous forme de filaments (Dhouibi *et al.*,2003 ; Jendoubi, 2012).
Etant des insectes piqueurs suceurs, *Pl. citri,* produisent deux types de dégâts.

Les dégâts directs, où les femelles adultes et les nymphes aspirent la sève, conduisent au flétrissement et à la chlorose du feuillage. Le miellat secrété en abondance par les cochenilles favorise le développement de la fumagine. Sur fruits d'oranges, ces insectes en se nourrissant de leurs peaux, les rendent ternes et décolorées ce qui déprécie leur qualité marchande. Alors que les dégâts indirects engendrent la transmission de virus au niveau des vignobles. Cependant au niveau des agrumeraies, Serghiou (1983), a reporté l'existence d'un complexe *Planococcus citri - Ectomyelois ceratoniae.*

II.2.3.2. Les thrips spp. (Thysanoptera : Thripidae)

Les thrips sont considérés comme des ravageurs secondaires et récents sur agrumes en Tunisie dont les dégâts sont apparus en 2008 (Trabelsi et Boulahia-Khedher, 2009). Des études effectuées par (Hassouna, 2014 ; Belaam-Kort et Boulahia – Khedher, 2017) ont reporté que 14 espèces de Thrips sont dénombrées dans les vergers agrumicoles tunisiens avec dominance de l'espèce *Thrips major* qui est peut atteindre les 90%**.**

Les symptômes des dégâts différent selon l'espèce de Thrips : dégâts sous forme d'anneaux à la base des pédoncules des fruits ou sous forme de marbrures argentées couvrant une surface plus ou moins étendue variant de 11 à 70 % des fruits.

Les espèces des agrumes les plus touchées, au niveau des vergers tunisiens, sont le *Citrus maxima* et le *Citrus sinensis* var. Thomson avec 90 % et 68 % de dégâts respectivement (Belaam, 2010).

Le ravageur cible de cette thèse est la pyrale des dattes Ectomyelois ceratoniae qui va être présentée dans la Partie B.

B. La pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1881(Lepidoptera : Pyralidae)

I. Taxonomie et Systématique d'*Ectomyelois ceratoniae*

Ectomyelois ceratoniae Zeller (1881) était décrite pour la première fois en Autriche par Fischer von Röslerstamm (1838) et Zeller (1839) sous le nom de *Myelois ceratoniella* Zeller. Puis, elle a pris plusieurs dénominations dont certaines se réfèrent à ses hôtes de prédilection. Ainsi, elle fût appelée communément pyrale des dattes ou pyrale des caroubes.

La pyrale des dattes occupe la position systématique suivante :

- **Règne** :Animal
- **Embranchement** : Arthropodes
- **Classe** : Insectes
- **Super ordre** : Mécoptères
- **Ordre** : Lépidoptères
- **Sous-ordre** : Hétéroneures
- **Division** : Ditrysiens
- **Groupe** : Hétérocères
- **Super Famille :** Pyraloidea
- **Famille :** Pyralidae
- **Sous-famille :** Phycitinae
- **Genre :** *Ectomyelois*
- **Espèce :** *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1839).

II. Caractéristiques morphologiques et cycle de vie d'*Ectomyelois ceratoniae*

II.1.Description morphologique d'*Ectomyelois ceratoniae*

II.1.1.L'adulte

La pyrale des dattes est un microlépidoptère crépusculaire à nocturne dont les mensurations sont de 6 à 12mm de longueur et de 16 à 22mm d'envergure (Balachowsky, 1972). Les ailes sont étroites à leur base et s'élargissent sensiblement à l'extrémité. La paire antérieure est ornementée tandis que la postérieure est monochrome, uniforme et bordée par une rangée de soies blanchâtres.

La couleur de l'adulte varie en fonction de sa répartition géographique et de son mode de vie du brun clair (morphe claire) (Figure 1.a) au gris brun (morphe sombre) (Figure 1.b) (Carpenter et Elmer, 1978 ; Pintureau et Daumal, 1979).
Le dimorphisme sexuel chez les adultes est très net ce qui facilite la reconnaissance des sexes à l'œil nu. D'une part, l'envergure de la femelle est plus grande que celle du mâle (Mediouni, 2005 ; Mozaffarian *et al.*, 2007). D'autre part, au niveau de l'extrémité postérieure de l'abdomen, la femelle présente une petite dépression circulaire de laquelle sort l'ovipositeur alors que chez le mâle, deux valves sont visibles extérieurement au niveau de l'armature génitale (Dhouibi, 1989).

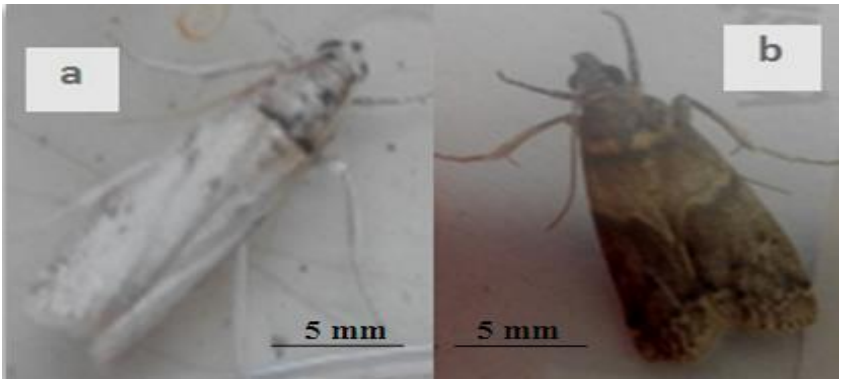


Figure 1 :Morphe claire (a) et morphe sombre (b)
de l'adulte de la pyrale des dattes
(Clichés personnels, 2015).

II.1.2.L'œuf

L'œuf est de forme ovoïde avec un diamètre variant de 0,5 à 0,8 mm et la surface de son chorion porte des ornementations géométriques (Dhouibi, 1989).
Fraîchement pondu, l'œuf est de couleur blanc crème luisant. Après 24 heures d'incubation, l'œuf fertile change de couleur pour passer progressivement du rouge nuancé au rose en fonction du développement embryonnaire (Gothilf, 1968 ; Balachowsky, 1972 ; Navarro *et al.*, 1986). L'œuf est muni d'une substance gluante qui permet sa fixation sur les fruits attaqués.

II.1.3.La chenille

La larve de ce lépidoptère est de forme allongée cylindrique, ayant une couleur rouge jaunâtre à l'éclosion et qui devient jaune rosâtre par la suite. Balachowsky (1972) a signalé que la chenille d'*E. ceratoniae*est complètement rose sauf la tête qui est brun rouge et la plaque chitinisée brun foncé du thorax. Toutefois, Dhouibi (1989) a noté que la couleur de la larve dépend de sa nourriture.

Le développement larvaire se fait en 5 stades dont la distinction se fait en se basant sur le nombre de crochets qui ornent les 5 paires de fausses pattes abdominales de la larve, ainsi que sur la dimension de sa capsule céphalique (Balachowsky, 1972).

Au terme de leur croissance, les chenilles deviennent jaunâtres et atteignent une longueur d'environ 15 à 18 mm. La chenille du dernier stade se caractérise par sa chétotaxie (Dhouibi, 1989 ; Mediouni, 2005).

II.2 Cycle biologique

Vers la fin de son développement, la chenille du 5ème stade larvaire tisse une importante quantité de soie qui va servir à la construction de son cocon de nymphose. Dans ce cocon s'effectue l'ensemble des transformations qui aboutissent à l'élaboration des caractères de l'adulte qui se prépare à émerger (Nay, 2006).

En raison de la nature crépusculaire de l'activité de cet insecte, l'émergence des adultes débute dès les premières heures de la nuit (scotophase) (Gothilf, 1969.b ; Doumandji, 1981) avec les mâles précédant les femelles. La reprise de l'activité du papillon est synchronisée avec les stades phénologiques réceptifs de l'hôte (Al Izzi *et al.*, 1985). La durée de vie du stade adulte est de 2 à 15 jours (Gothilf 1969.b, 1984 ; Navarro *et al*., 1986 ; Al-Izzi *et al*., 1985 ; Alrubeai, 1987). Le comportement sexuel, l'oviposition et le vol de cet insecte sont directement liés aux conditions climatiques : température, humidité relative et photopériode (Cox, 1976, 1979). L'optimum de développement de la pyrale des dattes se situe autour des températures de 25-30°C et des humidités relatives de 65-70% (Jerraya et Vinson, 1980).

Mais lorsque les températures deviennent excessives (40°C pendant l'été) et l'humidité relative baisse, une mortalité relativement importante de l'insecte est observée.
A une température inférieure à 14°C, Gonzalez (2003) a indiqué que les adultes ne parviennent pas à voler et Nay (2006) a indiqué qu'ils parviennent à s'accoupler à 13,7°C.
La maturité sexuelle de la femelle d'*E. ceratoniae*débute une journée après son émergence. Ceci se traduit par sa posture en position d'appel caractéristique. Cet appel va coïncider avec l'activité du mâle de la même espèce en conditions optimales (Dhouibi ,1982 ; Mediouni, 2005) ; ainsi qu'avec les stades phénologiques réceptifs de la plante hôte (Dhouibi, 1989). A proximité de la femelle, le mâle va s'immobiliser, ce dernier va reprendre sa mobilité vers le milieu de la période obscure, relever et bouger ses antennes, vibrer ses ailes et voler en bourdonnant ainsi va survenir l'accouplement. Il s'ensuit le choix du site de ponte et l'oviposition. La femelle pond en moyenne 100 à 200 œufs (Gothilf 1968, 1969.b ; Navarro *et al.*, 1986 ; Al-Izzi *et al.*,1987) au niveau du site de ponte qui est tributaire de la plante hôte.
La ponte aura lieu à l'intérieur de l'œil du jeune fruit pour le grenadier, près du périanthe ou sur le rachis pour les dattes (Dhouibi, 1989), dans les fissures des gousses pour les caroubes (Gothilf, 1970) et principalement dans l'ombilic pour les oranges Navels (Chakroun, 2010 ; Anonyme 1, 2011 ; Hached, 2012).
La durée du stade œuf varie en fonction de la température, elle est en moyenne de 3 à 4 jours à 30°C (Cox, 1976 ; Alrubeai, 1987 ; Al-Izzi *et al.*, 1987). Warner (1988) a indiqué que la température de 15°C représente un seuil minimal de développement. La durée d'incubation varie aussi selon la génération, elle est en moyenne de 3,1 jours pour la première génération et de 3,8 jours pour la deuxième en grenaderais (Dhouibi, 1989).
Après l'éclosion des œufs, cinq stades larvaires vont se succéder. La durée de développement des divers stades varie selon la plante hôte, elle est de 46,6 jours sur pistaches et de 44,7 jours sur dattes à 27°C et 70% HR (Dhouibi, 1989).

Sur les oranges à ombilic « navel », la durée de développement est de 60 jours (Doumandji, 1981), de 70 jours sur les pomelos et de 52 jours sur les amandes. Sur les caroubes sèches, Doumandji (1981) a remarqué que, l'émergence s'observe après 118 jours en moyenne, alors que sur les caroubes vertes, 37 jours suffisent. Sur milieu artificiel de son de blé, sa durée moyenne est de 31 jours à 28°C et 65% HR (Mediouni, 2005).

La durée de développement de ces stades varie aussi selon les conditions du milieu. Il en ressort qu'il est le plus lent pour les températures les plus basses (Balachowsky, 1972) et les photopériodes les plus courtes (Al-Izzi *et al.*,1985 ; Jammazi, 1994).

Les développements larvaire et nymphal durent en moyenne 29,5 jours à 25°C et s'accélèrent au fur et à mesure que la température augmente pour ne durer que 22,9 jours à 30°C (Ben Ayed, 2006).

Dans les conditions naturelles favorables (une température entre 25 et 35°C et une humidité relative de 50 à 90%), une génération d'*E. ceratoniae* s'accomplit globalement en deux mois.

Etant une espèce cosmopolite, le nombre de générations est variable selon les pays, les conditions climatiques et les plantes hôtes (Doumandji, 1981).

Quand les conditions du milieu deviennent défavorables, les larves âgées entrent en diapause ce qui permet à l'insecte de s'adapter et de résister à ces conditions. Toutefois, la signification et la nature de la diapause chez cette espèce sont contestées. En effet, Gothilf (1970) et Cox (1979) ont signalé que la diapause était en réponse aux faibles températures et aux raccourcissements des jours alors que Warner (1988) et Nay et Perring (2008) ont trouvé des larves actives durant la saison hivernale. Les fruits desséchés et les débris de grenades, de dattes ou de pistaches jouent le rôle d'hibernaculum pour les chenilles hivernantes ; comme on peut les rencontrer dans les crevasses, voire même dans le sol (Balachowsky, 1972). Au printemps, l'augmentation de la température et de la longueur du jour vont déclencher la levée de la diapause chez *E. ceratoniae* (Gothilf, 1970) permettant ainsi l'émergence des imagos.

II.3. Nombre de générations

De nombreux travaux de recherche sur la biologie de la pyrale des dattes (Gothlif, 1970 ; Balachowsky, 1972 ; Doumandji, 1981 ; Dhouibi, 1982 ; AL-izzi *et al.*, 1985 ; Mediouni, 2005 ; Ben Ayed, 2006 ; Mejri, 2008) ont montré qu'étant cosmopolite, le nombre annuel de générations varie selon l'année et la région.

A la limite nord de son aire d'extension, la pyrale ne présente qu'une seule génération pendant l'été. Plus au sud, dans la région de province, d'Autriche et d'Allemagne, la pyrale évolue en deux générations dont la deuxième est la plus importante (Balachowsky, 1972).

Dans la région présaharienne de la Tunisie, quatre générations annuelles se succèdent dont la dernière est la plus importante. Ce ravageur commence à s'attaquer aux grenades de mai jusqu'à août**.** Dès septembre, l'insecte commence à s'attaquer aux dattes qui sont en phase de maturation (Dhouibi, 1982). Dans les vergers de grenadier, quatre générations d'*E. ceratoniae*ont été observées, Mediouni (2005), Ben Ayed (2006) et Mejri (2008) alors que Jammazi (1994) a montré qu'*E. ceratoniae*évolue en trois générations sur grenadier à Ksar Ghriss et en deux à trois générations à Tozeur.

III. Distribution géographique

La pyrale des dattes est une espèce cosmopolite, qui s'étend sur une aire de répartition très vaste, allant du 30ème degré de latitude sud au 50ème nord (Balachowsky, 1972).

En Tunisie, ce ravageur a été détecté pour la première fois par Trabut (1923) puis Gothilf, (1969.a). Sa répartition s'étend dans les différents étages bioclimatiques du pays (Jerraya et Vinson, 1980).

Dans le bassin méditerranéen, ce ravageur était aussi signalé au Portugal (Alfken, 1928), en Espagne (Sorhagen, 1881 ; Agenjo, 1959), en France (Real, 1948), en Italie (Real, 1948 ; Deseo *et al.*, 1981), en Grèce (Georgevits, 1981), en Chypre (Wilkinson ,1925 ; Jacobs ,1933), à Malte (De Jong, 2013), au Maroc (Trabut, 1923 ; Bouka *et al.*, 2001), en Algérie (Durrant, 1915 ; Trabut, 1923), en Libye (Bitaw *et al.*, 1988) et en Egypte (Shafik, 1938 ; Gothilf, 1970).

Au Moyen Orient, la pyrale des dattes était signalée en Palestine (Gothilf, 1970), à l'Arabie Saoudite (Adham, 1965), en Syrie (Real, 1948 ; Balachowsky, 1972), en Iraq (Al-Maliky et Al-Izzi, 1986) et en Iran (Farzaneh, 1984 ; Shakeri ,1993). Egalement, ce ravageur est présent en d'autres pays d'Asie telle que l'Afghanistan (Harvey, 2013), l'Inde (Hampson, 1903), le Japan (Sonda, 1963 ; Yoshiyasu et Kitatsuji, 2008), la Russie (Krasil'Nikova, 1966 ; Cox ,1979) et la Turquie (Tokmakogiu *et al.*, 1967),

Dans d'autres pays d'Europe, *E. ceratoniae* est également présente en Belgique (De Jong, 2013), en Bretagne (Vaughan, 1870 ; Jacobs, 1933), en Bulgarie (De Jong, 2013), au Pays-bas (Huisman, 1974), en Pologne (De Jong, 2013) et à la République Chèque (Sumpich et Skyva, 2008).

La pyrale des dattes était aussi signalée en Afrique du sud (De Stefani, 1919 ; Lounsbury, 1919), au Madagascar (De Stefani, 1919), en Afrique subsaharienne: Mali, Sénégal et Tchad (Doumandji, 1981) et en Zimbabwe (Honiball et Catling, 1998).

L'aire de répartition d'*E. ceratoniae* s'est même étendue à quelques régions du continent Américain [i) au sud (Real, 1948): Argentine (Lange, 1991 ; Gonzalez et Cepeda, 1999), Chili (Gonzalez et Cepeda, 1999), ii) au centre : Jamaique (McFarlane, 1962), Porto Rico (Leonard, 1933) , Trinidad (CDFA,1983), iii) au nord : Etats unis d'Amérique, (Dyar, 1911 ; CDFA, 1983) et Hawaii (Swezey, 1923 ; Zimmerman, 1958)] et également à l'Australie (Michael, 1968 ; Gothilf, 1984) (Figure 2).

Figure 2 :Répartition géographique d*'Ectomyelois ceratoniae*
: Localisation (Réalisation personnelle selon la bibliographie).

La pyrale vit aux dépens des fruits mûrs et proches de la maturité en vergers ainsi que dans les fruits desséchés stockés dans les entrepôts. En raison de son extrême polyphagie, plusieurs espèces fruitières à intérêt agronomique ou des plantes ornementales sont des hôtes potentiels de cet insecte.

IV.1. Plantes hôtes à intérêt agronomique

Diverses plantes à intérêts agronomique et économique sont attaquées par la pyrale des dattes soit au niveau du verger ou lors du stockage comme indiqué dans le tableau 2.

Tableau 2 :Plantes hôtes à intérêt agronomique et pays de localisation de la pyrale des dattes.

Plantes hôtes	Pays	Références
Arachide: *Arachis hypogaea*	-	Sheppard (1926)
Caroubier: *Ceratonia siliqua*	Chypre, Palestine	Wilkinson (1925); Bodenheimer (1930)
Palmier dattier: *Phoenix dactylifera*	Arabie Saoudite, Etats-unis, Tunisie	Adham (1965); Warner (1988); Dhouibi (1982)
Pistachier: *Pistacia vera*	Tunisie, Turquie	Dhouibi (1982); Mehrnejad (1993)
Ricin commun: *Ricinus communis*	Hawai	Zimmerman (1958)
Noyer: *Juglans regia*	Afrique du sud, Iran	Lounsbury (1919); Mozaffarian *et al.*, (2008)
Châtaigner: *Castanea sativa*	Afrique du sud	Lounsbury (1919)
Grenadier: *Punica granatum*	Iraq, Iran, Turquie, Tunisie	Al-Izzi *et al*,. (1985); Mozaffarian *et al*,. (2008); Ozturk *et al.*, (2005); Dhouibi (1982) ; Ksentini*et al.*, (2010)
Figuier:		Trabut (1923);

Ficus carica	Afrique du nord : Algérie, Maroc, Tunisie, Libye ; Iran ; Turquie	Gentry (1965); Widiez (1932); Shakeri (1993); Gencer *et al.*, (2005); Mozaffarian *et al.*, (2008)
Olivier: *Olea europaea*	Italie	Mineo (1967)
Cognassier: *Cydonia oblonga*	Italie	De Stefani (1919)
Pommier: *Malus domestica*	Russie, Chili, Tunisie	Krasil'Nikova (1965, 1966); Gonzalez (2002); Dhouibi (1991)
Abricotier: *Prunus armeniaca*	Etats-unis, Tunisie	Warner (1988) ; Dhouibi (1991)
Amandier: *Prunus dulcis*	Australie, Tunisie	Madge (2012) ; Dhouibi (1991)
Pêcher: *Prunus persica*	Etats-unis, Japon	Warner (1988) ; Yoshiyasu et Kitatsuji (2008)
Poirier: *Pyrus* sp.	Russie	Krasil'Nikova (1965, 1966)
Agrumes: *Citrus* sp.	Afrique du Sud, Chypre, Espagne, Turquie, Tunisie	Anonyme 2 (1926); Agenjo (1959); Balachowsky (1972); Catling (1970); Serghiou (1983); Ozturk *et al*,. (2011); CTA (2008)
Pomme de terre: *Solanum tuberosum*	Iran	Kashkuli et Eghtedar (1976)
Raisin: *Vitis vinifera*	Italie	Martinez-Sanudo *et al.*, (2013)

IV.2. Plantes hôtes ornementales

La pyrale des dattes s'attaque à diverses plantes ornementales de la famille des fabaceae comme *Acacia farnesiana* (L.) (Zimmerman ,1958)et à d'autres plantes appartenant à la famille des malvaceae tels que *Brachychiton acerifolius* (Doumandji, 1981).

V. Symptômes d'attaque et dégâts d'*E. ceratoniae*

La pyrale des caroubes présente un caractère extrêmement vorace causant de nombreux dégâts. L'importance des dégâts causés par ce ravageur varie selon la plante hôte, la variété, la densité de plantation, la charge et aussi les conditions climatiques (Balachowsky, 1972 ; Gothilf, 1970 ; Dhouibi, 1989 ;Jammazi, 1994).

V.1. Sur palmier dattier

L'attaque débute au champ et se poursuit dans les entrepôts et les usines de conditionnement (Khoualdia *et al*., 1995). Sur dattes, l'orifice de pénétration de la larve est situé toujours au point d'insertion du fruit sur le périanthe, l'attaque va se matérialiser par un amas soyeux qui bouche l'orifice de pénétration de la larve.

A l'intérieur du fruit, la larve est souvent présente près du noyau. Dans le cas où elle est absente, les granules d'excréments brunâtres reliés par des fils de soie renseignent sur son passage (Planche I.a) (Khoualdia *et al.,* 1996a,b).

La pénétration de la chenille par le point d'insertion du fruit sur le périanthe, va le prédisposer à la chute. Les fruits attaqués se détachent facilement du régime donc les fruits tombés sont souvent véreux (Ben Brahim, 2008).

Il semble que la variété Deglet-nour, qui représente plus de la moitié de la production des dattes tunisiennes (Khoualdia *et al.*, 1995), est la plus endommagée, avec un taux d'infestation pouvant atteindre les 20% (Dhouibi, 1982). Au Maroc, les dégâts peuvent atteindre 30% (Bouka *et al.*, 2001) et aux Etats-unis, ils varient entre 10 et 40% (Nay *et al.*, 2006).

V.2. Sur grenadier

Dhouibi (1989) a signalé que dans les grenaderaies tunisiennes, l'attaque est fonction de la localité, de la nature des plantations et de leurs densités mais aussi de la variété, la charge de l'arbre et des conditions climatiques. En effet, la larve va dévorer les étamines du calice de la grenade (Mars et Sayadi, 1992). Le creux du calice est, en l'occurrence, tapissé de fils de soie et son contour se décolore. Aussitôt, la larve pénètre dans le fruit, la grenade ainsi endommagée, est prédisposée aux invasions mycéliennes de champignons agents de pourritures (Planche I.b.).

L'attaque de la première génération n'affecte guère l'aspect extérieur du fruit et passe souvent inaperçue, c'est seulement à partir de la deuxième génération et les générations suivantes que la pourriture d'abord ponctuelle tend à affecter toute la grenade, le terme ultime étant la chute de celle-ci à plus ou moins brève échéance (Dhouibi et Jammazi, 1993 ; Ben Ayed, 2006 ; Ksentini *et al.*,2010). L'attaque de cet insecte pourrait être associée à celle de *Ceratitis capitata* et *Deudorix livia* au niveau des fruits de grenades endommagés et chutés (Braham, 2015).

En cas de forte infestation les dégâts peuvent même atteindre 90%. En Iran, le taux d'infestation par *E. ceratoniae* est entre 25-30% (Peyrovi *et al*., 2011).

V.3. Sur les citrus

La pyrale des dattes s'attaque aux diverses espèce d'agrumes. En Chypre et en Egypte *E. ceratoniae* était signalée sur pamplemousse (Serghiou, 1983 ; Gumpf *et al.*,1996). De même, ces attaques ont été signalées dans d'autres pays du bassin méditerranéen, tels que l'Espagne, la France et l'Italie mais aussi en Turquie et en Afrique du Sud (Anonyme 1, 2011). Au sud ouest de la France, il ya deux générations par an, la première étant assez faible d'avril à juin et la seconde plus importante juillet/août à septembre (Alford, 2007).

L'infestation de cet insecte sur oranges se concentre surtout sur le groupe des navels (fruits ombiliqués), où l'ombilic fournit un endroit convenable et très important à la pénétration et à l'installation des chenilles dans les fruits.

Cependant, ces chenilles peuvent pénétrer aussi secondairement dans les fruits de n'importe quel autre endroit, ainsi elles peuvent percer le zeste sous la feuille qui touche le fruit et pénétrer par des endroits déjà envahis par la cochenille blanche qui favorise l'infestation. Ainsi, les larves pénètrent dans l'écorce à proximité de la base (Alford, 2007) où elles se nourrissent sur l'écorce et causent la nécrose de l'axe principal du fruit (Anonyme 3, 2007) (Planche I.c.). Les chenilles âgées provoquent une réaction physiologique des fruits qui changent de couleur et donnent la couleur d'une fausse maturité (Alford, 2007). A la fin de l'infestation, les fruits pourrissent et tombent, d'où leur chute précoce (Gumpf *et al.*,1996). Les chenilles se transforment en chrysalides soit dans l'ombilic, soit sous un autre abri.

V.4. Sur amandier

En Tunisie, la présence d'*E. ceratoniae* était signalée en début des années 1980 (Dhouibi, 1991), alors que sur les amandiers australiens, elle était signalée dès 1960 mais ce n'est qu'en 2010 que ses dégâts ont pris une ampleur importante avec 47 % de dégâts durant la saison hivernale (Planche I.d).

Les attaques débutent vers fin septembre et se prolongent jusqu'à début mai, en évoluant en 4 générations, avec une préférence de ponte au niveau des fruits momifiés (Madge, 2012).

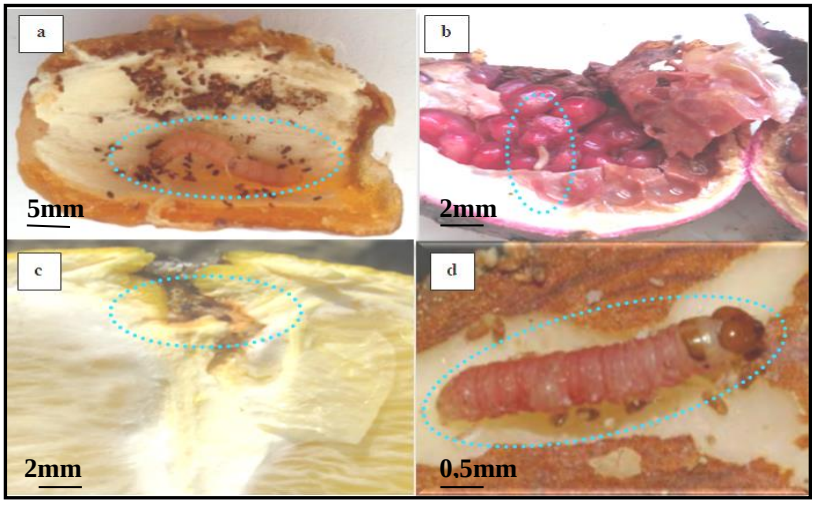


Planche I :Dégâts internes d'*E. ceratoniae*sur les fruits de datte(a), grenade (b), orange Thomson Navel (c) et amande (d)
a, b),c) Clichés personnels (2015, 2015, 2013) et d) Madge (2012).

VI. Moyens de lutte utilisés contre la pyrale des dattes

VI.1. Sous conditions contrôlées

Les fruits hôtes de la pyrale des dattes, une fois récoltés et stockés au niveau des entrepôts de stockage peuvent être infestés par ce pyralide sans symptômes extérieurs apparents d'attaques ce qui représente un danger potentiel de contamination des fruits sains. Une désinsectisation est indispensable pour assurer la préservation efficace des dattes (Fields et White, 2002). En effet, l'attaque d'*E. ceratoniae* sur dattes va déprécier leur qualité marchande ce qui va poser un problème de commercialisation et d'exportation spécialement pour la variété Deglet Nour (Haouel *et al.,* 2010). Suite à l'interdiction de l'usage du gaz fumigène de Bromure de méthyle (BrCH3) en 2005 par les pays développés à cause de sa toxicité élevée et ses effets néfastes sur les animaux, la santé humaine (cancérigène) et la couche d'ozone (Bell, 2000), plusieurs méthodes de lutte alternatives ont été testées :

VI.1.1.Lutte physique

La lutte par modification de la chaleur soit par la congélation ou les basses températures ou une hausse remarquable de la température a été amplement testée contre *E. ceratoniae* (Khoualdia, 2006 ; Zouba *et al.,* 2009).

En effet, le traitement de congélation entraine la formation de glace à l'intérieur des cellules des insectes, il est le plus souvent létal provoquant la déchirure des membranes et la perturbation profonde du fonctionnement cellulaire (Khoualdia, 2006).

Dhouibi (2013) a montré que la température de -18°C cause 100% de mortalité d*'E. ceratoniae*au niveau des dattes infestées. De même Ben Amor (2016) a indiqué que l'utilisation de la congélation à -18°C pendant 50 heures a abouti à 100% de mortalité des stades larvaire, nymphal et adulte d'*E. ceratoniae*au niveau des dattes naturellement infestées.

Pour les températures élevées, des travaux de Zouba *et al*., (2009, 2013) et Ben Amor *et al.,* (2016) ont montré que les traitements par usage de micro-ondes, de l'air chaud et de l'eau chaude ont également pu éliminer la pyrale, des dattes infestées.

Cependant, Dhouibi et Jarraya (1998) ont signalé que même si le traitement par la chaleur ou par le froid permet de désinfecter les dattes contre *E. ceratoniae*, cette méthode peut causer la détérioration de la qualité des fruits traités.
D'autres traitements par usage de désinfectants sanitaires ou atmosphère modifiée ont prouvé, également, leurs efficacités contre *E. ceratoniae* (Jemni *et al.*, 2014, 2015, 2016).

VI.1.2.Lutte par les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, odorants et incolores ou légèrement teintés, isolés par hydro-distillation ou par expression mécanique. Les organes producteurs de ces huiles varient selon la plante où elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004). Les huiles essentielles ont été reconnues comme une source naturelle efficace pour usage comme pesticides puisqu'ils sont, respectueux de l'environnement, facilement biodégradables et également peu coûteux (Enan, 2001).
Au niveau des entrepôts, le mode d'action des huiles essentielles est très variable, pouvant avoir une activité de fumigène, d'insecticide de contact par pénétration au niveau du corps de l'insecte, d'anti-appétant, de répulsif, ou même affecter certains paramètres biologiques tels que le taux de croissance, la durée de vie et la reproduction (Saxena *et al.,* 1992 ; Plarre *et al.,* 1997 ; Shaaya *et al.,* 1997 ; Isman ,2006).
Les huiles essentielles des plantes aromatiques (lavande, eucalyptus, thym…) sont de plus en plus investiguées pour leur activité insecticide ainsi que leur effet fumigateur et répulsif (Ncibi, 2012). Plusieurs travaux ont été effectués sur la pyrale des dattes au niveau des entrepôts. Le rôle de fumigant de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* contre *E. ceratoniae* était démontré par (Bachrouch *et al.,*2010) qui ont confirmé que grâce à sa richesse en monoterpénoïdes, cette huile n'agit pas seulement sur la mortalité de la pyrale des dattes mais aussi sur la réduction du taux de copulation, la longévité, la fécondité et l'éclosion des œufs.

Mediouni- Ben Jemâa *et al.*, (2012a,b, 2013) ont rapporté l'efficacité de la fumigation aux huiles essentielles d'Eucalyptus(*E. camaldulensis, E. astringens, E. leucoxylon, E. lehmannii* et *E. rudis*) à l'égard de la pyrale des dattes. Les résultats démontrent que l'activité insecticide varie en fonction des changements dans les quantités des composés actifs présents dans chaque espèce d'*Eucalyptus* et que cette activité toxique est maximale pendant la saison estivale. Cependant, il est nécessaire d'étudier l'impact de ces huiles essentielles sur la qualité des dattes aux doses nécessaires pour le contrôle de ce ravageur.

Des travaux sur les huiles essentielles extraites de *Thymus capitatus*, *Pinus halepensis* et *Rosmarinus officinalis* conduits par (Amri *et al.*, 2014) ont démontré que l'huile essentielle extraite de *T. capitatus* s'est avérée être très toxique envers *E. ceratoniae* sur ses trois stades de développement (œuf, larve et adulte) à la dose de 20 µl /ml (100% d'inhibition), suivie par l'huile de *R. officinalis* (90 à 100% d'inhibition).

VI.2. Sous conditions de vergers

En raison de l'ampleur des dégâts d'*E. ceratoniae*et compte tenu des particularités biologiques du développement de ce ravageur, de nombreuses techniques de contrôle ont été utilisées.

VI.2.1.Lutte culturale

La lutte culturale implique des mesures prophylactiques préventives qui visent à diminuer les infestations par l'insecte, elle peut être appliquée durant la production ou en post-récolte. En post-récolte, elle se traduit par le ramassage des fruits non récoltés (momifiés) et ayant chutés ainsi que leur incinération vu qu'ils peuvent constituer un foyer de ré-infestation une fois abandonnés dans l'exploitation (Gothilf, 1970 ; Dhouibi, 1989 ; Madge, 2012).

Cette opération va permettre de diminuer l'infestation pour l'année suivante. Ce procédé a donné de bons résultats dans les oasis, mais semble être peu efficace dans les grenaderais du fait que l'insecte hiberne au niveau du sol et même dans les fissures

des écorces des troncs et des rameaux (Dhouibi, 1989 ; Ben Brahim, 2008).
Lors de la production, l'opération consiste à l'élimination des fruits attaqués sur pieds et de tous les fruits chutés qui représentent un foyer de ré-infestation (Gothlif, 1970 ; Dhouibi, 1989).

VI.2.2. Lutte mécanique

Durant la production, une technique employée par Nay *et al.*,(2006) a permis une réduction de 73 à 94% des fruits non noués ce qui engendre une réduction de 67 à 99 % des fruits infestés par la pyrale des dattes grâce à l'usage d'un cône métallique attaché à un long pied (Figure 3). En effet, cet outil provoque la chute des dattes non nouées qui constituent un abri de cet insecte. D'autres méthodes mécaniques comme l'élimination des étamines des grenades ont été également utilisées (Karami *et al.*, 2011 ; Taki *et al.*, 2014).

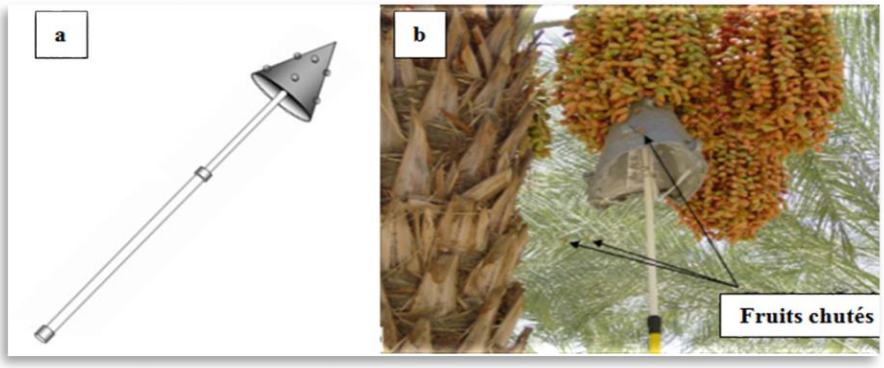


Figure 3 : (a) Outil de nettoyage et (b) son mode d'utilisation sur palmier dattier (Nay *et al.*, 2006).

VI.2.3.Lutte physique

Le but de cette technique est d'empêcher le contact entre la femelle et son site de ponte pour réduire le taux d'infestation

pour cela il faut l'appliquer au moment opportun afin d'obtenir des résultats satisfaisants.
Sur palmier dattier, l'ensachage des régimes peut réduire l'attaque de cet insecte considérablement. Cette technique, consiste à couvrir les régimes de dattes par des films en plastique ou du papier Kraft (Khoualdia, 1996a ; Dhouibi, 2000) (Figure 4.a).
Skander Essid (2011) a montré l'efficacité d'une gaine de moustiquaire de maillage égale à 0,8 mm^2 et de dimensions de l'ordre de 100 x 80 cm dans la réduction de l'infestation. Actuellement, c'est la méthode la plus répandue dans les palmeraies tunisiennes.
Sur grenadier, l'ensachage localisé des fruits s'est montré assez efficace dans les oasis littorales tunisiennes (Tebassi, 1992), mais peu pratique au Maroc (Hmid, 2013). En Iran, l'ensachage des fruits de grenades (Figure 4.b) a permis une baisse de 50% de l'infestation totale, mais cette méthode demeure coûteuse (Taki *et al.*, 2014).

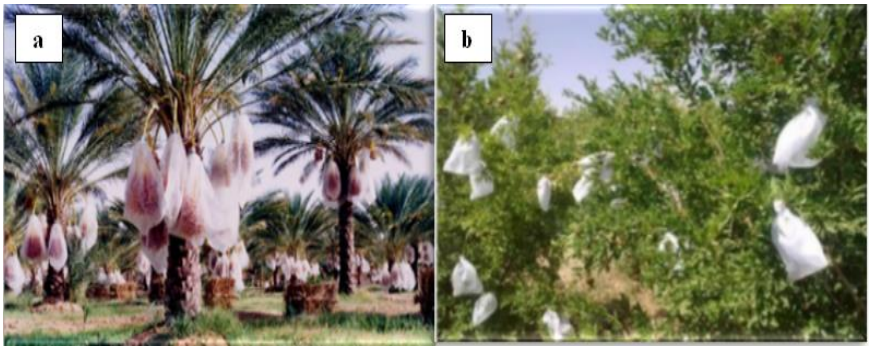


Figure 4 : **a)** Ensachage des régimes de dattes par des sacs plastiques (Ben Sassi, 2011).
Et **b)** Ensachage des grenades par des sacs avec des mailles de 20 x 20 (Taki *et al.*,2014).

Toutefois, la limite de cette méthode réside dans la date de son application. En effet, si elle survient tardivement, elle ne donnera pas le résultat visé et donc l'application de l'ensachage devient coûteuse et techniquement difficile surtout dans le cas de vastes emblavures. Cette opération doit impérativement avoir

lieu avant l'activité des adultes (Dhouibi, 2000 ; Skander Essid, 2011).

VI.2.4.Lutte chimique

La polyphagie de ce pyralide et sa large distribution sur diverses plantes hôtes rendent le développement d'un contrôle chimique efficace difficile (Biliotti et Daumal, 1969).

De plus, compte tenu de la nature endophyte du développement de la pyrale des caroubes, la mise au point d'une lutte chimique efficace est difficile à réaliser (Dhouibi, 1982, 1987).

En effet, lors de l'application de cette méthode, certaines mesures doivent être prises en considération : il faut tenir compte de la présence du stade baladeur de l'insecte, des conditions climatiques, de la cadence des interventions chimiques et de la faune utile (Jammazi, 1994).

Sur palmier dattier, cette méthode a donné de bons résultats, son application consiste à couvrir les fruits par un insecticide afin d'intoxiquer les œufs et les jeunes larves peu de temps après l'éclosion et avant de pénétrer dans les fruits. Ces traitements doivent être répétés au moins trois fois pour assurer une bonne protection de la production. Cependant, la fragilité du système oasien, la polyphagie de la pyrale au niveau des oasis et sa large répartition dans l'espace sur des hôtes variés, rendent la mise au point d'une lutte chimique efficace difficile. De plus, les résidus qui restent sur les dattes traités vont poser un problème surtout au niveau de l'exportation des dattes (Zouba, 2016).

Sur grenadier, du fait de la nature du développement endophyte de ce ravageur et de la position pendante du fruit sur l'arbre, cette méthode n'est pas concluante car le contact insecte-insecticide n'est pas assuré (Dhouibi, 1987 ; Ben Ayed, 2006 ; Ksentini *et al.*, 2010 ; Taki *et al.*, 2014). D'une manière générale, cette méthode représente un risque pour la santé humaine, l'environnement et la faune utile donc il faudrait limiter l'usage de ces produits toxiques et polluants.

VI.2.5.Lutte par les huiles essentielles

L'effet répulsif de l'huile essentielle de l'ase fétide, *Ferula assafoetida* a été testé par Peyrovi *et al.*,(2011) contre les adultes d'*E. ceratoniae*dans un verger de grenadier en Iran.

L'essai consistait à placer 4 ml de mélange (1:1 v/v) de l'huile essentielle et de l'éthanol (utilisé comme solvant) dans une fiole en verre fermé avec un bouchon en liège à une hauteur de 1,5m au niveau de chaque pied traité (Figure 5). Les résultats de cet essai ont montré que le pourcentage des fruits endommagés suite à l'attaque de cet insecte était significativement moins important dans le verger traité que dans le verger témoin. Ces mêmes auteurs ont suggéré que cette technique pourrait être intégrée dans une IPM stratégie contre *E. ceratoniae* dans les vergers de grenadiers.

Figure 5 : Méthode d'utilisation de l'huile essentielle de *Ferulaassafoetida* au niveau du verger de grenadier Peyrovi *et al.*,(2011).

VI.2.6.Lutte par le contrôle de la reproduction

a. ***Piégeage de masse et confusion sexuelle***

L'utilisation de la phéromone sexuelle est une technique polyvalente, qui assure le suivi des populations sauvages, comme elle assure la capture massive du ravageur ou encore sa confusion sexuelle (Bloem *et al.*,2005). Le composé majoritaire de la phéromone sexuelle d'*E. ceratoniae* est le (tetradécatriène-

9Z, 11E, 13-al.) ; d'autres composés minoritaires (des triènes, diènes, monoènesaldéhydes…) ont permis de mettre au point un composé attractif efficace contre la pyrale des dattes (Baker *et al*., 1989; Dhouibi,1989).
La détection de la présence du ravageur et le suivi de sa population sauvage permet de déterminer le moment opportun pour déclencher les traitements (TuğbaUluç et Demirel, 2011).
Le piégeage de masse se sert des phéromones sexuelles dans le but de capturer un nombre maximal de ravageurs permettant ainsi de baisser le taux d'infestation. Cette technique s'est montrée très utile dans les programmes de lutte contre les nuisibles (Bloem *et al*., 2005 ; TuğbaUluç et Demirel, 2011). En Tunisie, son application a permis de baisser le taux d'infestation par *E. ceratoniae* dans les grenaderaies (Mediouni, 2005 ; Ben Ayed, 2006 ; Mejri, 2008) et également au niveau des agrumeraies (Chakroun, 2010 ; Hached, 2012).
Par ailleurs, divers auteurs ont relevé l'importance de la combinaison de ce moyen de lutte avec la stérilité héritée pour réduire au mieux la population sauvage de *Cydia pomonella* (Bloem *et al.*,1999). En Tunisie, la compatibilité et l'association de ces deux méthodes ont également été prouvées dans le cadre de la réduction des populations naturelles d'*E. ceratoniae*(Mediouni, 2005).
La lutte par confusion sexuelle se base sur la diffusion d'une quantité importante de phéromones dans le but de désorienter les mâles afin d'empêcher l'accouplement des adultes et par conséquent la ponte des femelles (Dhouibi, 2000).

b. Technique de l'Insecte Stérile (TIS)

La lutte génétique ou la lutte autocide repose sur le concept de lâcher des insectes stériles ou sub-stériles en vue de supprimer ou d'éradiquer les populations naturelles d'un ravageur donné (Knipling, 1955 ; Mediouni, 2005). La méthode exige la production massive d'insectes compétitifs capables de concurrencer les insectes sauvages, leur irradiation avec des doses stérilisantes ou sub-stérilisantes et leur lâcher de façon inondative dans les parcelles à traiter (Lance et Mc Innis, 2005).
La transmission de la stérilité se fait à travers les générations

ultérieures de l'insecte (Dhouibi *et al.*,2000 ; Abderahmane *et al.*, 2002; Mediouni et Dhouibi, 2003 ; Ben Brahim, 2008 ; Chakroun *et al.*, 2017).

En Tunisie, pour lutter contre la pyrale des dattes, quelques essais de lutte autocide ont été effectués. Des travaux ont été menés au cours des années 2001, 2003, 2004, 2007, 2008 et 2013 dans le but de découvrir les perspectives de cette méthode de lutte biologique contre ce ravageur (Mediouni, 2005; Ben Brahim, 2008 ; Chakroun *et al*., 2017). Des lâchers d'insectes sub-stériles irradiés à la dose substérilisante 400 Gy ont été effectués dans une parcelle de grenadier. Les résultats de l'évaluation de ces lâchers durant ces campagnes étaient assez intéressants. En effet, le comptage effectué durant la période de récolte a donné un taux de fruits attaqués de 1,25% seulement dans la parcelle recevant les lâchers contre 24,99% pour la parcelle témoin (Mediouni, 2005). De plus, la dispersion des mâles stériles au niveau du champ est similaire à celle des mâles normaux et le taux d'infestation est diminué (Ben Brahim, 2008).

L'étude de Chakroun *et al*., (2017) a montré que la dose d'irradiation de 250 Gy a permis une stérilité totale chez la femelle et une stérilité partielle chez le mâle. Alors que la dose de 350 Gy provoque une stérilité totale, également chez le mâle.

Ces résultats sont très prometteurs et conduisent à vulgariser cette approche de lutte biologique à grande échelle dans les palmeraies du sud tunisien. En effet, les oasis tunisiennes présentent un milieu isolé où cette technique peut être appliquée dans le cadre d'un programme national de lutte intégrée (Mediouni, 2005).

Cette technique suppressive donne d'avantage ses fruits si elle survient en plus d'un piégeage de masse qui baisse la population sauvage du ravageur. Pour la réussite de la technique des insectes stériles, l'un des facteurs essentiels est que les lâchers doivent commencer quand le niveau des populations de l'insecte cible est faible (Mediouni, 2005).

c. Perturbation de l'accouplement par la technique de SPLAT

SPLAT® : **S**pecialized **P**heromone and **L**ure **A**pplication **T**echnology commercialisée sous le nom de SPLAT EC-O® : Cette méthode vise à la rupture de l'accouplement en utilisant un imitateur de phéromone sexuelle.
Cependant, plusieurs études ont constamment montré l'incapacité des mâles à localiser les pièges avec les phéromones imitées (Mafra-Neto *et al.*, 2013). Des études réalisées en Tunisie au niveau des palmeraies, grenaderaies et orangeraies ont montré que cette technique est un outil prometteur pour le contrôle d'*E. ceratoniae* Dhouibi *et al.*, (2016, 2017).

VI.2.7. Lutte biologique

Cette technique consiste à contrôler les nuisibles par l'usage de leurs ennemis naturels (Balachowsky, 1972). Ces derniers sont capables de se développer aux dépens d'un grand nombre d'hôtes permettant ainsi de limiter l'extension des ravageurs aux différents stades de leurs développements (Gothilf, 1970).

a. Par un bio-insecticide à base de Bacillus thuringiensis

Bacillus thuringiensis est une bactérie qui agit par ingestion sur les larves de plusieurs espèces de lépidoptères. Etant ingéré par la larve, ce produit agit au niveau de l'intestin et entraîne l'arrêt de la nourriture puis la mort de l'insecte (Dhouibi, 1982). Ce bio-insecticide est caractérisé par : une spécificité vis-à-vis de l'hôte ; non toxique pour les insectes prédateurs, parasites et pollinisateurs et non phytotoxique. Cependant sa toxicité sur les animaux à sang chaud n'est pas nulle (San-Fu *et al.*, 2003).
Plusieurs essais réalisés au niveau du laboratoire ont montré le pouvoir toxique de cette bactérie contre *E. ceratoniae* (Harpaz et Wysok, 1984 ; Alrubeai, 1988 ; Elsayed et Bazaid, 2011 ; Hached, 2012).
Cependant, la réussite d'un traitement à base de *B. thuringiensis* repose sur le fait de faire coïncider le moment de son application avec les premiers stades vivants baladeurs (L1 et L2) à l'extérieur des dattes avant leur pénétration totale dans les fruits. Au niveau des oasis, Dhouibi (1992, 1994) a signalé que l'utilisation de *B. thuringiensis* contre *E. ceratoniae* assure une réduction du taux d'infestation de 60%. Au niveau des

grenaderaies, le taux de contrôle était de 82% après 4 applications (Alrubeai, 1988). Au niveau des orangeraies, Aytas *et al.*,(1996) ont indiqué que ce taux était de 53%.

b. Par les insectes entomophages

Plusieurs travaux de recherche ont permis de déceler un nombre important d'ennemis naturels associés à la pyrale des dattes. Cependant, seuls les parasitoïdes appartenant aux familles des Brachonidae et des Trichogrammatidae ont montré le plus d'efficacité.

- ***Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae)**

C'est un parasite larvaire qui constitue l'un des principaux auxiliaires de la pyrale des dattes (Dhouibi, 1989). En Tunisie, sa présence a été signalée depuis longtemps aussi bien en palmeraie qu'en grenaderaie. La femelle d'*Habrobracon hebetor* doit son efficacité à sa capacité d'aller dénicher son hôte (uniquement la larve âgée) même dans le calice de la grenade. Elle va par la suite le paralyser et pondre dessus (Figure 6).

Une seule chenille est parasitée par plusieurs larves qui restent attachées à elle jusqu'à l'accomplissement de leur développement. Ces dernières ne se détachent qu'à l'imminence de la nymphose (Dhouibi, 2000).

Les lâchers réalisés par Dhouibi (1989) en grenaderais à Ksar-Ghriss ont montré que le taux de parasitisme d'*H. hebetor*sur *E. ceratoniae* varie de 18,75% à 55%.

Les résultats des lâchers d'*H. hebetor*contre *E. ceratoniae* dans les dépôts de stockage des dattes ont montré que ces ecotparasites ont entrainé une réduction de 20,22 % du taux d'infestation. Ce moyen de lutte semble être plus efficace pour la réduction de la population d'*E. ceratoniae*avec 24.3%, s'il est combiné au traitement à la bactospeine pour les dattes stockées (Dhouibi et Jemmazi, 1995).

La limite de cette méthode, est l'emploi d'un grand nombre d'individus aux lâchers et l'augmentation du nombre de points de lâchers par unité de surface car ce parasite se disperse très peu puisqu'il se trouve concentré autour du point de lâcher (Dhouibi et Jemmazi, 1993).

Figure 6 : Adulte d'*H .hebetor* parasitant une chenille de la pyrale (http : // www.ars.usda.gov).

- ***Phanerotoma flavitestacea* Fisher *et Phanerotoma ocuralis* Khol (Hymenoptera:Braconidae)**

Ce sont des Hyménoptères endoparasites de la famille des Brachonidae, fréquents sur les régimes des dattes. *Phanerotoma flavitestacea* pond dans l'œuf de son hôte et se développe à l'intérieur de sa larve (Biliotti et Dumal, 1969). L'utilisation de cet endoparasite a donné un taux de parasitisme de (50%) selon Doumandji-Mitiche et Doumandji (1982) et de 40% selon (Dhouibi *et al.*, 1998).

Phanerotoma ocuralis est un parasite ovolarvaire d'*E. ceratoniae*, il pond dans l'œuf de son hôte et se développe à l'intérieur de sa larve. Il présente un taux de contrôle naturel de 40 % dans les palmeraies (Dhouibi, 2000). Les lâchers inondatifs ne devraient donc que renforcer son action. Effectivement, suite à un lâcher expérimental, ce taux a pu atteindre 80% (Khoualdia *et al.*,1996.b). Cependant, plus les prélèvements ont été éloignés géographiquement du point de lâcher, plus le taux est régressé. Les parasitoïdes n'iraient pas significativement au-delà d'un rayon de 16 m autour du point de lâcher.

- ***Les Trichogrammes***

Les Trichogrammes sont des micro-Hyménoptères Chalcidiens appartenant à la famille des Trichogrammatidae. On en connait actuellement 200 espèces, toutes du genre *Trichogramma*. Ces

parasitoïdes sont de minuscules guêpes dont la longueur du corps varie de 0,2 à 1,5 mm (Pinto et Stouthamer, 1994), de couleur variant du jaune au marron foncé, jamais d'aspect métallique.

Ce sont des parasitoïdes oophages dont la larve se développe à l'intérieur de l'œuf de l'insecte hôte, dont l'embryon est tué très tôt après la ponte du parasitoïde (Voegelé *et al.*, 1974). Les tissus désintégrés et le vitellus de l'œuf hôte vont servir de nourriture à la larve du trichogramme en assurant son développement jusqu'à sa transformation en nymphe puis en imago (Hawlitzky, 1992) (Figure 7).

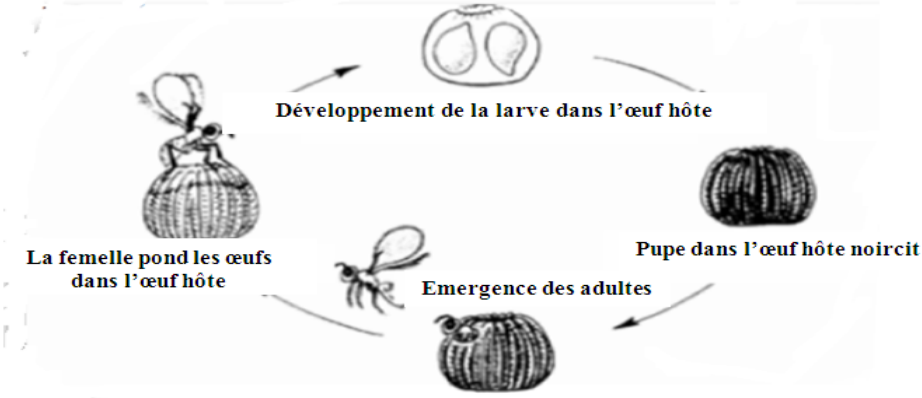


Figure 7 : Cycle de vie du Trichogramme
(http://www.collegecamusauxerre.fr/index.php?numero=159).

L'imago mène une vie libre consacrée à l'accouplement et à la recherche d'œufs hôtes pour y déposer sa ponte. Il se nourrit de matières sucrées comme le miellat de puceron, ou de substances protéiques comme le pollen des fleurs. Les œufs parasités par les trichogrammes prennent un aspect noirâtre au bout de quelques jours, ce qui permet de les distinguer facilement des œufs sains (Voegelé, 1986).

Les Trichogrammes font partie des agents de contrôle biologique des lépidoptères les plus utilisés dans le monde (Li, 1994) grâce aux lâchers inondatifs ce qui exige leurs production en masse. L'élevage de masse des trichogrammes se pratique non pas sur le ravageur cible mais sur un hôte de substitution, beaucoup plus facile à élever.

Les espèces les plus fréquemment employées sont la pyrale de la farine, *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera : Pyralidae) et l'alucite des céréales, *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera : Gelechiidae).

Trichogramma cacoeciae (Marchal) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) est une espèce thélytoque à large répartition géographique (Pinto, 1999) qui se trouve principalement dans les vergers arboricoles.
L'efficacité de ce parasitoïde contre plusieurs lépidoptères tels que le carpocapse du pommier *Cydia pomonella* et le vers de la grappe *Lobesia botrana* a été démontrée (Almatni *et al.*,2002 ; Hommay *et al.*, 2002).
Au cours d'une étude menée par Khoualdia *et al*., (1995) dans les palmeraies tunisiennes sur la dynamique de la population d'*E. ceratoniae ;* des œufs de pyrale parasités ont été observés, il s'agit d'un trichogramme indigène : *Trichogramma cacoeciae* découvert pour la première fois (Figure 8). Plusieurs études ont été réalisées au niveau des palmeraies, des grenaderaies et des agrumearies visant à déterminer l'efficacité de ce parasitoïde dans le contrôle de la pyrale des dattes par des lâchers inondatifs (Khoualdia *et al.,* 1996.a; Lebdi-Grissa et Ben Ayed, 2005; Hached, 2012; Dhouibi *et al.*, 2016).

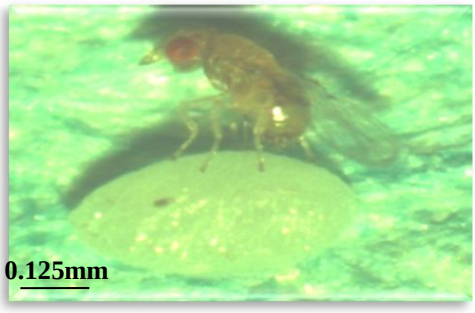


Figure 8 : Une femelle de *Trichogramma cacoeciae* entrain de parasiter un œuf d'*Ectomyelois ceratoniae* (Zouba, 2016).

Cependant, l'utilisation des produits non sélectifs pour les ennemis naturels peuvent réduire considérablement ou éliminer la faune auxiliaire, provoquant l'apparition d'un ou plusieurs organismes nuisibles (Cônsoli *et al*., 2001).

De ce fait, la connaissance détaillée des effets de différents pesticides sur les stades immatures des ennemis naturels aidera à déterminer le calendrier des pulvérisations (Takada *et al*., 2001 ; Ksentini *et al.,* 2010 ; Hached *et al.,* 2017).

C. Techniques de biologie moléculaire

I.Le Barcode : Gène COI

I.1. Intérêt taxonomique du gène COI

La taxonomie du règne animal propose au minimum 10 million d'espèces constituant environ un million de genres (Godfray, 2002). Vu la complexité des critères utilisés, souvent des critères morphologiques, des investigations récentes ont suggéré la faisabilité de l'utilisation de certains marqueurs moléculaires pour faciliter cette taxonomie. Il s'agit de l'étude de la diversité de petites séquences de segments d'ADN (Tautz *et al.,* 2003). De plus, Hebert *et al.,* (2003a.b) proposent le cytochrome c oxydase subunit 1 (COI) comme marqueur de diversité du monde animal. Ce gène mitochondrial code pour une sous-unité d'une enzyme clé dans les chaînes de réactions biochimiques de la respiration (métabolisme aérobie), le cytochrome c oxydase. Cet auteur a montré que le polymorphisme de ce gène est suffisamment conservé pour établir des liens entre les différentes espèces, ordres et phyla. En plus, en raison d'une transmission uniparentale (dans la majorité des phylums d'animaux), d'un taux élevé d'évolution, de l'absence d'introns, de grands nombres de copies dans chaque cellule et d'une recombinaison limitée (Galtier *et al.,* 2009).

Herbert *et al* .,(2003.b) a été le pionnier d'un projet international qui a pour but la mise en place d'une base de données de références qui va permettre d'assigner un nom d'espèce à des isolats non identifiés et d'augmenter la découverte de nouvelles espèces (Schindel et Miller, 2005). Afin de coordonner les projets scientifiques, l'initiative internationale CBOL (Consortium for the Barcode Life) fut créée en 2004 pour promouvoir et coordonner ce projet à l'international dont le résultat est la banque de gènes internationale BOLD (Barcode of Life Database) (Ratnasingham et Herbert, 2007). Cette base de

données compte aujourd'hui 8 790 019 séquences répertoriées dont 281 645 espèces officiellement identifiées.

Outre l'identification de spécimens, le Barcode est, également, présenté comme une solution pour la délimitation d'espèces cryptiques (organismes identiques morphologiquement mais présentant une divergence génétique importante (Bickford *et al.*, 2007) et pseudo-cryptiques (organismes avec une divergence génétique importante mais pouvant être distingués morphologiquement sur la base de différences subtiles mises en évidences a posteriori de l'étude moléculaire).
Ainsi, le Barcode est devenu un outil de choix pour évaluer la biodiversité, permettant l'identification de spécimens en s'affranchissant des données morphologiques. Cet outil permet ainsi l'identification d'individus quel que soit leur stade de développement, ou leur état, qu'ils soient frais ou conservés avec une méthode de préservation ne dégradant pas complètement l'ADN.
Enfin, outre l'étude fondamentale de la biodiversité, cet outil a trouvé de nombreux débouchés en recherche appliquée et même pour des applications industrielles. Par exemple, les approches de type Barcode se sont révélées être un atout précieux en répression des fraudes, dans l'identification des organismes, en particulier dans les cas où l'identification morphologique n'était pas (ou plus) possible du fait de la transformation des produits (Geoffroy, 2012).

I.2. Utilisation chez les lépidoptères

Les lépidoptères ont fait l'objet d'une campagne mondiale de séquençage du gène COI (Lepidoptera Barcode of life, iBOL) avec l'objectif de pouvoir identifier un maximum d'espèces à n'importe quel stade de leur développement (de l'œuf à l'adulte) et de faciliter la découverte et la description de nouvelles espèces. L'amplification PCR d'un marqueur moléculaire dont la séquence spécifique aux lépidoptères a une longueur de 658 paires de bases (pb) portées par le gène du cytochrome c oxydase unité I (COI). Cette région génétique amplifiée est ensuite séquencée et comparée aux séquences connues

cataloguées dans la bibliothèque du BOLD (Ratnasingham et Hebert, 2007). Chaque espèce de papillon possède une séquence de base spécifique à l'espèce sur cette portion normalisée de 658 pb avec peu de variations intraspécifiques.

La séquence utilisée a l'avantage d'être d'une longueur fixe et commune auprès de 76 400 espèces de lépidoptères séquencées à ce jour (Ratnasingham et Hebert, 2007).
Par exemple, sur plus de 11 000 individus représentant 1 300 espèces de papillons récoltées dans l'est de l'Amérique du Nord, le codage à barres a permis d'en identifier 99,3 % avec une divergence intraspécifique aussi faible que 0,43 % (Hebert *et al.*, 2010). La méthode de codage à barres d'ADN, applicable à tous les eucaryotes, permet de réaliser des recensements exhaustifs d'insectes et de détecter des espèces cryptiques ou de nouvelles espèces exotiques parmi les échantillons récoltés (Hebert *et al.*, 2010). L'utilisation du codage à barres ADN dans les protocoles de détection et régulation des ravageurs d'importance économique est une voie d'avenir dans un cadre réglementaire ou de recherche (Floyd *et al.*, 2010). L'identification des spécimens de lépidoptère par codage à barres ADN se fait le plus souvent sur les papillons adultes avec un morceau d'antenne ou de patte (Hausmann *et al*., 2011). Cependant, d'autres études ont démontré la possibilité d'utiliser cette technique pour identifier des larves de Geometridae, Lymantriidae et Coleophoridae (Ball et Armstong, 2006; Emery *et al.*, 2009; Strutzenberger *et al.*, 2010).

II.La RAPD- PCR

II.1. Principe de la technique

RAPD (**R**andom **A**mplified **P**olymorphic **D**NA) ; PCR (**P**olymerase **C**hain **R**eaction**)** C'est l'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe par l'amplification en chaine par polymérase. Il s'agit d'une PCR utilisant une amorce courte d'une dizaine de nucléotides, de séquence arbitraire. Cette amorce va s'hybrider au hasard dans le génome. Si deux sites

d'hybridation sont proches et sur deux brins d'ADN, il y aura amplification (Figure 9). En revanche, si ces deux sites sont trop éloignés, l'amplification n'aura pas lieu. Cela se traduit par la présence ou l'absence d'une bande sur le gel.

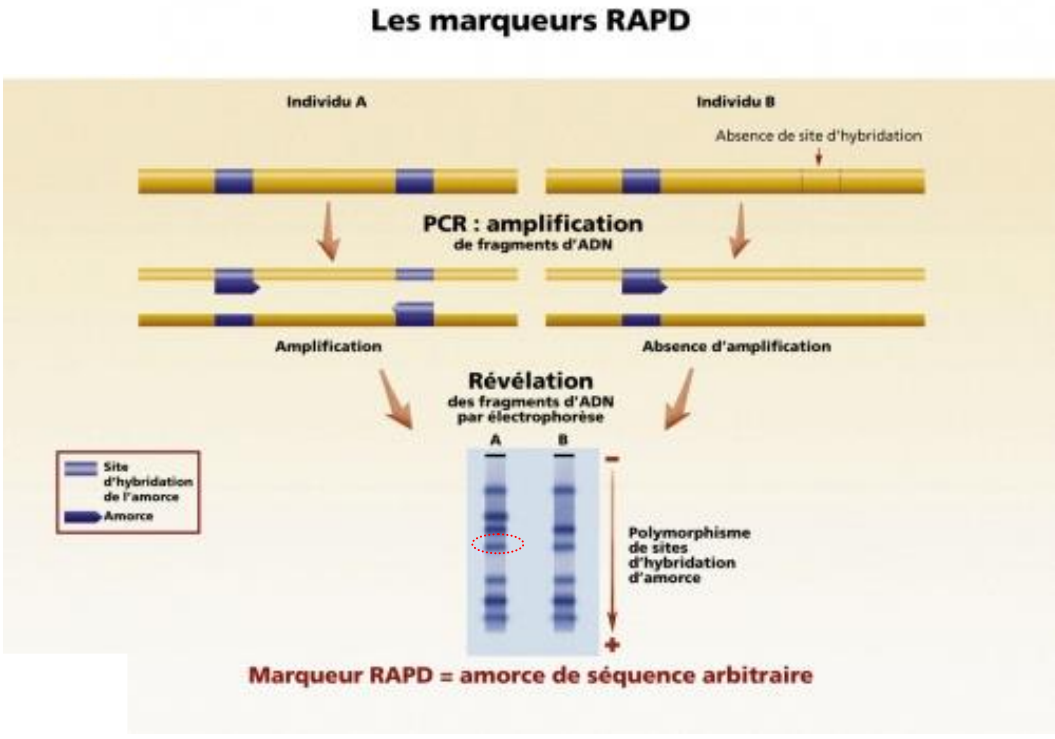


Figure 9 :Principe de la RAPD- PCR
(http://www.gnis-pedagogie.org/biotechnologie-amelioration-marqueur-rapd.html).

Donc, on peut facilement distinguer entre deux ou plusieurs individus. Les amorces constituent donc les marqueurs (Williams *et al.*, 1990). Pour l'ensemble du génome, une dizaine de fragments sont en moyenne amplifiés puis séparés par électrophorèse.

II.2. Utilisation de la technique

Cette technique ne nécessite ni digestion par une enzyme de restriction, ni transfert sur une membrane, ni préparation de sonde radioactive. Elle est donc facile et rapide.

Toutefois, sa reproductibilité est difficile à obtenir. En effet, l'amplification obtenue dépend beaucoup des conditions de réalisation de la PCR.

Ainsi, les résultats sont difficilement reproductibles d'un laboratoire à un autre. LA RAPD-PCR a été largement utilisée dans des travaux visant l'étude du polymorphisme génétique des espèces végétales (Ronning *et al.*,1995 ; Shnell *et al.,* 1995; Shermon *et al.*,2001). De plus, cette technique a été utilisée pour l'étude de la diversité bactérienne (Scieux *et al.,* 1993), la diversité des populations de nématodes (Hashmi *et al.,* 1996) et des espèces animales (Rose, 1991). Comme, il a été démontré que la RAPD-PCR est une technique fiable pour l'étude de la diversité des espèces d'insectes (Kambhampati *et al.*,1992) comme les lépidoptères (Garner et Slavicek, 1996 ; Thakur, 2013), *Cirrochroa aoris* (Zothansangi *et al.,* 2011), *Bombyx mori* (Ribeiro *et al.,* 2009) et *Aedes aegypti* (Ballinger-Crabtree *et al.,* 1992). Récemment la RAPD-PCR a été utilisée pour l'analyse moléculaire d'*E. ceratoniae* collectés du grenadier en Arabie Saoudite (Al-Barty, 2014).

Chapitre II : Importance de quelques ravageurs sur les oranges Thomson : *Ectomyelois ceratoniae*, *Planococcus citri* et*Thrips* spp.

Introduction

Les agrumes en Tunisie abritent une entomofaune assez diversifiée, où la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* constitue le ravageur le plus nuisible de cette culture principalement sur les oranges Thomson (Braham *et al*., 2007 ; Lebdi Grissa, 2010). Cependant, les données sur les niveaux de présence d'autres ravageurs selon les zones de productions agrumicoles sont très limitées. Dans de ce contexte, une enquête était menée en 2013, en collaboration avec le centre technique des agrumes (C.T.A), afin de déterminer les zones agrumicoles (anciennes et nouvelles) les plus touchées par la présence de certains ravageurs d'importances économiques variables sur les oranges Thomson.

Les biotopes d'études couvraient 4 zones de productions agrumicoles : une ancienne (le cap bon) et 3 nouvelles (Morneg, El Alia et Boussalem). Trois ravageurs fructivores des oranges Thosmson ont été visés : la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae*, la cochenille farineuse *Planococcus citri* et les thrips *Thrips* spp.

Pour la pyrale des dattes, les dégâts attribuables à ce pyralide ont étédécelés aux niveaux des vergers agrumicoles tunisiens au cours de la dernière décade (CTA, 2008). De ce fait, la détermination des niveaux de présence de ce ravageur va contribuer à déceler les zones de production les plus attaquées par ce nuisible ce qui va permettre de mieux sensibiliser les agriculteurs aux dégâts qu'il peut engendrer et d'établir une stratégie de lutte efficace permettant son contrôle et limitant sa propagation. Concernant la cochenille farineuse*Planococcus citri*, le but du suivi de sa population imaginale est de vérifier s'il y a une corrélation entre sa présence avec celle d'*E. ceratoniae*au niveau des vergers d'oranges Thomson. Alors que pour les thrips, ces thysanoptères étaient choisis à cause de leurs récents dégâts décelés au niveau des vergers agrumicoles tunisiens (Trabelsi et Boulahia-Kheder, 2009) et dont les données sur leurs niveaux de présence sont très limitées.

I.Matériel et Méthodes

I.1. Biotopes d'études et ravageurs cibles

La prospection sur les niveaux de présences des 3 ravageurs cibles était menée en 2013, sur les oranges Thomson. Les sites de prospection étaient au nombre de 22 répartis sur 4 biotopes et présentées dans le tableau 3. Tous les sites étaient conduits en mode conventionnel avec une irrigation de goutte à goutte.

Tableau 3.a : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope du Cap bon en 2013.

Biotope et Etage bioclimatique	**Parcelles d'études**	**Coordonnées géographiques**	**Ravageurs cibles**	**Périodes de suivis**
Cap Bon (Nabeul) Semi-aride supérieur	**C1** (Grombalia)	36°37'14.9"N 10°30'15.8"E	*E. ceratoniae*	Du 08 Avril à 16 Décembre
			Pl. citri	Du 10 Juin au 28 Octobre
			Thrips spp	Du 20 Mai au 02 Septembre
	C2 (Nianou)	36°37'01.0"N 10°33'03.4"E	*E. ceratoniae*	Du 08 Avril à 16 Décembre
			Pl. citri	Du 10 Juin au 28 Octobre
			Thrips spp	Du 20 Mai au 02 Septembre

	C3 (El Gobba)	36°37'45.1"N 10°34'00.3"E	*E. ceratoniae*	Du 08 Avril à 16 Décembre
			Pl. citri	Du 10 Juin au 28 Octobre
			Thrips spp	Du 20 Mai au 02 Septembre
	C4 (Zaouiet Jdidi)	36°37'52.9"N 10°33'22.2"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre
	C5 (Beni Khaled)	36°38'37.2"N 10°34'52.9"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre
	C6 (Menzel Bouzelfa)	36°40'33.7"N 10°34'28.9"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre

	C7 (Slimen)	36°41'13.3"N 10°31'55.2"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre
	C8 (Bou Argoub-borj Hfaiedh)	36°28'37.5"N 10°36'26.6"E	*E. ceratoniae*	Du 08 Avril à 16 Décembre
			Pl. citri	Du 10 Juin au 28 Octobre
			Thrips spp	Du 20 Mai au 02 Septembre
	C9 (Bou Argoub)	36°32'17.8"N 10°33'39.1"E	*E. ceratoniae*	Du 08 Avril à 16 Décembre
			Pl. citri	Du 10 Juin au 28 Octobre
			Thrips spp	Du 20 Mai au 02 Septembre
	C10 (Slimen-marja)	36°43'16.2"N 10°31'50.5"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre

	C11 (Takelsa)	36°47'07.4"N 10°37'11.7"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre
	C12 (Takelsa-Bir Mroua)	36°48'29.9"N 10°37'33.3"E	*E. ceratoniae*	Du 10 Avril à 17 Décembre
			Pl. citri	Du 11 Juin au 29 Octobre
			Thrips spp	Du 21 Mai au 03 Septembre

Tableau 3.b : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope du Morneg en 2013.

Biotope et Etagebioclimatique	**Parcelles d'études**	**Coordonnées géographiques**	**Ravageurs cibles**	**Périodes de suivis**
Morneg (Ben Arous) Semi-aride supérieur	**M1**	36°43'11.0"N 10°17'09.1"E	*E. ceratoniae*	Du 05 Avril au 20 Décembre
			Pl. citri	Du 14 Juin au 1er Novembre
			Thrips spp	Du 24 Mai au 06 Septembre

	M2	36°40'23.3"N 10°15'58.9"E	*E. ceratoniae*	Du 05 Avril au 20 Décembre
			Pl. citri	Du 14 Juin au 1er Novembre
			Thrips spp	Du 24 Mai au 06 Septembre
	M3	36°39'23.6"N 10°16'28.7"E	*E. ceratoniae*	Du 05 Avril au 20 Décembre
			Pl. citri	Du 14 Juin au 1er Novembre
			Thrips spp	Du 24 Mai au 06 Septembre
	M4	36°37'38.2"N 10°11'45.6"E	*E. ceratoniae*	Du 05 Avril au 20 Décembre
			Pl. citri	Du 14 Juin au 1er Novembre
			Thrips spp	Du 24 Mai au 06 Septembre

Tableau 3.c : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope d'El Alia en 2013.

Biotope et Etagebioclimatique	Parcelles d'études	Coordonnées géographiques	Ravageurs cibles	Périodes de suivis
El Alia (Bizerte) Sub-humide	**A1**	37°12'45.9"N 9°57'29.3"E	*E. ceratoniae*	Du 04 Avril au 19 Décembre
			Pl. citri	Du 13 Juin au 31 Octobre
			Thrips spp	Du 23 Mai au 05 Septembre
	A2	37°11'26.1"N 9°58'33.8"E	*E. ceratoniae*	Du 04 Avril au 19 Décembre
			Pl. citri	Du 13 Juin au 31 Octobre
			Thrips spp	Du 23 Mai au 05 Septembre
	A3	37°10'01.0"N 10°00'13.3"E	*E. ceratoniae*	Du 04 Avril au 19 Décembre
			Pl. citri	Du 13 Juin au 31 Octobre
			Thrips spp	Du 23 Mai au 05 Septembre

Tableau 3.d : Sites de prospection et ravageurs cibles du biotope de Boussalem en 2013.

Biotope et Etage bioclimatique	Parcelles d'études	Coordonnées géographiques	Ravageurs cibles	Périodes de suivis
Boussalem (Jendouba) Sub- humide inférieur	**J1**	36°38'29.3"N 8°57'04.2"E	*E. ceratoniae*	Du 17 Avril au 18 Décembre
			Pl. citri	Du 12 Juin au 30 Octobre
			Thrips spp	Du 22 Mai au 04 Septembre
	J2	36°37'03.02"N 8°59'53.7"E	*E. ceratoniae*	Du 17 Avril au 18 Décembre
			Pl. citri	Du 12 Juin au 30 Octobre
			Thrips spp	Du 22 Mai au 04 Septembre
	J3	36°38'10.6"N 8°57'05.7"E	*E. ceratoniae*	Du 17 Avril au 18 Décembre
			Pl. citri	Du 12 Juin au 30 Octobre

I.2. Suivi des populationsimaginales des différents ravageurs

I.2.1. Piège Delta à Phéromone sexuelle

Le suivi des taux de présences de la pyrale des dattes et de la cochenille farineuse dans les 4 biotopes d'études était mené grâce à l'installation de deux pièges Delta(ISCA® Technologies) au niveau de chaque parcelle d'étude (Figure 10.a).
Le piège Delta est constitué d'une plaque engluée appâtée d'une capsule à phéromones sexuelles spécifiques aux ravageurs visés (Figure 10.b).
Chaque piège était placé à une hauteur de 1,5m au niveau du pied d'agrume. Le nombre de mâles capturés était noté de manière hebdomadaire. Les capsules de phéromones sexuelles étaient changées mensuellement. Les plaques engluées étaient renouvelées mensuellement pour la pyrale des dattes et à chaque semaine pour la cochenille farineuse, aussi en cas de besoin (plaque perdue ou endommagée). Le comptage du nombre d'adultes capturés est effectué au niveau de la parcelle pour la pyrale des dattes et au niveau du laboratoire pour les mâles de la cochenille farineuse sous loupe binoculaire (Leica®).

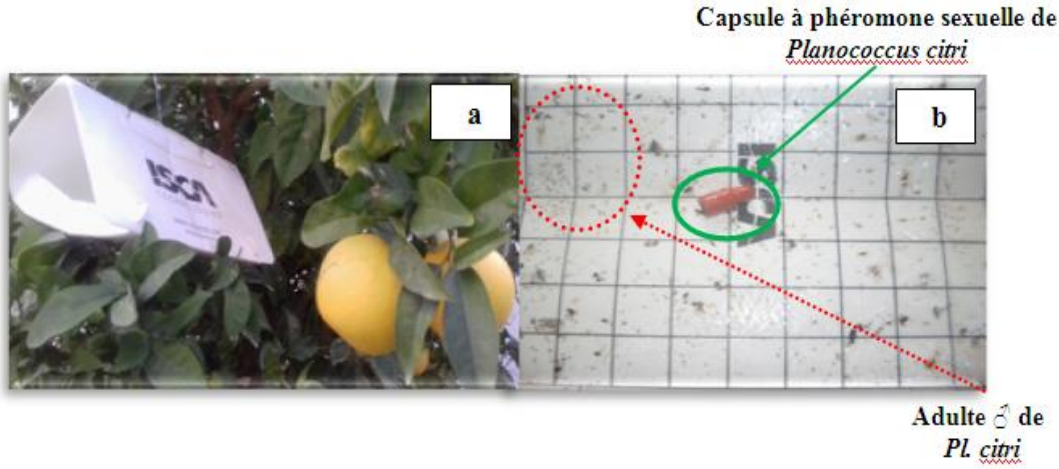


Figure 10 : Piège Delta à phéromone sexuelle:
(a) Piège Delta pour le suivi d'*E. ceratoniae*
(b) Plaque engluée contenant les adultes mâles de *Pl. citri*(Clichés personnels)

I.2.2. Plaques chromo-attractives

Ce sont des plaques engluées de couleur bleu (Horiver®) de dimensions 25 x 10 cmattachées aux arbres des oranges Thomson à une hauteur de 1,5m du coté nord (Figure 11). Une seule plaque bleue était installée par parcelle et changée à chaque semaine. Le comptage du nombre de thrips capturés est réalisé sous loupe binoculaire.

Figure 11 : Plaque engluée de couleur bleue pour la capture des Thrips (https://www.koppert.fr/horiver-tr/).

I.3. Biodiversité au niveau des vergers d'agrumes

La biodiversité désigne la variabilité des espèces de ravageurs dans un biotope donné. La diversité d'une communauté est fonction aussi bien du nombre de taxa (richesse spécifique) que de la régularité avec laquelle les individus sont distribués parmi ces taxa (équitabilité) (Peet, 1974).

Les indices de la diversité d'une population représentent la quantité d'informations représentée par un échantillon donné sur la répartition des individus entre différentes espèces (Roger, 1977).

Nombreuses fonctions mathématiques ont été proposées pour mesurer la diversité mais aucun indice de diversité à lui seul n'est complètement efficace pour décrire exhaustivement la structure des communautés. Afin de mesurer la diversité dans les biotopes d'études, nous avons choisi d'utiliser les indices décrits dans les paragraphes suivants.

Richesse spécifique

La richesse spécifique correspond au nombre d'espèces répertoriées dans un biotope donné. Cet indice décrit la diversité des espèces au sein d'un biotope mais ne tient pas compte de l'importance des espèces les unes par rapport aux autres.

Indice de Shannon ou Shannon-Weaver

Cet indice est utilisé pour évaluer la diversité spatiale et temporelle d'une population donnée dans un biotope ou un ensemble de biotopes (Roger, 1977). Cet indice est calculé à l'aide de la formule suivante:

$$\mathbf{H'} = -\sum_{i=1}^{S} P_i \mathrm{In} P_i$$

Où **H'** : est l'indice de biodiversité de Shannon, **i** est l'espèce du site étudié, **Pi** est la proportion d'espèce i par rapport au nombre total d'espèces (**S**) dans les sites d'étude, sachant que Pi = ni / N où ni est le nombre d'individus des espèces I et N est le nombre total de toutes les espèces(Shannon et Weaver, 1949).
Il convient de noter que ce paramètre, dans la nature, se situe généralement entre 0,5, ce qui indique une très faible diversité, et 4,5.

Indice d'équitabilité

L'indice d'équitabilité de Piélou (1969) permet de mesurer la répartition des individus au sein des espèces, indépendamment de la richesse spécifique. Elle est définie comme étant le rapport de la diversité réelle observée à la diversité maximale théorique.
Sa valeur varie de 0 (dominance d'une espèce) à 1 (équi - répartition des individus dans les espèces) (Roger, 1977).
Elle est calculée par la formule suivante :

$$\mathbf{Es} = H'/\mathrm{Ln}N$$

Où H' est l'indice de Shannon et N est l'effectif total de toutes les espèces.

Dominance

La dominance exprime l'importance de chaque espèce sur un biotope donné. Elle est calculée par la formule suivante :

$$\mathbf{D} = n \times 100 / N$$

Où n est le nombre d'individus appartenant à l'espèce la plus représentée et N est le nombre total des individus dans l'échantillon.

I.4.Analyses des données

L'analyse statistique était effectuée grâce au logiciel SPSS (16.0). Afin de comparer les taux de présence de chaque ravageur entre les différents biotopes d'études, l'analyse de la variance ANOVA a été utilisée avec le test Duncan $p \leq 0,05$.
Tous les indices de diversité ont été mesurés grâce au logiciel PAST®(Paleontological Statistics).

I.5. Données climatiques

Les températures mensuelles moyennes et les pluviométries mensuelles moyennes de chaque biotope pour l'année 2013 sont présentées dans la Planche II. Les moyennes des températures les plus élevées étaient enregistrées durant les mois de juillet et d'août pour tous les biotopes d'études. Les moyennes maximales étaient atteintes au biotope du Cap Bon avec 30°C enregistré au mois d'août suivi de Boussalem avec 28,7°C au mois de juillet. Les températures moyennes les plus basses étaient enregistrées durant le mois de février pour tous les biotopes d'études où la moyenne minimale était enregistrée à El Alia avec 9,6°C.
Les mois les plus pluvieux étaient octobre et novembre pour tous les biotopes d'études où les quantités maximales de précipitations enregistrées étaient de 178,9 mm et 142 mm pour les biotopes d'El Alia et de Boussalem respectivement. Durant la période de mai à août, les quantités de pluies enregistrées sont très faibles ou même nulles pour tous les biotopes d'études.

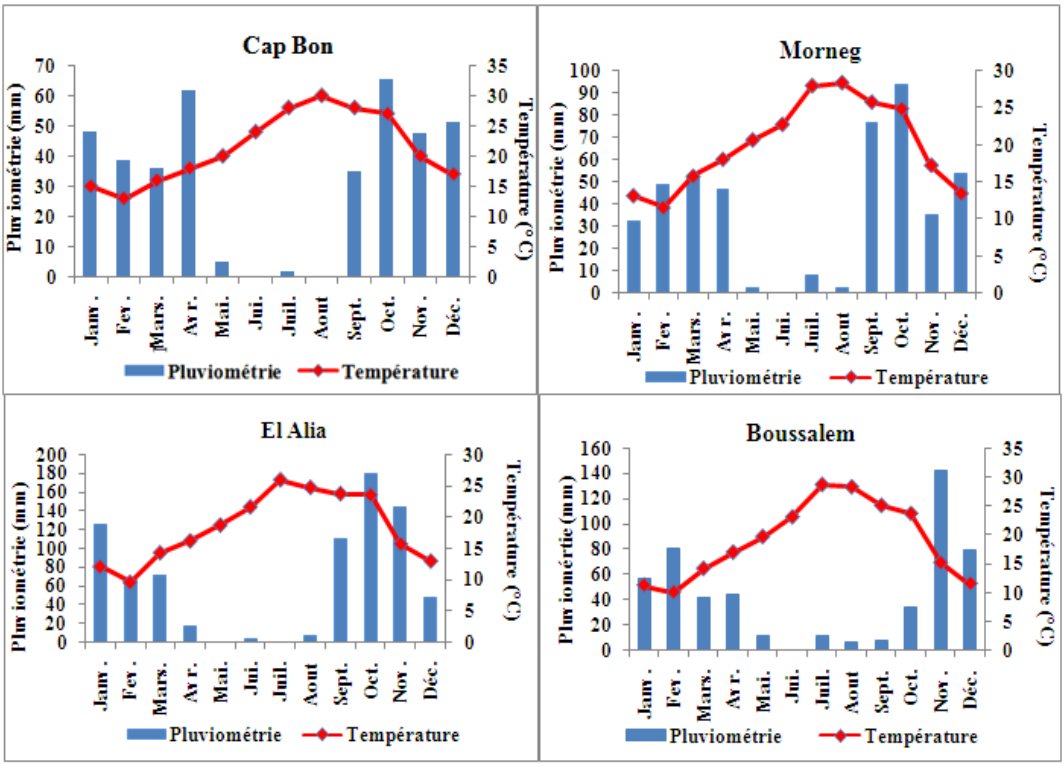


Planche II : Températures moyennes mensuelles et Pluviométries moyennes mensuelles enregistrées pour les 4 biotopes d'études durant l'année 2013 (INM, 2013).

II. Résultats et Discussion

II.1.Niveau de présence de chaque ravageur en fonction des biotopes d'études

II.1.1. La pyrale des dattes

Les variations des taux de présence d'*E. ceratoniae*en fonction des biotopes d'études sont présentées dans lafigure 12. Les niveaux de présence pour chaque biotope étaient calculés grâce à la moyenne des adultes capturés dans les différentes parcelles du même biotope.Les données de la prospection ont montré que le biotope de Morneg est le plus touché par ce ravageur. En effet, une moyenne de 333 mâles capturés durant la période d'avril à décembre était enregistrée pour le biotope de Morneg contre 120, 57 et 50 mâles capturés durant la même période respectivement pour les biotopes du Cap Bon, Boussalem et El Alia.

Ces résultats ont été confirmés par l'analyse de la variance qui a montré une différence significative pour le nombre des pyrales capturées pour le biotope de Morneg (avec P=0,003, F=6,905 et ddl =21).

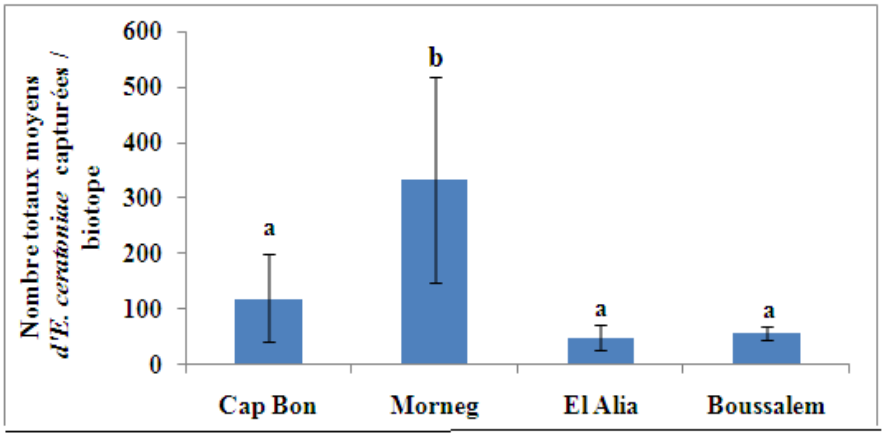


Figure 12 : Variation de la moyenne de pyrales adultes mâles capturées en fonction du biotope entre le mois d'avril et le mois de décembre 2013 au niveau des vergers d'oranges Thomson.

L'importante présence de ce pyralide dans le biotope de Morneg pourrait être expliquée par la proximité des parcelles d'études à des entrepôts de stockage (ce qui va être vérifié dans le chapitre III). Ces résultats ont confirmé la présence de ce lépidoptère dans les différentes zones d'agrumicultures. Des travaux antérieurs de (Chakroun, 2010 ; Belhadj Hamada 2012 ; Hached, 2012 ; Chakroun, 2013 etThlibi, 2013) ont également indiqué la présence de ce ravageur au niveau des agrumeraies du Cap Bon, de Morneg et d'El Alia.

Des prospections récentes réalisées par le centre technique des agrumes (C.T.A) ont noté la présence de la pyrale des dattes au niveau des agrumeraies du Sahel (CTA, 2017). On constate ainsi que la présence d'*E. ceratoniae*couvre toutes les zones de productions agrumicoles en Tunisie.

II.1.2. La cochenille farineuse

Les variations des taux de présences de *Pl. citri*en fonction des biotopes d'études sont présentées dans la figure 13. Les données de la prospection ont indiqué que la cochenille farineuse est présente dans tous les biotopes d'études indépendamment de l'étage bioclimatique qu'il soit semi-aride supérieur, sub-humide ou sub-humide inférieur.

Par ailleurs, le biotope le plus attaqué par ce ravageur était celui de Boussalem, qui appartient à l'étage bio-climatique sub-humide, avec une moyenne d'environ 4000 d'adultes mâles capturés entre le mois de juin et le mois d'octobre 2013. Les biotopes du Cap Bon et de Morneg présentent des taux de capture moyens qui avoisinent les 2000 adultes capturés. Alors que le biotope d'El Alia présente le niveau de présence le plus faible de ce ravageur avec une moyenne d'environ 500 adultes capturés.

L'analyse statistique a montré une différence significative entre ces 4 biotopes (où P= 0,000, F= 10,933 et ddl=21). Jendoubi (2012) a également indiqué que *Pl. citri* est présente, dans tous les vergers d'agrumes des biotopes du Cap Bon, Béjà et Boussalem lors d'une prospection réalisée durant les mois de septembre, octobre et novembre 2009.

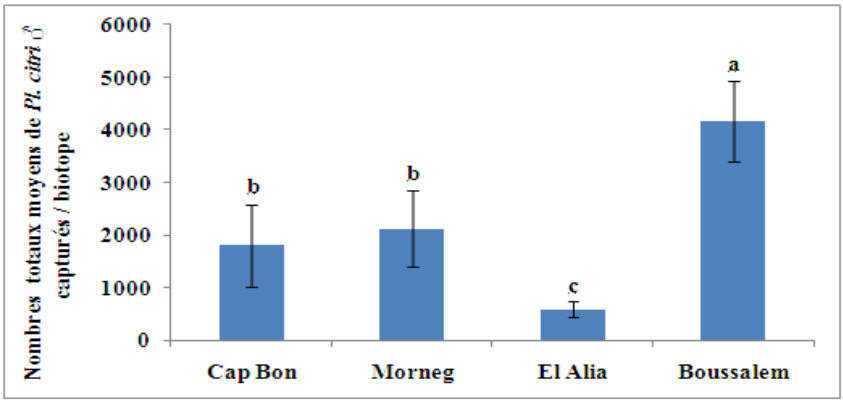


Figure 13 : Variation de la moyenne des adultes mâles de la cochenille farineuse capturés en fonction du biotope entre le mois de juin et le mois d'octobre 2013 au niveau des vergers d'oranges Thomson.

Les caractéristiques abiotiques du biotope de Boussalem, principalement l'humidité relative de l'ordre (60-70%), pourraient expliquer l'importance de la présence de *Pl. citri* au niveau de ce biotope.

Relation entre la présence d'E. ceratoniae et de Pl. citri au niveau des vergers des oranges Thomson

Afin de confirmer si la présence de la pyrale des dattes est associée à celle de la cochenille farineuse au niveau des vergers des oranges Thomson, la comparaison de la fluctuation de leurs populations imaginales a été effectuée pour chaque biotope d'étude durant la même période de suivi des deux ravageurs. Les résultats sont présentés dans Planche III.

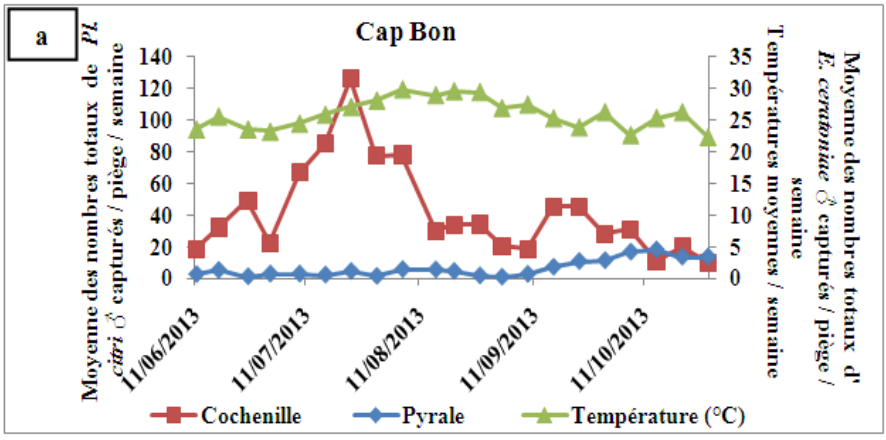


Planche III.a : Comparaisons entre les fluctuations de populations imaginalesd'*E. ceratoniae*et de *Pl. citri* au niveau des vergers d'oranges Thomson du biotope du Cap Bon durant la période du 11 juin au 29 octobre 2013.

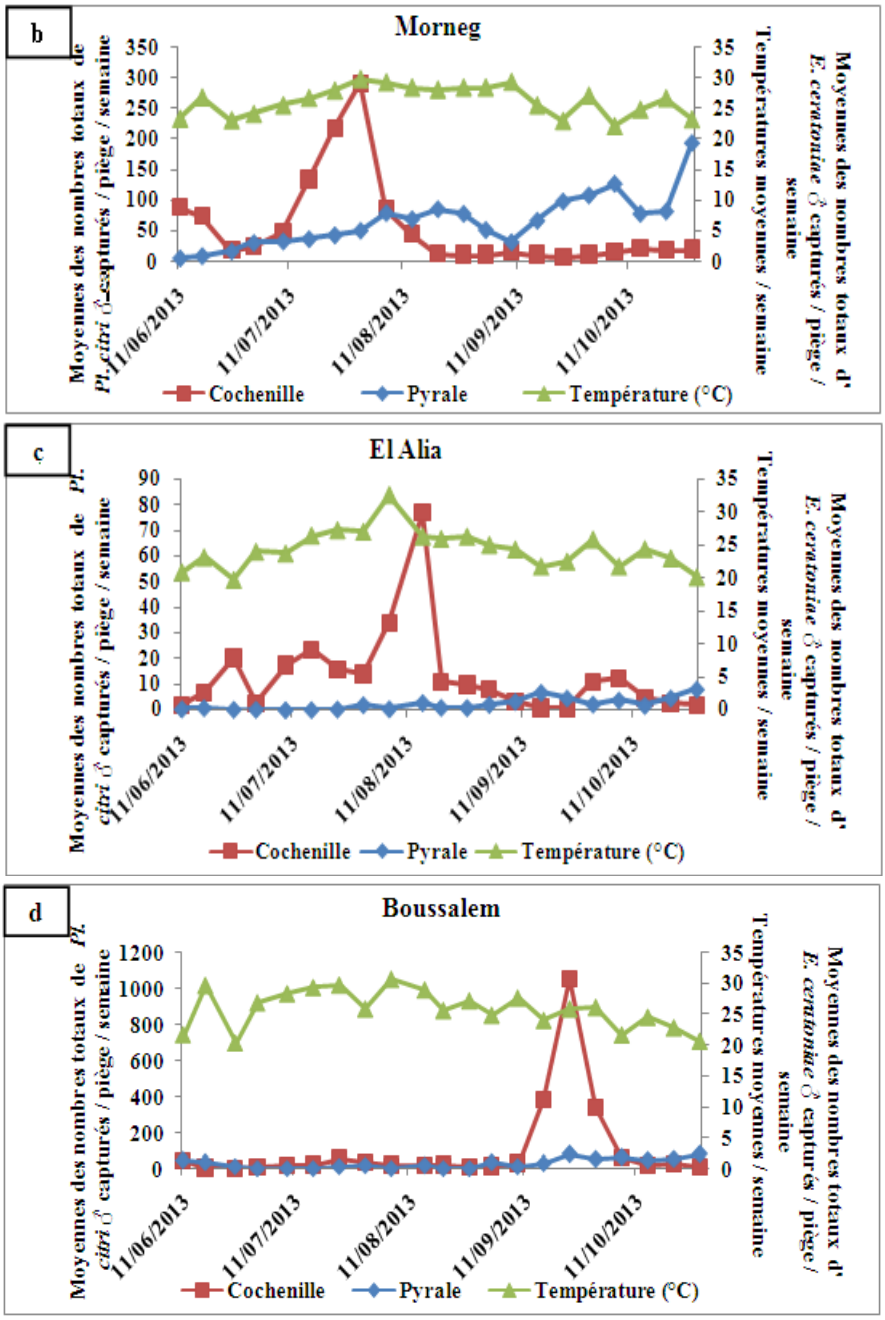


Planche III. b.c.d : Comparaisons entre les fluctuations des Populationsimaginalesd'*E. ceratoniae*et de*Pl. citri* au niveau des vergers d'oranges Thomson répartis sur les 3 biotopes d'études Morneg, El Aliaet Boussalem durant la période du 11 juin au 29 octobre 2013.

La comparaison des fluctuations des populations imaginales de la pyrale des dattes et de la cochenille farineuse au biotope du Cap Bon (Planche III.a) montre que la population d'*E. ceratoniae* est très peu présente dans ce biotope où la moyenne des adultes capturés n'a pas dépassé les 5 adultes par piège durant toute la période de suivi et qui correspondait à une moyenne de 11 adultes capturés de *Pl. citri* (enregistré le 14/10/2013). Alors que pour *Pl. citri*, 4 pics de captures de 49, 126, 34 et 45 adultes capturés ont été enregistrés les (25/06), (23/07), (27/08) et (23/09) qui correspondaient à une moyenne maximale de 3 adultes capturés d'*E. ceratoniae*entre la période du 11 juin au 30 septembre 2013.

Pour le biotope de Morneg (Planche III.b), durant la période du 11 juin au 30 juillet 2013, 2 pics de captures de *Pl. citri* ont été enregistrés les (11/06) et (30/07) avec des moyennes de 88 et 292 adultes capturés alors que les moyennes d'*E. ceratoniae*ne dépassaient pas les 1 et 6 adultes capturés respectivement. Durant la période de début aout au 28 octobre, la cochenille farineuse était peu présente dans le biotope de Morneg avec des moyennes de captures ne dépassant pas les 20 adultes / piège/ semaine, alors que la population imaginale de la pyrale des dattes a montré 3 pics de vols les (20/08), (07/10) et (28/10) dont les moyennes des adultes capturés étaient de 9, 13 et 20 respectivement.

Pour le biotope d'El Alia (Planche III.c), la moyenne des adultes capturés d'*E. ceratoniae* n'a pas dépassé les 4 durant toute la période de suivi alors que la population imaginale de *Pl. citri* a montré 4 pics de vols avec des moyennes de captures de 21, 23, 77 et 12 enregistrées respectivement les (25/06), (16/07), (15/08) et (07/10).

Pour le biotope de Boussalem (Planche III.d), l'activité de vol des 2 ravageurs était faible entre la période de mi-juin jusqu'à la première semaine du mois de septembre où la moyenne des adultes de *Pl. citri* capturés a passé de 30 (le 02/09/2013) à 1050 (le 23/09/2013) qui correspondaient à des moyennes de 1 à 3 adultes capturés d'*E. ceratoniae*respectivement.

Il en résulte alors de ces suivis que la présence de ces 2 ravageurs n'est pas associée au niveau des vergers d'oranges Thomson pour tous les biotopes d'études.

II.1.3. Les Thrips spp.

Les variations des taux de présences des thrips en fonction des biotopes d'études sont présentées dans la figure 14.
Les résultats de cette prospection ont montré la présence de ces nuisibles au niveau de tous les biotopes d'étude. Par ailleurs, leurs taux de présencessont très variables selon les biotopes où le niveau de capture le plus important a été enregistré à Boussalem avec une moyenne qui avoisine les 1300 adultes capturés, alors que le biotope de Morneg a montré le taux de capture le plus faible avec une moyenne qui avoisine les 600 adultes.
Les analyses de la variance ont montré une différence significative pour le biotope de Boussalem avec (P=0,011, F=2,305, ddl=21).

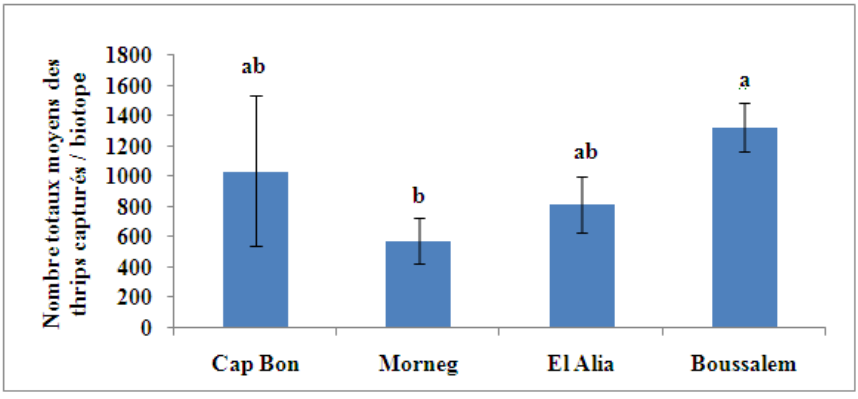


Figure 14 : Variation de la moyenne des Thrips capturés en fonction du biotope entre le 20 mai et le 06 septembre 2013 au niveau des vergers d'oranges Thomson.

Les tauximportants de captures enregistrés au niveau de tous les biotopes pourraient être expliqués par les conditions climatiques de la période de suivi qui correspondaient aux facteurs abiotiques optimales au développement des thrips qui sont une température de 25°C et une humidité relative comprise entre 25% et 85% (Bournier, 1982).
Le biotope de Boussalem présente la population la plus importante de ces thysanoptères ce qui pourrait être expliqué par la proximité des parcelles d'études aux champs plantés par les poaceae et les fabaceae qui représentent des plantes hôtes réservoir de ces nuisibles (Razi *et al*.,2017). Conformément à nos résultats, les travaux de (Hassouna, 2014 ; Belaam Kort et Boulahia Khedher, 2017) réalisées dans les biotopes du Cap Bon, Bizerte et Morneg en 2012 ont également montré la faible présence de ces ravageurs au niveau du biotope de Morneg.

II.2. Diversité des ravageurs selon les biotopes d'études

La diversité des trois ravageurs était étudiée entre 11 juin et 02 septembre 2013, ce qui correspond à la période simultanée de leurs suivis.

II.2.1. Diversité des ravageurs au niveau de chaque biotope d'étude

II.2.1.1. Diversité des ravageurs au niveau du biotope du Cap Bon

Le suivi de la diversité des ravageurs au niveau des parcelles agrumicoles du biotope du Cap Bon est présenté dans le tableau 4. L'évaluation des indices de la diversité au niveau des différentes parcelles de ce biotope a montré que les indices de Shannon les plus élevés étaient enregistrés dans les parcelles C8 suivis de C6, C3 et C10, en ordre décroissant, ce qui reflète un niveau de diversité important. Les parcelles C1, C2, C5 et C9 présentent une diversité moyenne alors que les parcelles C11, C4, C7 et C12 présentent une faible diversité.

La valeur de l'équitabilité la plus importante était enregistrée au niveau de la parcelle C8 ce qui indique l'absence de dominance d'un ravageur par rapport aux autres. Alors qu'au niveau de la parcelle C12, la dominance (de valeur 0,9079) est très élevée.
Pour les autres parcelles d'études, les valeurs de l'équitabilité sont généralement moyennes témoignant d'une répartition variable des 3 ravageurs.

Tableau 4 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude au Cap Bon entre le 11 juin et le 02 septembre 2013.

	Taxons	**Effectifs**	**Dominance**	**Indice de Shannon**	**Equitabilité**
C1	3	2239	0,5307	0,6921	0,63
C2	3	582	0,5575	0,6734	0,613
C3	3	479	0,4974	0,7157	0,6515
C4	3	2227	0,8493	0,2977	0,271
C5	3	911	0,6744	0,6114	0,5565
C6	3	3182	0,4931	0,7318	0,6661
C7	3	4888	0,8499	0,2882	0,2624
C8	3	457	0,4709	0,8735	0,7951
C9	3	1449	0,663	0,5646	0,5139
C10	3	1932	0,5068	0,71	0,6462
C11	3	4526	0,8025	0,3613	0,3289
C12	3	2936	0,9079	0,2146	0,1953

II.2.1.2. Diversité des ravageurs au niveau du biotope de Morneg

Le suivi de la diversité des ravageurs au niveau des parcelles agrumicoles du biotope de Morneg est présenté dans le tableau 5. Les indices de Shannon et d'équitabilité étaient élevés pour les parcelles M2, M4 et M3, en ordre décroissant, témoignant d'une diversité importante avec une répartition variable des 3 ravageurs au niveau de ces sites.

Tableau 5 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude à Morneg entre le 11 juin et le 06 septembre 2013.

	M1	M2	M3	M4
Taxons	3	3	3	3
Effectifs	6197	1962	1651	858
Dominance	0,8556	0,4865	0,5168	0,48
Indice de Shannon	0,323	0,8302	0,7399	0,7944
Equitabilité	0,294	0,7557	0,6735	0,7231

II.2.1.3. Diversité des ravageurs au niveau du biotope d'El Alia

Le tableau 6 représente le suivi de la diversité des ravageurs au niveau des parcelles agrumicoles du biotope d'El Alia. Le nombre de Taxons était de 2 au niveau de la parcelle A3 montrant ainsi qu'un ravageur parmi les 3 ciblés par cette étude était totalement absent lors de la période de suivi du 11 juin au 2 septembre 2013. Les indices de Shannon étaient plus élevés au niveau des parcelles A1 et A3, par ordre décroissant, témoignant de la diversité importante des ravageurs au niveau de ces sites. Alors que la valeur de l'équitabilité la plus élevée était enregistrée au niveau de la parcelle A3 montrant une répartition quasi- équitable des 2 ravageurs recensés.

Tableau 6 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude à El Alia entre le 11 juin et le 06 septembre 2013.

	A1	A2	A3
Taxons	3	3	2
Effectifs	1355	828	1477
Dominance	0,5573	0,7457	0,5895
Indice de Shannon	0,6777	0,4953	0,6007
Equitabilité	0,6168	0,4509	0,8667

II.2.1.4. Diversité des ravageurs au niveau du biotope de Boussalem

Le suivi de la diversité des ravageurs au niveau des parcelles agrumicoles du biotope de Boussalem est présenté dans le tableau 7. Les indices de Shannon et les valeurs d'équitabilité les plus élevés étaient enregistrés au niveau des parcelles J3 et J1, en ordre décroissant, témoignant d'une diversité importante avec une répartition variable des 3 ravageurs au niveau de ces sites.

Tableau 7 : Indices de diversité des 3 ravageurs dans les différentes parcelles de l'étude à Boussalem entre le 11 juin et le 02 septembre 2013.

	J1	**J2**	**J3**
Taxons	3	3	3
Effectifs	1052	1079	1780
Dominance	0,5124	0,8618	0,4977
Indice de Shannon	0,7123	0,2862	0,7187
Equitabilité	0,6484	0,2605	0,6542

II.2.2. Diversité des ravageurs entre les biotopes d'études

Le tableau 8 représente le suivi de la diversité des ravageurs entre les différents biotopes d'études. Etant donné que le nombre de parcelles d'études n'est pas égal entre les différents biotopes, on a opté à considérer les moyennes de captures pour chaque ravageur et pour chaque biotope comme effectifs recensés. Les indices de Shannon et les valeurs de l'équitabilité les plus élevés étaient enregistrés au biotope d'El Alia suivi du Cap Bon témoignant d'une diversité importante avec une répartition variable des 3 ravageurs au niveau de ces biotopes. Alors que le biotope de Morneg présente l'indice de Shannon, ainsi que la valeur de l'équitabilité, les plus faibles montrant ainsi qu'il y a une dominance de certains ravageurs par rapport aux autres au niveau de cette zone de production agrumicole.

Tableau 8 : Indices de diversité des 3 ravageurs entre les différents biotopes d'études entre le 11 juin et le 02 septembre 2013.

	Cap Bon	**Morneg**	**El Alia**	**Boussalem**
Taxons	3	3	3	3
Effectifs	2152	2669	1218	1305
Dominance	0,5154	0,6527	0,5075	0,5269
Indice de Shannon	0,713	0,62	0,7332	0,6927
Equitabilité	0,649	0,5643	0,6674	0,6305

Conclusion

Il en résulte de cette étude que la présence de la pyrale des dattes, de la cochenille farineuse et des thrips est très variable entre les différents biotopes d'études et même au sein de chaque biotope. En effet, au niveau du biotope du Cap Bon, la présence des 3 ravageurs de l'étude est moyenne dans cette ancienne zone de production agrumicole.
Par ailleurs, le biotope de Morneg abrite la population les plus importante de la pyrale des dattes, une population moyenne de la cochenille farineuse alors que les thrips y sont peu présents. Concernant, le biotope d'El Alia, les populations d'*E. ceratoniae*et des *Thrips* spp. sont moyennement présentes dans cette zone alors que celle de *Pl. citri* est peu fréquente.
Quant au biotope de Boussalem, il abrite les populations les plus importantes des thrips et de la cochenille farineuse alors que la population de la pyrale des dattes y est faible.

On en conclut alors, que les biotopes du Cap Bon et d'El Alia présentent des populations moyennes à faibles pour tous les ravageurs ciblés alors que les zones de Morneg et Boussalem sont les plus attaqués. De plus, la présence des populations d'*E. ceratoniae*et de *Pl. citri*n'est pas associée au niveau des vergers d'oranges Thomson pour tous les biotopes d'études.

De ce fait, il est nécessaire d'intensifier les suivis pour les ravageurs dont les effectifs sont encore maîtrisables afin de prévenir leurs multiplications. Alors que pour les ravageurs dominants, il est nécessaire d'adopter des stratégies de lutte adéquate.

Pour le ravageur d'intérêt de la thèse *E. ceratoniae,* la majorité du travail de terrain pour les années de suite va se concentrer dans le biotope de Morneg vu qu'il a montré le niveau de présence le plus important.

Dans le chapitre suivant nous allons étudier la spécificité génétique de ce lépidoptère vis-à-vis les 3 plantes hôtes : palmier dattier, grenadier et oranges Thomson.

Chapitre III : Etude de la spécificité génétique de la pyrale des dattes vis-à-vis trois plantes hôtes : palmier dattier, grenadier et oranges Thomson

Introduction

Ectomyelois ceratoniae est un lépidoptère particulièrement vorace et polyphage qui s'attaque à diverses cultures fruitières. La polyphagie de ce ravageur a favorisé d'avantage son extension géographique en lui donnant l'aspect de cosmopolitisme (Doumandji, 1981).
En Tunisie, ce ravageur est considéré comme la première espèce nuisible aux dattes et aux grenades. Depuis l'année 2008, ses dégâts ont été aussi observés sur les oranges Thomson. En absence de travaux sur la spécificité génétique d'*E. ceratoniae* s'attaquant à ces 3 plantes hôtes, cette étude a été menée en utilisant deux techniques de la biologie moléculaire à savoir la phylogénie du gène cytochrome mitochondriale oxydase (COI) et la RAPD-PCR ainsi qu'une approche phénotypique afin de déceler les variabilités entre les spécimens prélevés de ces trois fruits hôtes.

Partie A : La phylogénie du gène cytochrome mitochondriale oxydase (COI)

I. Matériel et Méthodes

I.1. Plantes hôtes et leurs localisations

L'échantillonnage a porté sur des individus d'*E. ceratoniae* infestant trois plantes hôtes. L'oranger (*Citrus sinensis* var Thomson Navel) cultivé dans la région de Morneg, le Palmier dattier (*Phoenix dactylifera*) cultivé dans la région de Tozeur et le grenadier (*Punica granatum*) cultivé à Testour. Les caractéristiques climatiques et la localisation géographique des sites d'échantillonnages sont résumées dans le tableau 9.

Tableau 9 : Caractérestiques climatiques et la localisation géographique des sites d'échantillonnages avec (**T)** et (**P)** moyennes annuelles de température et de pluviométrie respectivement.

Régions	**Localisation**	**Caractéristiques du climat**	**T (°C)**	**P (mm)**	**Plantes hôtes**
Morneg	Nord est 36° 40' 51"N, 10°17'25"E	Doux et tempéré	18	448	Orange Thomson
Testour	Nord ouest 36° 33'06"N, 9°26'30"E	Doux et tempéré	18,2	450	Grenadier
Tozeur	Sud ouest 33°55' N, 8°08'E	Désertique	21,1	93	Palmier dattier

I.2. Echantillonnage des larves et des adultes

Les larves sont collectées à partir des fruits infestés durant la période allant du mois d'octobre jusqu'au mois de décembre 2015. Les larves sont ensuite conservées dans l'éthanol 96%. Dans le laboratoire, les adultes sont collectés à partir des larves émergées puis placés dans des boites plastiques contenant un milieu d'élevage approprié (Mediouni et Dhouibi, 2007). Les boites d'élevage sont placées dans une chambre de culture (température : 28 ± 1°C; photopériode (L:O), 16:8 ; humidité relative : 65 ± 5%). Les adultes émergés sont sacrifiés en utilisant de l'éther puis conservé à -20°C.

I.3. Analyse Moléculaire par la phylogénie du gène « COI »

L'analyse moléculaire basée sur la phylogénie d'un gène conservé est largement utilisée dans le règne des animaux à savoir le « cytochrome mitochondriale oxydase I ».

Les pattes des adultes ainsi que le deuxième segment des larves ont été utilisés comme matériel biologique pour l'extraction de l'ADN.
Un ensemble de 21 individus a été choisi en se basant sur la plante hôte infestée ainsi que la couleur de l'adulte (sombre ou claire). La préparation des spécimens a été réalisée au laboratoire du musée de zoologie de Munich (ZSM) sous la supervision du professeur Axel Hausmann. L'extraction des ADN des échantillons prélevés de larves, l'amplification PCR des ADN extraits, le séquençage des amplicons de 658 pb, l'édition, l'alignement et les comparaisons des séquences ont été réalisés en collaboration avec les laboratoires de musée de zoologie de Munich (ZSM) et du centre Canadien de l'ADN Barcode (CCDB).

I.4. Extraction de l'ADN et séquençage

Une patte de chaque adulte, et le deuxième segment des larves ont été prélevés et disposés dans les puits d'une plaque de 96 puits. Les plaques contenant les spécimens de pattes des adultes ou les deuxièmes segments des larves ont été conservées à la température ambiante. Les ADN génomiques des pattes des spécimens adultes et les larves ont été extraits, purifiés puis amplifiés selon un protocole d'extraction de l'ADN et d'amplification PCR (Ivanova *et al.*,2006). Ce protocole d'extraction d'ADN a utilisé une plaque AcroPrepTM de 96 puits ayant à sa base une membrane filtrante de fibre de verre au borosilicate qui a une affinité pour les acides nucléiques (PALL Corp. Port Washington, E.U.). Cette plaque filtrante permet d'éliminer les protéines, lipides et autres contaminants cellulaires résultant des étapes de broyage et de lyse dans un tampon chaotropique alors que les ADN sont retenus sur la membrane filtrante lors des cycles de lavages/centrifugation. Les ADN ont été élués par centrifugation dans une plaque de conservation des ADN purifiés de 96 puits.
L'amplification du (COI) a été réalisée avec le couple d'amorce LEP-F1 (5-ATTCAACCAATCATAAAGATAT-3) et LEP-R1 (5- TAAACTTCTGGATGTCCAAAAA-3).
Le programme d'amplification est présenté dans le tableau 10.

Tableau 10 : Programme d'amplification utilisé pour l'amplification du gène COI.

Etapes	Nombre de cycles	T (°C)	Temps (s)
Dénaturation initiale		94	60
Dénaturation 1	5	94	30
Hybridation 1		45	45
Polymérisation		72	60
Dénaturation 2	50	94	30
Hybridation 2		51	40
Polymérisation 2		72	75
Extension finale		72	600

Les produits d'amplification ont été détectés par électrophorèse sur un gel d'agarose à 2 % (p/v) coloré au bromure d'éthidium et visualisés sous lumière ultra-violette (UV). Les images des gels ont été obtenues par une caméra CCD.

Les produits d'amplification ont ensuite été envoyés pour séquençage à la plateforme de séquençage et de génotypage « Canadian Centre for DNA Barcoding, Guelph, Canada (CCDB) ». Les séquences obtenues ont finalement été éditées, analysées et alignées avec le logiciel Genieous 6.1 (Biomatters Ltd.) (Tableau 11.a). Les séquences ont pu être comparées aux banques de séquences disponibles sur le site du NCBI (National Center for Biotechnology Information) qui contiennent des milliers de séquences répertoriées pour le public et notamment des séquences cataloguées dans le BOLD. L'ensemble de ces informations sont rapportés dans le (Tableau 11.b).

Tableau 11.a :Caractéristiques des spécimens utilisés (notre étude).

- ***Pour les plantes hôtes grenadier et oranger***

Stade	Total de l'ADN Barcode	ID Etiquette	Numéro d'accès à la banque de gêne	Abré-viation	Sites	Plantes hôtes
Larve	4	BC ZSM Lep 92 462	GWOTP781-16	P1	Testour (Béja)	Grenadier (*Punica granatum*)
		BC ZSM Lep 92 463	GWOTP782-16	P2		
		BC ZSM Lep 92 464	GWOTP783-16	P3		
		BC ZSM Lep 92 465	GWOTP784-16	P4		
Adulte	1	BC ZSM Lep 92 466	GWOTP785-16	P5		
Larve	4	BC ZSM Lep 92 467	GWOTP786-16	C1	Morneg (Ben Arous)	Oranger (*Citrus sinensis* var Thomson Navel)
		BC ZSM Lep 92 468	GWOTP787-16	C2		
		BC ZSM Lep 92 469	GWOTP788-16	C3		
		BC ZSM Lep 92 470	GWOTP789-16	C4		
Adulte	1	BC ZSM Lep 92 471	GWOTP790-16	C5		

- ***<u>Pour la plante hôte palmier dattier</u>***

Stade	Total de l' ADN Barcode		ID Etiquette	Numéro d'accès à la banque de gêne	Abré-viation	Site	Plante hôte
Larve	4		BC ZSM Lep 92 472	GWOTP791-16	D1	Tozeur (Tozeur)	Palmier dattier (*Phoenix dactylifera*)
			BC ZSM Lep 92 473	GWOTP792-16	D2		
			BC ZSM Lep 92 474	GWOTP793-16	D3		
			BC ZSM Lep 92 475	GWOTP794-16	D4		
Adulte	1		BC ZSM Lep 92 476	GWOTP795-16	D5		
	3	Claire 1	BC ZSM Lep 94 197	GWOTR046-16	DC1		
		Claire 4	BC ZSM Lep 94 198	GWOTR047-16	DC2		
		Claire 6	BC ZSM Lep 94 199	GWOTR048-16	DC3		
	3	Sombre 3	BC ZSM Lep 94 200	GWOTR049-16	DS1		
		Sombre 5	BC ZSM Lep 94 201	GWOTR050-16	DS2		
		Sombre 6	BC ZSM Lep 94 202	GWOTR051-16	DS3		

Tableau 11.b : Séquences de spécimens utilisées à partir de la banque des gênes.

Espèce	Numéro d'accès au (GB) ou BOLDSYSTEMS (BS)	Plante hôte	Abré-viation	Origine géographique
Ectomyelois ceratoniae	BS:GWORB4118-14	-	Italie 1	Italie, Basilicata
Ectomyelois ceratoniae	BS:GWORB4126-14	-	Italie 2	Italie, Basilicata
Ectomyelois ceratoniae	GB: KP083440	agrumes	C6	Afrique du sud
Ectomyelois ceratoniae	GB: KP083442	agrumes	C7	Afrique du sud
Ectomyelois ceratoniae	GB: AEF14023	grenadier	P6	Afrique du Sud
Ectomyelois ceratoniae	GB: JF748065	grenadier	P7	Afrique du Sud
Ectomyelois ceratoniae	GB: AJD76766	-	Kenya	Kenya
Ectomyelois ceratoniae	GB: KF40473	-	Australie 1	Australie
Ectomyelois ceratoniae	GB: KF397550	-	Australie 2	Australie
Ectomyelois ceratoniae	BS: LNAUU175-15	-	USA	Etats Unis, Floride
Tuta absoluta	GB: AMB66595	-	*T. absoluta*	Oman

I.5. Elaboration des arbres phylogénétiques

Deux arbres phylogénétiques ont été construits en utilisant la méthode "Maximum Likelihood » (ML). Le logiciel utilisé est MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013). La fiabilité de ces arbres obtenus a été testée par une analyse de « boot-strap » sur un échantillon de 500 réplications. Le modèle de calcul utilisé est le Tamura-Nei avec délétion complète. Seules les valeurs de Boot-strap supérieures à 50% sont présentées sur l'arbre. Une dizaine de séquences du gène « COI » d'*E. ceratoniae*localisées en Afrique, Europe, Amérique et Australie ont été utilisées dans les arbres phylogénétiques pour faciliter les comparaisons. Enfin, une séquence de *Tuta absoluta* L.1917 a été ajoutée pour inférer l'arbre.

I.6. Variabilité phénotypique des stades larves et adultes

La longueur de chaque larve collectée au 5ème stade de chaque type de fruit hôte a été mesurée grâce à un pied à coulisse (30 larves de chaque fruit hôte). Puis ces spécimens seront placés dans une chambre acclimatée à T= 28 ± 1°C, à photopériode de 16:8 (L:O) et 65 ± 5% d'humidité relative (HR) jusqu'à émergence. Après l'émergence des adultes, leur morphe, claire ou sombre a été notée.

L'analyse statistique était effectuée grâce au logiciel SPSS (16.0). Afin de comparer la variation de la longueur des larves L5 en fonction du fruit hôte, l'analyse de la variance ANOVA a été utilisée avec le test Duncan $p \leq 0,05$.

II.Résultats et Discussion

II.1. La phylogénie du gène COI des spécimens d'*E. ceratoniae*infestant les 3 plantes hôtes

L'étude de la phylogénie du gène « COI » a porté sur 15 spécimens prélevés des trois plantes hôtes à raison de 5 spécimens par fruit hôte. Cependant, l'amplification du gène COI n'a été réussie que pour 14 spécimens uniquement (l'amplification a échoué pour P5).

Un fragment de 658pb a été alors séquencé. Dix séquences de COI appartenant à l'espèce *E. ceratoniae* de différentes régions du monde ont été intégrées dans notre étude afin de comparer les échantillons tunisiens par rapport à ceux séquencés à travers le monde. Ces séquences ont été alors téléchargées à partir du banque de gènes « Genbank and BOLDSYSTEMS database ». Les différentes similarités entre ces séquences ont été déterminées.

Nos résultats montrent que les spécimens tunisiens présentent une similarité allant de 99,4% à 100%. L'arbre phylogénétique du gène COI, présentée dans la figure 15, a montré que nos spécimens sont structurés en trois clusters séparés par une distance de 1%.

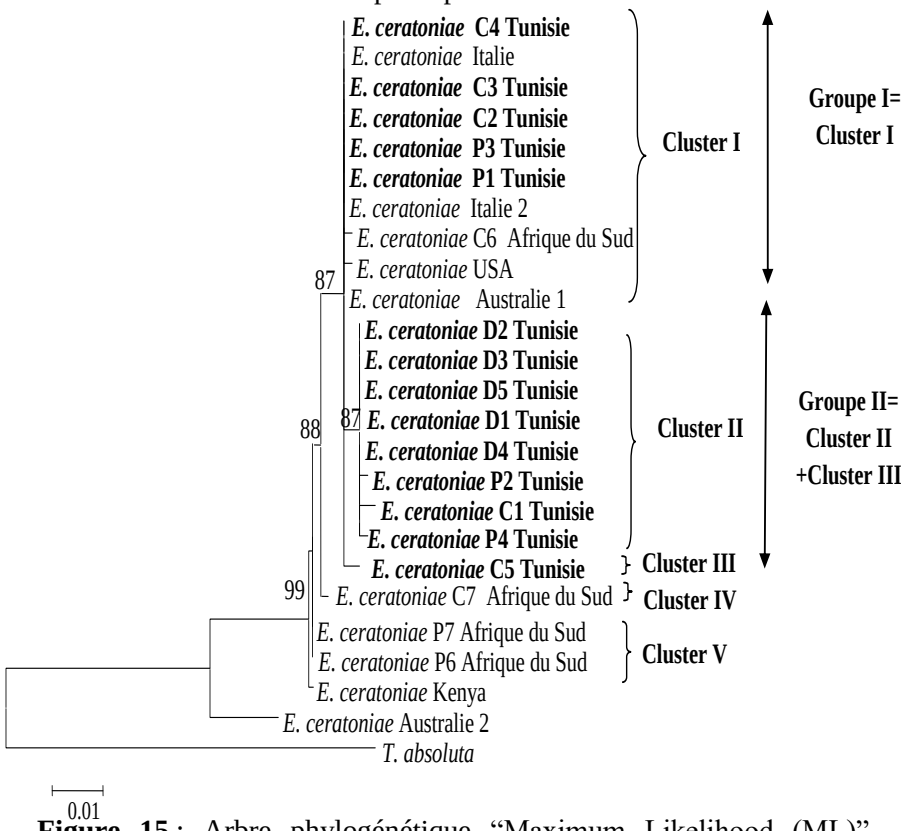


Figure 15 : Arbre phylogénétique "Maximum Likelihood (ML)" incluant 14 spécimens d'***E. ceratoniae***provenant de 3 plantes hôtes de Tunisie(de notre étude) en comparaison avec 10 spécimens d'*E. ceratoniae* du monde entier(études antérieures)**,** construite par le programme MEGA6 (Tamura *et al*., 2013), méthode de bootstrap, 500 répétitions, modèle Tamura-Nei,délétions complètes, seules les valeurs de bootsrap supérieures à 50% sont présentées.

Le cluster I (une valeur de robustesse Boot-strap de 87%) est formé par cinq spécimens collectés de l'oranger [(3/5) : C4, C3 et C2] et du grenadier [(2/4) : P3 et P1]. Ces spécimens présentent des séquences de COI identiques et similaires (identité de 99,8% à 100%) à des spécimens d'*E. ceratoniae* d'origine Africaine, Européenne, Américaine et Australienne.
Le deuxième cluster contient huit spécimens d'origine tunisienne et collectés du palmier dattier [(5/5) : D2, D3, D5, D1 et D4] ; l'oranger [(1/5) : C1] et le grenadier [(2/4) : P2 et P4]. On note aussi que les spécimens collectés du palmier dattier sont homogènes.
Le troisième cluster est formé d'un seul spécimen collecté de l'oranger [C5].
La similarité des séquences du gène COI des spécimens d*'E. ceratoniae* varie de 99,4% à 100%. Ceci est en accord avec des études antérieures qui indiquent que la variabilité entre les individus de la même espèce ne doit pas dépasser 2% chez les lépidoptères (Hebert *etal*., 2003b; Hausmann *etal*., 2011).
Le gène COI a été largement utilisé pour l'identification des espèces des insectes comme *Orgyia trigotephras* (Erebidae : Lymantriinae) (Ezzine *et al*., 2014), ;*Micropeplinae sp*. (Coleoptera: Staphylinidae)(Grebennikov et Smetana, 2015); *Augochlorini* sp. (Hymenoptera: Halictidae) (Gonzalez-Vaquero *etal.*, 2016) ; *Drosophilia* sp. (Diptera: Drosophilidae) (Machado *etal.*, 2017) et *Hoploscopini*sp. (Lepidoptera: Pyralidae) (Mally *et al.*, 2017).
En plus l'évolution de ce gène lui permet non seulement d'être un outil d'identification des espèces d'insectes mais aussi un outil moléculaire adéquat dans les études des phylogénie entre la même espèce (Cox et Hebert, 2001; Hebert *etal.*, 2003b).
La phylogénie du gène COI montre que les spécimens des pyrales tunisiennes sont subdivisés en deux groupes. Le premier groupe est composé par les individus appartenant au cluster I qui est très proche des pyrales collectées à travers différents continents (Afrique, Europe, Océanie et Amérique). En effet, les séquences du gène COI étaient presque identiques chez ces spécimens (Tunisiens et reste du monde) malgré la très grande distance géographique qui sépare ces individus.

Nos résultats sont en discordance avec ceux trouvés par Sedghiani *et al.*,(2017) qui ont émis une hypothèse qui répartie les individus d'*E. ceratoniae*suivant leur origines géographiques.Ceci pourrait être expliqué par le nombre limité des séquences utilisés par ces auteurs comparativement à notre travail. En plus, notre travail a porté sur des individus provenant de trois plantes hôtes et non pas une seule. Par ailleurs, les résultats des travaux deMozaffarian *et al*.,(2007) sont en harmonie avec les notre.

Le deuxième groupe est composé par des spécimens appartenant aux clusters II et III. Ces spécimens sont typiquement tunisiens. Ces spécimens sont génétiquement différents de tout les autres spécimens même ceux provenant de notre continent (Afrique). Ceci suggère que ce ravageur a pu s'adapter à l'environnement tunisien malgré l'origine de ces spécimens (Nord et Sud du pays).

La phylogénie COI a été largement utilisée afin d'étudier l'association entre insecte- plantes hôtes (Shufran *et al.,* 2000 ; Brunner *etal.,* 2004 ; Roset Breeuwer, 2007). Cependant, notre travail est l'unique étude utilisant ce marqueur pour étudier l'intéraction *E. ceratoniae*-plantes hôtes.

Peu de travaux qui s'intéressent à ce ravageur et son degré de spécificité. En utilisant d'autres marqueurs moléculaires comme l'AFLP-PCR pour la comparaison de spécimens d*'E. ceratoniae* prélevés du grenadier, du figuier, du pistachier et du noyer en Iran, Mozzafarrian *et al.*, (2008) ont montré qu'il n y a aucune fidélité de l'hôte chez les populations testées.

II.2. Spécificité génétique de la couleur des adultes d'*E. ceratoniae*émergeants des dattes infestées

Afin d'étudier la variabilité génétique de la couleur des adultes qui ont émergé des dattes infestées, six adultes (trois de couleur claire et trois de couleur sombre) ont été retenus pour une analyse moléculaire. L'arbre phylogénétique du gène COI de six adultes d'*E. ceratoniae* est présentée dans la figure 16.

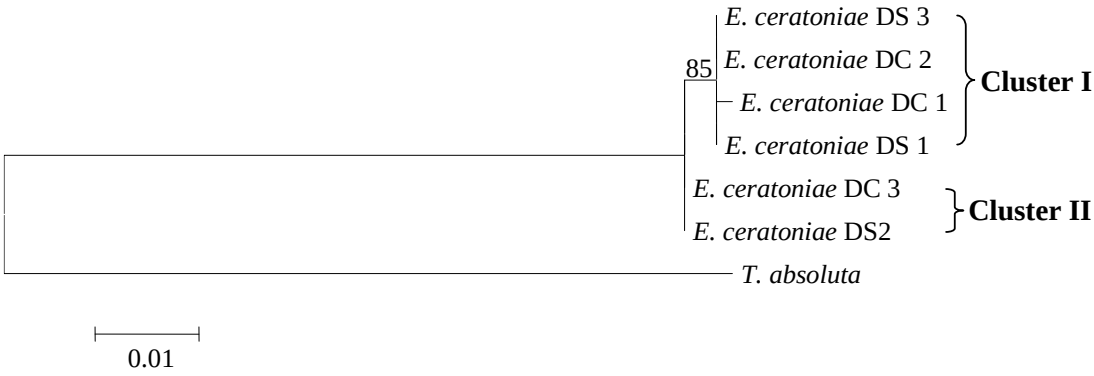


Figure 16 :Arbre phylogénétique "Maximum Likelihood (ML)" incluant 6 adultes d'***E. ceratoniae***émergeants des dattes infestées,construite par le programme MEGA6 (Tamura *et al*., 2013), méthode de boot-strap, 500 répétitions, modèle Tamura-Nei, délétions complètes. Seules les valeurs de boot-strap supérieures à 50% sont présentées.

Les spécimens sont structurés en deux clusters, contenant à la fois des individus sombres et clairs. En effet le cluster I contient 4 spécimens : deux sombres (DS1 et DS3) et deux clairs (DC1 et DC2). Alors que le deuxième cluster contient 2 spécimens : un sombre (DS2) et un clair (DC3). On confirme ainsi l'absence de variabilité génétique entre les morphes d*'E. ceratoniae.*

II.3. Approche phénotypique

II.3.1. Taille des larves

La taille de 30 larves L5 collectées à partir des dattes, de grenadiers et de l'oranger a été mesurée. Les résultats sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12: La moyenne de la taille des larves émergées suivant les fruits hôtes

	Oranges Thomson	**Dattes**	**Grenades**
Longueur moyenne du 5ème stade larvaire (mm)	13,256 ±0,922**a**	12,783 ±0,614**b**	13,386 ±0,860**a**

*Les moyennes suivies par des lettres différentes sont significativement différentes (Duncan's multiple range test).

Les résultats montrent une corrélation positive entre la taille des larves et le calibre des fruits hôtes où une différence significative (P= 0,014 ; $F_{4,453/65,140}$= 1,20) a été notée entre les larves émergeantes des dattes par rapport à celles émergeantes des oranges Thomson et des grenades. Ceci pourrait être expliqué par l'adaptation du ravageur à la taille de son fruit hôte. En effet, la taille des dattes présente une moyenne de 5cm, alors que l'orange et la grenade présentent des calibres supérieurs à 8 cm.

Nos résultats concordent bien avec les travaux de Mozafarrian *et al.*, (2007), qui en comparant la taille et la forme des ailes des adultes d'*E. ceratoniae*prélevés du grenadier, du figuier, du pistachier et du noyer, ces auteurs ont reporté une différence significative parmi les populations associées à la plante hôte. Ce qui suggère que ces différences pourraient ne pas avoir de base génétique et pourraient être dues aux différences de contenu nutritionnel des plantes hôtes.

Par ailleurs, les travaux de Panthi *et al.*, (2016) sur *Diaphania hyalinata* L. (Lepidoptera: Crambidae), ont indiqué une variation de la largeur des capsules céphaliques et la longueur du corps entier de l'insecte suivant les 4 plantes hôtes de cucurbitacées sur lesquels ces nuisibles étaient élevés.

II.3.2.Couleur des adultes : morphe sombre et morphe claire

La couleur de 30 adultes (émergeants des larves) pour chaque fruit hôte a été observée et l'ensemble des résultats sont présentés dans la figure 17.

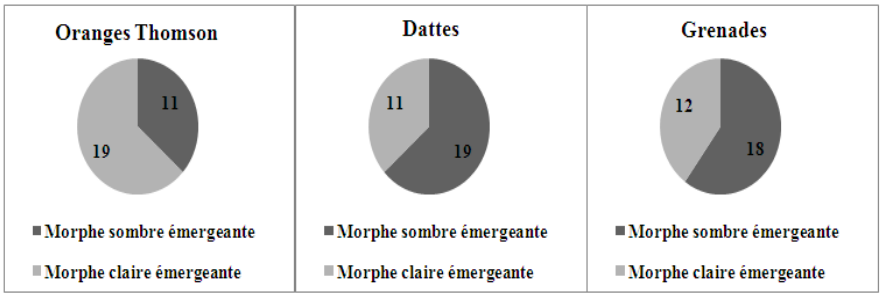


Figure 17 : Variation du nombre des morphes sombres et claires des adultes d'*E. ceratoniae*émergeants des trois fruits hôtes.

Les résultats montrent que les deux morphes, sombre et claire , coexistent pour chaque fruit hôte avec une légère différence des pyrales sombres vis-à-vis des dattes (63,3%) et des grenadiers (60%) par rapport aux pyrales claires qui ont émergé des oranges Thomson (63,3%).
Ces résultats sont en discordance avec ceux trouvés par Pintureau et Daumal (1979) qui ont reporté que les dattes du Nord Afrique, entre autre les dattes tunisiennes, sont attaquées par les adultes de couleur claire alors que les adultes sombres attaquent d'autres espèces végétales comme le caroubier, le figuier et l'oranger. Par ailleurs les travaux d'Idder- Ighili (2008) ont montré que la couleur des adultes d'*E. ceratoniae*varie même en fonction des variétés des dattes en Algérie.
De ce fait, l'interaction du ravageur avec son environnement et la plante attaqué lui permet de s'adapter génétiquement ce qui se traduit par des adaptations phénotypiques lui permettant une invasion assez importante et aussi une augmentation des espèces végétales susceptibles d'être attaquées (Menken *et al*., 1992 ; Feder *et al*., 1993). Ce phénomène d'adaptation a été aussi noté chez plusieurs espèces de ravageurs comme *Synanthedon exitiosa* (Lepidoptera: Sesiidae) (Lait et Hebert, 2018).

Partie B : Caractérisation d'*E. ceratoniae*par RAPD-PCR

I. Matériel et Méthodes

I.1. Echantillonnage des larves

LA RAPD-PCR a été appliquée sur un échantillon de 30 larves L5 d*'E. ceratoniae*. Ces larves ont été récupérées sur trois plantes hôtes dans trois localisations géographiques différentes durant les mois d'octobre à novembre 2015. Les plantes hôtes sont le grenadier cultivé dans la région de Testour, l'oranger cultivé à Morneg et le palmier dattier cultivé à Tozeur. Les larves ont été conservées dans des tubes contenant de l'éthanol absolue (100%) et mis à -20°C jusqu'à usage. Les travaux d'extraction, de PCR et d'analyses moléculaires ont été réalisés au sein du laboratoire des légumineuses du Centre de Biotechnologie de Borj Cédria.

I.2. Extraction de l'ADN

Dix larves de chaque plante hôte ont été choisies pour l'extraction de l'ADN. Chaque larve a été mise dans un eppendorf de 2ml à lequel 200µl d'éthanol absolue a été ajouté. Les larves sont alors écrasées à l'aide de cônes stériles afin d'éviter la contamination par de l'ADN étranger à l'insecte. L'extraction de l'ADN génomique est réalisée grâce à un KIT « SpinKlean Genomic DNA extraction Kit K512 » (BIOMATIK®). La vérification de l'amplification d'ADN est réalisée par électrophorèse horizontale sur gel d'agarose (6x 8x 0,5 cm) 1°/° (Sigma, Médium type II) dans un tampon TAE.
La migration est conduite pendant 30 minutes à 100 V. Le gel est ensuite imprégné dans un bain de Bromure d'Ethidium (BEt) pendant 20 minutes, visualisé sous UV et photographié par un imageur (Biometra) équipé d'une caméra CCD.

I.3. L'amplification RAPD-PCR

La PCR a été réalisée dans un volume total de 25µl. Chaque réaction PCR contient : le tampon PCR10X, 1. U de taq polymérase, 0.25mM de chaque nucléotide (dNTP), 2.5mM de $MgCl_2$ et 100pmole d'amorce et 1µl de l'ADN génomique. L'ensemble est placé dans un thermocycleur (Applied Biosystem, 2720 thermal cycler). Le programme d'amplification est présenté dans le tableau 13.

Tableau 13 :Programme d'amplification de la RAPD-PCR.

Etapes	**Nombre de cycles**	**T (°C)**	**Temps (mn)**
Dénaturation initiale		94	4
Dénaturation	40	94	1
Hybridation		36	1
Polymérisation		72	2
Extension finale		72	5

Trois amorces ont été utilisées dans ce présent travail OPC20 (5'-ACTTCGCCAC-3'), OPA09 (5-GGG TAA CGC C-3) et OPB14 (5-TCCGCTCTGG-3). Ces amorces ont été élaborées par Al Barty (2014) et ils sont capables de générer une diversité importante au sein de la même espèce.
Les produits de l'amplification sont visualisés grâce à un gel d'agarose 1,5%. La présence ou l'absence de bande a été enregistrée afin d'effectuer des analyses statistiques.
Toute l'expérience a été répétée deux fois pour assurer la reproductibilité de la RAPD-PCR.

I.4. Analyses statistiques

Les résultats de la présence ou l'absence de bandes a été traduite en une matrice de distance en utilisant le coefficient de Nei et Li (1979). Cette matrice a été utilisée pour la construction de dendrogramme UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages) généré par le programme (MVSP 3.1 program). Pour mieux étudier les relations génétiques entre les différents individus, une analyse en composante principale (ACP) a été conduite en se basant sur la variabilité des bandes générées par RAPD-PCR en utilisant (MVSP 3.1 software program). Pour l'analyse des marqueurs RAPD, la taille des allèles a été estimée en utilisant un programme d'analyse de gel (gel_analyzer software).
Les différentes analyses statistiques incluant le nombre d'allèles par locus (Na), le nombre effectif d'allèles (Ne), les indices d'hétérozygotie (UHe et Ho), l'indice de Shannon (I) ont été déterminés grâce au programme GenAlEx6 software (Peakall et Smouse, 2006).

II.Résultats

II.1. Paramètres d'analyse de diversité génétique par RAPD-PCR

Trois marqueurs RAPD à savoir OPC20, OPA09 et OPB14 ont été utilisés afin d'étudier la diversité génétique de 30 individus d*'E. ceratoniae*. Le choix des individus est basé sur la plante hôte infestée ainsi que l'origine géographique de l'insecte.

Ces marqueurs ont été utilisés par Al Barty (2014) pour caractériser des individus d'*E. ceratoniae* infestant le grenadier en Arabie Saoudite. Dans ce présent travail, ces marqueurs ont réussi à générer des profils RAPD diversifiés et surtout reproductibles d'individus infestant les trois plantes hôtes (grenadiers, orangers et palmier dattiers). Un exemple de gel est présenté dans la figure 18.

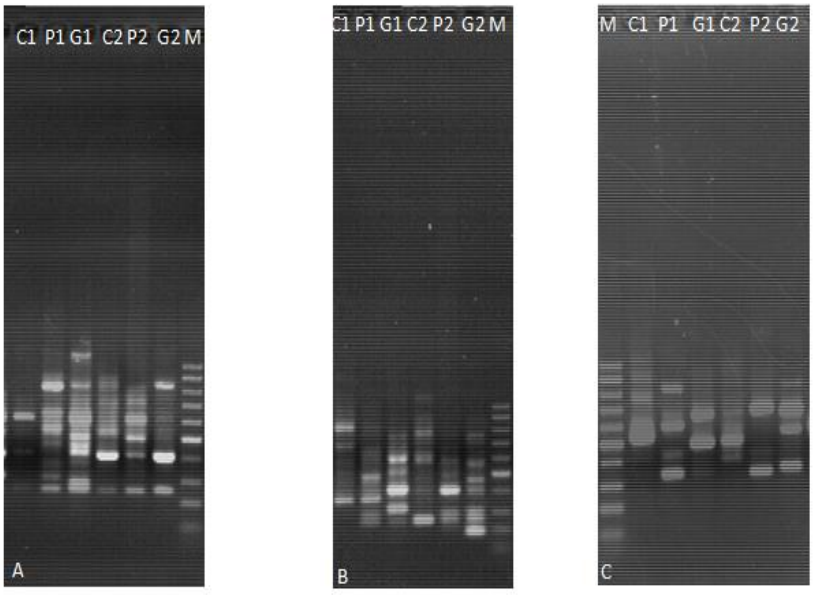


Figure 18 :Profils RAPD généré par les trois amorces. Le Puit **M** = Marquer Moléculaire 100pb. Les puits **C1 –C2** (individus de l'oranger). Les puits **G1 – G2** (grenadiers). Les puits **P1 – P2** (Palmier dattier). **A**: Amorce OPC20, **B**: Amorce OPA09 et **C:** Amorce OPB14.

Au total, 37 allèles ont été détectés. La présence ou l'absence de bandes a servi à élaborer une matrice binaire 0/1 ou « 0 » indique l'absence de la bande et « 1 » indique sa présence. De plus, une autre matrice présentant la taille des bandes générées par la RAPD a été réalisée.

L'ensemble est analysé par un logiciel spécialisé (GenAlEx6 software (Peakall et Smouse, 2006). L'ensemble des résultats est rapporté dans le tableau 14.

Tableau 14: Les différents paramètres de diversité calculés sur la base des résultats de la RAPD-PCR des individus d'*E. ceratoniae* infestant les trois plantes hôtes. **N**: nombre d'individus par population, **Na**: nombre d'allèles différents, **Ne**: Nombre d'allèle effectifs, **I**: Indice de diversité de Shannon, **He**: hétérozygotie observée, **%P**: pourcentage de polymorphisme des loci.

Population	N	Na	Ne	I	He	%P
Grenadier	10	1,811	1,434	0,415	0,268	89,19
Palmier dattier	10	1,730	1,421	0,394	0,256	83,78
Orangers	10	1,568	1,442	0,395	0,262	78,38
Moyenne	10	1,703	1,432	0,401	0,262	83,78

Les paramètres définis dans le tableau 14 peuvent décrire la diversité génétique des populations ainsi que celle des individus qui les composent. Nos résultats ont montré que la moyenne des allèles effectifs (NE) est de 1,432. Le taux de polymorphisme des loci est de 83,78%. Le taux le plus élevé est noté chez les individus infestant le grenadier (89,19%) par contre le taux le plus faible est noté chez les individus infestant l'oranger (78,38%). Le taux d'hétérozygotie observée (He) représentant la moyenne du taux d'individus hétérozygotes par population est de 0,262. L'indice de Shannon est de 0,40.

La distance génétique (distance de Nei) entre les différents individus infestant les trois plantes hôtes a été calculée et présentée dans le tableau 15.

Tableau 15: La distance génétique (Nei's genetic identity)

	Grenadier	Palmier Dattier	Oranges Thomson
Grenadier	*********	0,972	0,925
Palmier Dattier	0,028	*********	0,951
Oranges Thomson	0,078	0,043	**********

Identité génétique

Distance génétique

La distance génétique entre les individus du grenadier et ceux du palmier dattier est la moins élevée avec une distance moyenne de 0,028. De plus, l'identité génétique entre ces deux populations a été la plus grande 0,972.

Cependant la distance génétique entre les individus infestant l'oranger et le grenadier a été la plus haute (0,078) ce qui se traduit par une identité moins élevée (0,925).
L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) a été réalisée afin d'estimer la partition de la variance génétique inter et intra populations. L'AMOVA basée sur les résultats RAPD a montré que la majorité de la variance génétique totale est due à la variance intra-population (95%) alors que la variance génétique inter-population n'est que de 5%.

II.2. Dendrogramme et ACP

Afin d'explorer la relation génétique des spécimens d'*E. ceratoniae*infestant les trois plantes hôtes, le coefficient de « Jaccard » a été calculé.
Des UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean), présentés dans la figure 19, ont été établis en se basant sur les similarités des profils RAPD générés par les trois marqueurs utilisés.

Les résultats montrent l'absence d'une corrélation entre la diversité génétique des spécimens en relation avec leurs plantes hôtes, quatre groupes ont été identifiés :
Le groupe 1 inclus 13 spécimens dont les individus collectés sur palmier dattier (P) sont majoritaires [7/13] : G4, P10, P1, P5, E5, P9, P4, E3, G10, G2, P3, P2 et E1. Par ailleurs, le groupe 2 est formé de 11 individus dont les spécimens infestant l'oranger (E) sont majoritaires [6/11] : G8, G6, P8, G7, E10, E9, P7, E8, E7, E6 et E4. Quant au groupe 3, il est formé par 5 individus avec dominance de ceux émergents du grenadier (G) [3/5] : G5, P6, G9, G1 et E2. Finalement, le groupe 4 n'est formé que d'un seul individu collecté sur grenadier : G3.

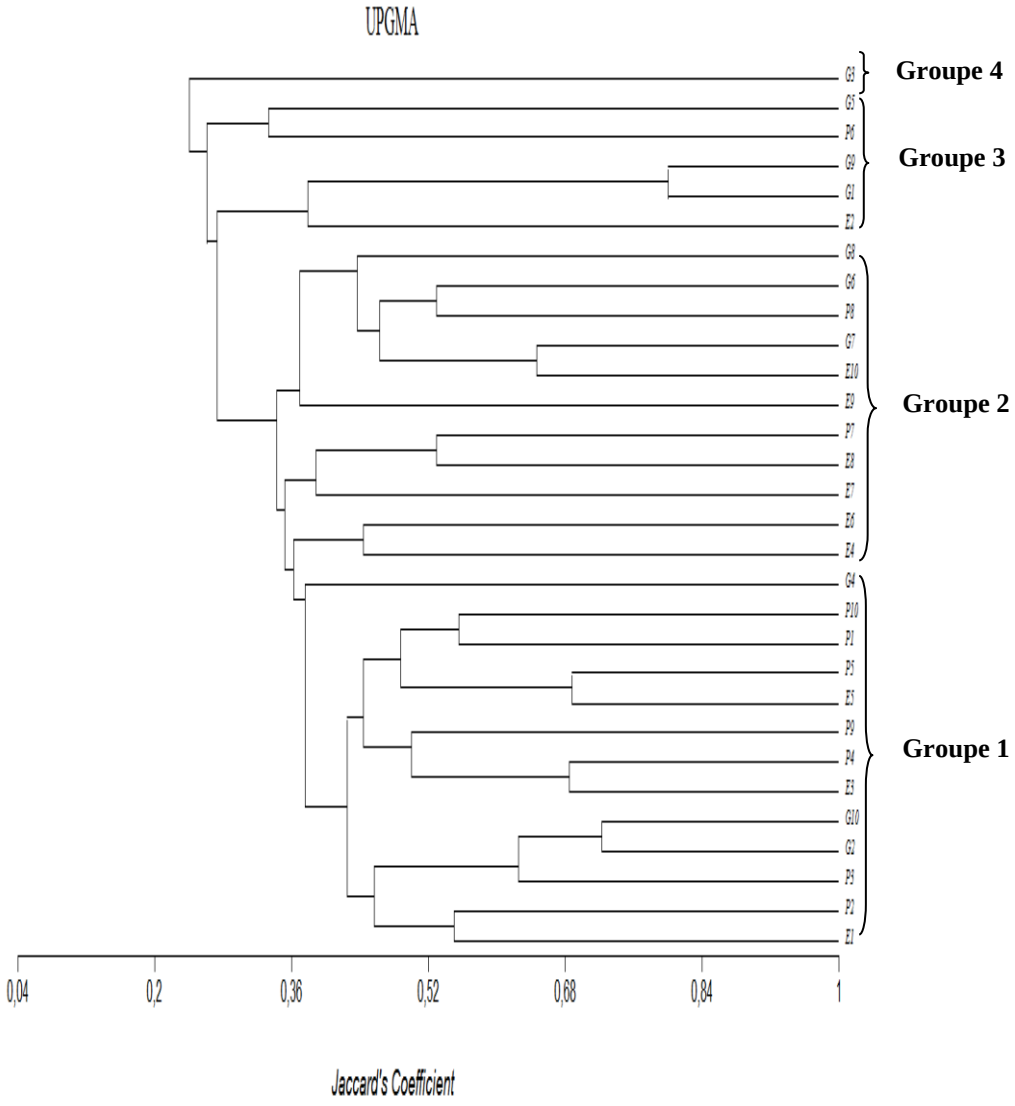


Figure 19:Dendrogramme de 30 spécimens d'*E. ceratoniae*appartenant à trois plantes hôtes (E : Orangers, P : Palmier dattier et G : grenadier) généré par UPGMA analyse des similarités des profils RAPD.

Afin de clarifier les relations entre les populations d'*Ectomyelois ceratoniae* d'origines différentes, une analyse par ACP (Analyse en Composantes Principales) a été utilisée. Les résultats sont présentés dans la figure 20.

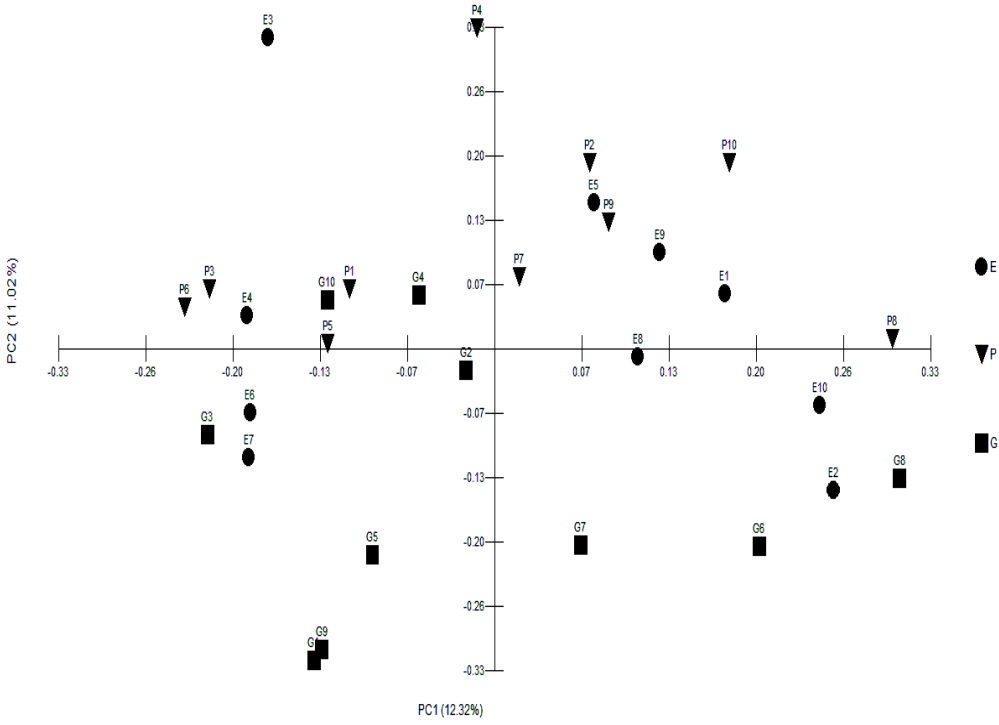


Figure 20: Analyse bidimensionnelle des axes principaux (ACP) des 30 larves d'*E. ceratoniae*appartenant aux trois plantes hôtes. (E●: oranger, P▼: Palmier dattier et G■: grenadier) en utilisant les trois marqueurs RAPD.

Les deux premières composantes représentent 23,34% de la variation totale, dont les composantes principales 1 (PC1) et 2 (PC2) expliquent respectivement 12,32% et 11,02% de la variation.

Le diagramme de dispersion des deux premières composantes principales a montré un chevauchement entre les populations d'*E. ceratoniae*de l'oranger, du palmier dattier et du grenadier. La faible variation décrite par les composantes principales indique que de nombreux locus non corrélés ont contribué à la différenciation entre les populations avec une faible contribution individuelle. Cette analyse a révélé que les populations peuvent être caractérisées par des degrés de séparation variables, mais qu'elles se chevauchent considérablement.

III.Discussion

L'utilisation de trois marqueurs RAPD a permis de générer des profils RAPD diversifiés et reproductibles à partir de l'ADN total de 30 individus appartenant à trois plantes hôtes différentes.

Ces résultats corroborent avec des travaux antérieurs qui ont montré que la RAPD-PCR est une technique importante pour l'analyse de la diversité génétique de plusieurs espèces d'insectes (Léry *et al.,* 2003). En plus, la simplicité, la rapidité, la reproductibilité et le faible cout de cette technique, comparativement à d'autres techniques moléculaires, rend cette technique largement utilisée pour l'étude de la diversité inter et intra espèces (Bettaibi *et al.,* 2012 ; Thakur, 2013; Deivendran *et al.,* 2014). Les différents paramètres de diversité calculés sur la base des résultats de la RAPD-PCR des individus d*'E. ceratoniae* infestant les trois plantes hôtes et la distance génétique entre ces individus (Nei distance) a permis de montrer que les individus infestant le palmier dattier et ceux qui infestent le grenadier sont plus proches que ceux qui infestent l'oranger. Ceci a été noté malgré la distance géographique importante entre ces individus. En fait, les individus infestant le palmier dattier sont collectés de Tozeur (Sud Tunisien) alors que les individus infestant le grenadier sont collectés de Testour (Nord Tunisien). Parfois la distance géographique à elle seule ne peut pas être une barrière aux échanges génétiques entre les individus (Ruggiero *et al.,* 1999) ce qui est montré par nos résultats. En plus, l'adaptation de cet insecte pourrait être expliquée par une diversité génétique importante lui permettant un pouvoir invasif et une rapidité exceptionnelle à occuper d'autres terres et infester de plus en plus de plantes hôtes.

Cependant, comment expliquer le voisinage entre les deux populations d*'E. ceratoniae* infestant le palmier dattier et le grenadier. En effet, en Tunisie le pyrale des dattes attaquaitprincipalement les fruits des palmiers dattiers et cause des dégâts importants. Par la suite, des travaux ont montré qu'il est capable d'infester les grenadiers (Dhouibi, 1982). Ces deux plantes sont généralement en co-culture dans les oasis tunisiennes ce qui pourrait expliquer ce rapprochement génétique entre les individus d'*E. ceratoniae*infestant ces deux plantes.

D'autre part, la transportation humaine pourrait aussi jouer un rôle clé dans l'augmentation du pouvoir invasif de la pyrale de dattes. Ce résultat a été aussi démontré par Failloux *et al.,*(2004) où une corrélation positive entre le passage des gènes parmi les populations d'*Aedes aegypti* et la transportation humaine indépendamment de la distance géographique a été indiquée.

L'analyse de la variance moléculaire (AMOVA) basée sur les résultats RAPD a montré que la majorité de la variance génétique totale est due à la variance intra-population 95% alors que la variance génétique inter-population n'est que de 5%. Ce résultat est attendu puisque la pyrale des dattes occupe des niches écologiques différentes en plus d'une reproduction sexuée qui lui offre des recombinaisons chromosomiques lui permettant une diversité intra-population très importante. De plus s'ajoute un temps de développement rapide et un pouvoir de fécondité important de la pyrale de dattes (Dhouibi, 1982).

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par Bettaibi *et al.,*(2012) sur un autre lépidoptère (*Tuta absoluta*) qui montre une variabilité génétique assez importante lui permettant de conquérir de nouveaux pays tels que la Tunisie.

La relation entre les différents individus a été réalisée en utilisant deux techniques l'UPGMA et l'ACP. L'UPGMA est une méthode permettant la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations, ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné.

L'ACP est une approche à la fois géométrique (les variables étant représentées dans un nouvel espace, selon des directions d'inertie maximale) et statistique (la recherche portant sur des axes indépendants expliquant au mieux la variabilité des données) et permettant d'avoir une idée globale sur le groupement des individus.
Le dendrogramme donné par UPGMA a été confirmé par l'analyse en composante principale. Nos résultats montrent que la distance génétique observée chez la pyrale des dattes est indépendante de leurs plantes hôtes ainsi que leurs localisations géographiques. Ceci suggère que le flux des gènes entre population est indépendant de la distance géographique et apparait sans restriction (Sharma *et al*., 2006). Nos résultats ne corroborent pas avec ceux trouvés par Al Barty(2014) qui ont montré une corrélation positive entre la diversité génétique des pyrales des dattes (collectés sur grenadiers cultivés dans trois régions d'Arabie Saoudite) et la distance géographique.
Cette discordance pourrait être expliquée par la divergence des climats entre la Tunisie et l'Arabie Saoudite. De plus, dans notre étude on a utilisé plus qu'une plante hôte à savoir l'oranger, le palmier dattier et le grenadier.
Cependant, nos résultats sont en harmonie avec ceux trouvés par Mozaffarian *et al*., (2007) qui ont montré que la distance géographique ne joue pas un rôle clé dans la diversité génétique d' *E. ceratoniae* en Iran.

Conclusion

En conclusion, la phylogenie du gène « COI » a montré qu'il n y a pas de spécificité génétique d'*E. ceratoniae*par rapport aux fruits hôtes ni par rapport à la couleur des morphes.

Par ailleurs, la RAPD- PCR a montré que la diversité génétique est importante chez les spécimens analysés d'*E. ceratoniae*et que les populations du pyralide provenant des dattes et des grenades sont plus rapprochées par rapport à celles des oranges Thomson.

Les résultats de cette étude suggèrent que, malgré les effets des barrières géographiques, la forte variation génétique au sein de la population présente un avantage pour le nuisible lui permettant une meilleure flexibilité se traduisant par une adaptation à différentes niches écologiques, l'apparition de nouveaux phénotypes, auxquels s'ajoutent l'élargissement du pouvoir d'attaque vis-à-vis d'autres plantes hôtes.

Malheureusement, peu de travaux s'intéressent à l'étude de la diversité génétique de ce pyralide malgré les dégâts importants qu'il engendre.

En outre, il semble que la capacité d'*E. ceratoniae* à élargir sa gamme d'hôtes sans être fidèle aux hôtes favorise son adaptation diminuant ainsi l'efficacité des méthodes de contrôle utilisées. De ce fait, une meilleure connaissance de sa bio-écologie au niveau des vergers va aider à développer une stratégie de lutte adéquate contre ce pyralide ce qui va être abordé dans les chapitres suivants.

Chapitre IV: Bio-écologie de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson

Introduction

Ectomyelois ceratoniae Zeller 1881 (Lepidoptera : Pyralidae), communément connue sous le nom de la pyrale des dattes ou pyrale des caroubes, est l'un des ravageurs le plus redoutable sur plusieurs cultures et denrées stockées (Gothilf, 1969.a).En Tunisie, cet insecte est nuisible à diverses cultures fruitières particulièrement sur palmier dattier et grenadier où les attaques peuvent atteindre 20 et 90% respectivement (Dhouibi, 1989 ; Abderrahmane *et al.,* 2002).

Sur agrumes, ses dégâts ont été signalés en Chypre et en Egypte sur pamplemousse (Serghiou, 1983 ; Gumpf *et al*., 1996) et en Turquie sur le Washington Navel (Özturc *et al.,* 2011).

En Tunisie, les dégâts attribuables à ce pyralide ne sont apparus que depuis une dizaine d'années sur les oranges Navels (CTA, 2008). Dans le but de clarifier certains aspects sur la bio-écologie de ce ravageur au niveau des vergers d'oranges Thomson, ce chapitre vise à : suivre la fluctuation de sa population imaginale, déterminer les taux de dégâts qu'il peut engendrer, déterminer son site de nymphose, ainsi qu'à déterminer la cause de son envahissement des vergers agrumicoles.

L'étude de ces différents paramètres pourrait contribuer à établir une méthode alternative de lutte contre ce nuisible.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Suivi de la fluctuation de la population imaginale d'*E. ceratoniae*

Le suivi de la population imaginale d'*E. ceratoniae*était mené grâce à l'installation de deux pièges Delta à phéromones sexuelles par parcelle (comme indiqué dans le chapitre II).

I.1.1. Au niveau des 4 biotopes d'études en 2013

Les parcelles d'études sont présentées dans le Tableau 3 du deuxième chapitre.

I.1.2. Au niveau des 3 parcelles d'études de Morneg en 2014

Les 3 parcelles d'étude sont localisées dans la région de Morneg et sont conduites en mode conventionnel avec un système d'irrigation en goutte à goutte et une densité de plantation de 6x4 m. Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 16.

Tableau 16 : Caractéristiques des parcelles d'études du biotope de Morneg en 2014.

Biotope et Etage bioclimatique	**Parcelles d'études**	**Coordonnées géographiques**	**Période de suivi**
Morneg Semi-aride supérieur	P1	36°43'11.0"N 10°17'09.1"E	Du 10 avril au 25 décembre 2014
	P2	36°38'18 .7"N 10°12'52 .6"E	
	P3	36°40'57 .9"N 10°15'30 .8"E	

I.2. Estimation du taux d'infestation d'*E. ceratoniae*

Pour l'année 2013, un total de cents fruits chutésétait récupéré chaque mois au hasard de chaque parcelle d'étude de fin juillet à mi décembre 2013.
Alors que pour l'année 2014, une trentaine de fruits chutés étaient récupérés au hasard chaque semaine de début aout jusqu'à la première semaine de décembre 2014.
Ces fruits prélevés sont examinés au laboratoire sous loupe binoculaire afin de vérifier leurs attaques par la pyrale des dattes et déterminer la structure de population de ce nuisible.

I.3. Détermination du site de nymphose d'*E. ceratoniae*

I.3.1.Détermination du site de nymphose au niveau du terrain

Afin de déterminer le site de nymphose de ce ravageur, différentes méthodes étaient suivies :

- Au niveau des brises vents (Cyprès) : des prélèvements d'échantillons ont été réalisés sur les feuilles et les fruits des arbres et au niveau du sol afin de rechercher le stade nymphe.
- Au niveau des frondaisons des arbres de Thomson Navel

- des prélèvements d'échantillons sur 5 pieds Thomson Navel (à raison d'un prélèvement / semaine / pied durant le mois de janvier 2015) ont été effectués sur la partie superficielle du sol avec tamisage sur place (Figure 21). Un second prélèvement est réalisé avec une tarière manuelle afin de récupérer des échantillons de sol jusqu'à 30 cm de profondeur (à raison d'un prélèvement / semaine / pied durant le mois de janvier 2015). Les échantillons de sol sont ramenés au laboratoire et filtrés à travers un tamis à faible mailles par rinçage sous un filet d'eau afin de rechercher les nymphes.

- Installation des pièges à eau à raison d'un piège / pied de Thomson Navel (Figure 22), au total 10 pièges ont été installés. Le but de cet essai était de suivre le comportement des larves se préparant à la nymphose. Le contenu de ces bassines était vidé et filtré chaque semaine et ramené au laboratoire pour être analysé.

- Prélèvement de feuilles de Thomson Navel chutées et enroulées afin de rechercher le stade nymphe.

Figure 21: Tamisage de la couche superficielle du sol (Cliché personnel, 2015).

Figure 22 : Piège à eau installé sous la frondaison du pied (Cliché personnel, 2014).

❖ Sur le pied même du Thomson Navel

- Installation des bandes pièges au niveau du collet et au niveau des branches (Figure 23 a.b) dans le but de suivre le comportement des larves se préparant à la nymphose.

Ces bandes étaient installées sur 10 pieds de Thomson Navel (une bande au niveau du collet et 3 bandes au niveau des branches).

- Ecorçage du pied d'agrume afin de rechercher le stade nymphe.

Figure 23 : Bande piège au niveau du tronc (a) et des branches (b) (Cliché personnel, 2014)

I.3.2. Détermination du site de nymphose au laboratoire

I.3.2.1. Elevage de la pyrale des dattes au laboratoire

a) Préparation du milieu d'élevage

Le milieu d'élevage est composé essentiellement de son de blé comme présenté dans le tableau 17. La préparation du milieu est simple et relativement rapide. En effet, la première opération consiste à stériliser le son de blé dans l'étuve à la température de 100°C. Tous les ingrédients seront par la suite mixés afin d'avoir un mélange homogène. Après agitation, on ajoute de l'eau distillée ce qui permet d'obtenir une pâte homogène et moelleuse.

Une quantité de 500 gr de ce milieu d'élevage est mise dans chaque boite qui sera contrôlée tous les 3 à 4 jours. Une petite quantité d'eau distillée va être ajoutée en cas de besoin pour éviter le dessèchement du milieu.

Tableau 17: Composition du milieu d'élevage de la pyrale des dattes : pourcentage des ingrédients pour 1000 g du milieu (Mediouni, 2005).

Ingrédients	Proportions
Son de blé	60%
Saccharose	12%
Glycérine	12%
Eau distillée	10%
Levure de boulanger	2,3%
Mixture des sels	2,0%
Vitamine C	0,67%
Auréomycine (bactéricide)	0,67%
Méthyle parabène	0,13%
Lysine	0,3%

b) Matériel biologique

En premier lieu, les différents stades larvaires de la pyrale sont collectés à partir de dattes infestées, puis placés dans des boites en plastique contenant du milieu d'élevage, à une température de 27°C ± 1, une humidité relative de 65±5% et une photopériode de 16 heures de lumière et de 8 heures d'obscurité. Le suivi est effectué jusqu'à émergence des imagos.
En deuxième lieu, les adultes émergés sont collectés et mis dans des boites en plastique préalablement désinfectées à l'alcool 70°, et tapissées par du papier filtre qui va servir de support de ponte pour la femelle de la pyrale des dattes (Figure 24.a).
Au bout de 3 jours, les œufs restent collés au papier et commencent à virer au rose indicateur de leur fertilité. Les papiers filtres seront alors déposés sur le milieu artificiel dans des boites en plastique, dans les mêmes conditions citées auparavant (Figure 24.b).

Le suivi de l'évolution est réalisé jusqu'à l'émergence d'une nouvelle génération d'adultes.

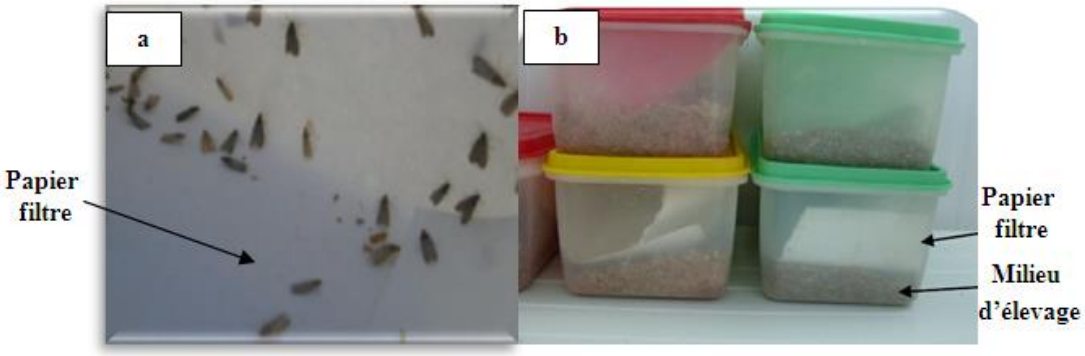


Figure 24 : a). Adultes d'*E. ceratoniae*se préparant à l'accouplement ; puis b)Dépôt du papier filtre contenant les œufs fertiles sur le milieu d'élevage

I.3.2.2. Protocole expérimental de la détermination du site de nymphose au laboratoire

Une cage en bois de longueur 0,5 m, de largeur 0,2 m et d'épaisseur 0,1m était construite pour mener cet essai. Les 4 parois sont en verre transparent pour faciliter les observations. La cage était remplie jusqu'aux 2/3 par du sol ramené d'un verger d'agrumes, puis ce sol serait recouvert de feuilles de Thomson Navel à la surface (Figure 25). A chaque répétition, 5 larves de stade L5, prises de l'élevage, étaient placées sur le sol pour suivre leur comportement de nymphose jusqu'à émergence des imagos. Au total 5 répétitions étaient effectuées (25 L5).

Les données obtenues sur la préférence du site de nymphose pour les L5 étaient analysés par le logiciel SPSS16, l'analyse de la variance ANOVA a été réalisée et la comparaison des moyennes était effectuée avec le test Duncan $P \leq 0,05$.

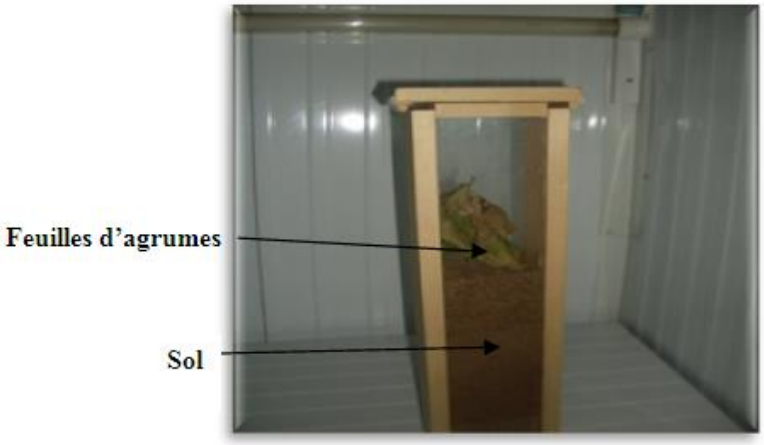


Figure 25 : Cage en bois pour suivre le comportement de nymphose de la pyrale des dattes (Cliché personnel, 2016).

I.4. Les entrepôts de stockage peuvent ils être responsables de la propagation de la pyrale des dattes au niveau des vergers agrumicoles?

Le but de cet essai était de vérifier si les entrepôts de stockage avoisinants des parcelles d'agrumes pouvaient constituer une source d'infestation de ces dernières. L'entrepôt choisi est situé au Km 24, route de Zaghouan Bourbiaa (36°35'52.4"N 10°06'58.4"E), autour duquel il n'y a que des cultures céréalières. Les 5 pièges Delta à phéromones sexuelles d'*E. ceratoniae*étaient installés le 13 mars 2014 et l'essai se poursuivait jusqu'à 20 novembre 2014. Chaque piège était accroché à un piquet en bois enfoncé dans le sol à une hauteur de 1,5m (Figure 26.a).L'emplacement des pièges était comme suit: le 1er juste à côté de la fosse de déchets (Figure 26.b) et les 4 autres à 50, 100, 150 et 200m de distance. Les suivis étaient réalisés chaque 15 jours pour dégager une relation entre les dates d'arrivage des fruits hôtes de la pyrale (dattes ou grenades) à l'entrepôt et le nombre des adultes de la pyrale capturés au niveau des pièges de suivis.

Figure 26 : Suivi d'*E. ceratoniae*autour de l'entrepôt de stockage a).Piège Delta accroché à un piquet, b)Fosse de déchets de 6 m de profondeur (Clichés personnels, 2014).

I.5. Données climatiques de Morneg en 2014

Les données climatiques de la région de Morneg en 2014 sont présentées dans la figure 27 qui montre que les mois les plus pluvieux sont septembre et octobre avec des moyennes mensuelles de 76,5 et 93,8 mm respectivement. De plus, ce biotope se caractérise par un hiver relativement doux dont la températuremoyenne des mois les plus froids (janvier, février et décembre) avoisine les 14°C.L'humidité relative mensuelle moyenne est de 66%.

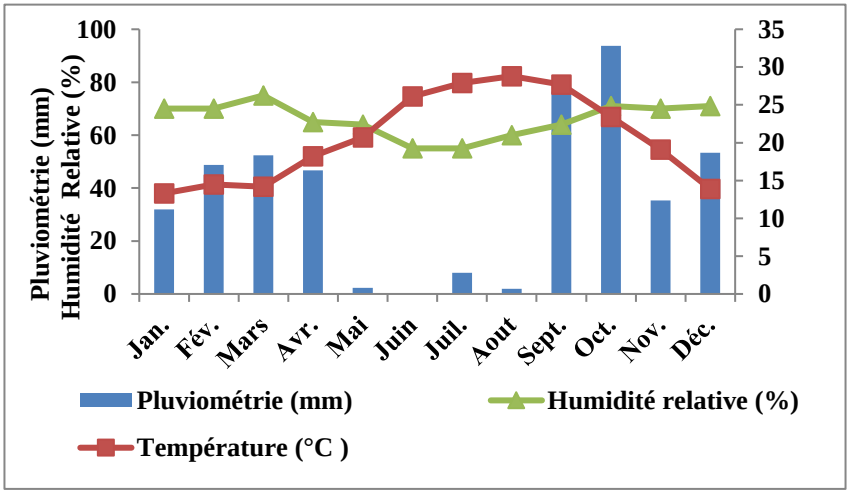


Figure 27 : Moyennes mensuelles de Température, de Pluviométrie et d'Humidité relative enregistrées pour le biotope de Morneg en 2014 (INM, 2014).

II. Résultats et Discussion

II.1. Fluctuation de la population imaginale d'*E. ceratoniae*

II.1.1.Au niveau des 4 biotopes d'études en 2013

Les résultats des suivis des courbes de vols d'*E. ceratoniae*pour 2013sont présentés dans la figure 28 qui montre que pour tous les biotopes d'études, la première apparition de la pyrale des dattes dans les vergers d'oranges Thomson était notée vers mi-avril et l'activité de ce ravageur était maintenue jusqu'à fin novembre. De plus, la fluctuation de la population imaginale de ce lépidoptère a montré une synchronisation des générations entre les différents biotopes d'études. En effet, 5 générations se sont succédées durant cette période, la première était enregistrée entre mi- avril et mi- juin avec une moyenne de capture qui n'a pas dépassé les 5 adultes capturés par piège, la deuxième et la troisième génération ont chevauché entre mi- juin et mi-septembre avec un maximum d'une moyenne de 9 adultes capturés par piège et par semaine pour le biotope de Morneg. Durant cette même période, l'activité de la pyrale des dattes pour les 3 autres biotopes était pratiquement similaire et faible vue que le nombre maximal d'adultes capturés n'a pas dépassé 2. La quatrième génération était enregistrée entre mi- septembre jusqu'à la troisième semaine du mois d'octobre avec un maximum de 13 adultes capturés pour le biotope de Morneg (09/10/2013) et la cinquième génération était enregistrée de fin octobre jusqu'à fin novembre qui correspond à la génération la plus importante où la moyenne du nombre maximal d'adultes capturés a atteint 20 adultes (30/10/2013) pour le biotope de Morneg.

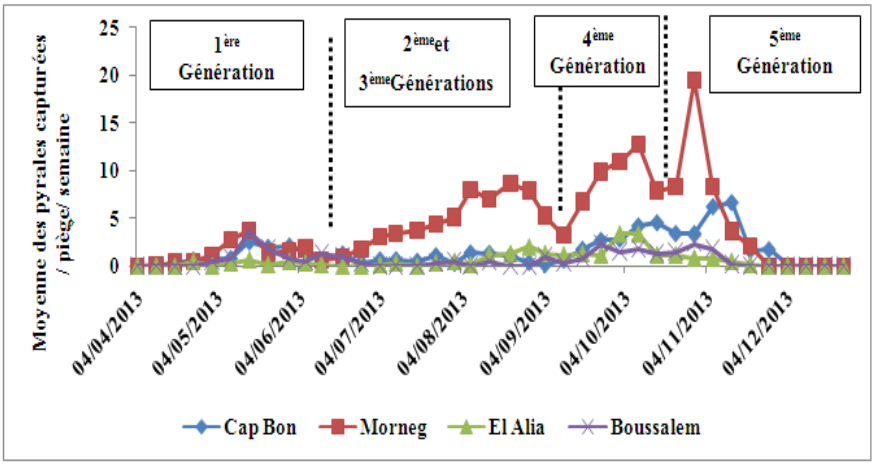


Figure 28 :Fluctuation de la population imaginale de la pyrale des dattes en fonction du biotope d'étude entre le mois d'avril et le mois de décembre 2013 au niveau des vergers d'oranges

La comparaison des courbes de vols pour toutes les parcelles d'études de chaque biotope est présentée dans la planche IV.

Au niveau du biotope du Cap Bon (Planche IV.a), la comparaison des courbes de vols d'*E. ceratoniae*au niveau des 12 parcelles d'études a montré que l'apparition des premiers vols des adultes était échelonnée entre les différentes parcelles du 17 avril pour (C2, C5, C7, C8 et C9) jusqu'au 27 mai pour (C12). La première génération (de début avril à fin mai) était faible pour toutes les parcelles avec des moyennes maximales de captures de 5 adultes par piège et par semaine. Les pics de captures les plus importants étaient enregistrés entre les mois de septembre et de novembre (période d'activité de la 4ème et la 5ème génération qui sont les plus nuisibles), avec une variabilité importante entre les parcelles où les moyennes variaient de 17 à 0,5 adultes capturés respectivement pour (C6) et (C8).

Quant au biotope de Morneg, (Planche IV.b), le premier pic de capture (enregistré le 17/05) était pratiquement égal entre les 4 parcelles d'études, qui variait entre 3,5 et 4 adultes par piège et par semaine, puis pour la 2ème et la 3ème génération, les parcelles (M1) et (M2) présentaient les pics de captures les plus importants avec des moyennes respectives de 13 et 22,5 pour (M1) et de 6,5 et 9 pour (M2) alors qu'au niveau des 2 autres parcelles les pics les plus importants n'ont pas dépassé les 2 adultes par piège.

La quatrième génération était plus importante au niveau de (M1) avec un pic de capture de 27 adultes alors qu'il variait de 10,5 à 11,5 pour les 3 autres parcelles. Les derniers pics de captures étaient pratiquement égaux entre les parcelles (M1, M3 et M4) avec des moyennes de 23 ; 22,5 et 22,5 respectivement alors qu'au niveau de la parcelle (M2) une moyenne maximale de 11,5 adultes par piège a été enregistrée.

Pour le biotope d'El Alia (Planche IV.c), l'apparition des premiers vols des adultes était très échelonnée entre les 3 parcelles : le (18/04) pour (A1), le (16/05) pour (A2) et le (11/09) pour (A3). Les pics de captures pour les deux premières générations étaient pratiquement égaux entre (A1) et (A2) avec des moyennes respectives variant de 1 à 1,5 ; alors qu'au niveau de la parcelle (A3) ces deux premières générations étaient absentes. Pour les 3 dernières générations, l'activité de vols des adultes d'*E. ceratoniae*était similaire entre les parcelles d'études. En effet, pour la troisième génération, les pics de captures étaient de 3 ; 2,5 et 3 adultes respectivement pour (A1), (A2) et (A3). Pour la 4ème génération, les moyennes maximales d'adultes capturés étaient de 3 ; 1 et 1 respectivement pour (A1), (A2) et (A3). Pour la 5ème génération les pics de captures étaient de 3 ; 1,5 et 4 adultes respectivement pour (A1), (A2) et (A3).

Pour le biotope de Boussalem (Planche IV.d), la fluctuation de la population imaginale d*'E. ceratoniae* était similaire entre les 3 parcelles d'études. L'apparition des premiers vols des adultes était simultanée pour les 3 parcelles d'études. Les deux premières générations apparaissaient de début mai jusqu'à fin juin avec des pics de captures de (3,5) et de (2) adultes par piège et par semaine respectivement. La troisième génération était faible avec un pic de capture de 1 adulte par piège. Les deux dernières générations apparaissaient entre début septembre et mi novembre avec un maxima de capture de 3 adultes par piège.

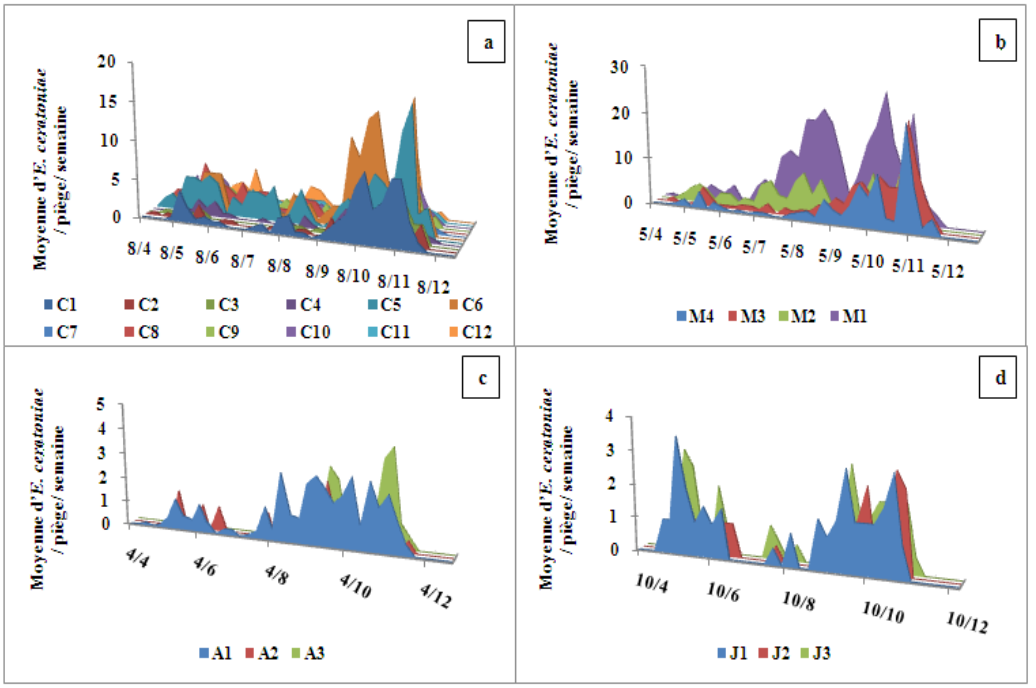


Planche IV : Fluctuation de la population imaginale de la pyrale des dattes au niveau de toutes les parcelles d'oranges Thomson des 4 biotopes d'études entre le mois d'avril et le mois de décembre 2013.

II.1.2. Au niveau des 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014

Afin de confirmer les fluctuations de la population imaginale d'*E. ceratoniae*, unautre suivi était mené en 2014 qui s'est concentré dans le biotope de Morneg et dont les résultats sont présentés dans la figure 29.En comparant les courbes de vols de la pyrale des dattes entre les parcelles appartenant au même biotope de Morneg, les premiers vols étaient enregistrés à partir du 17 avril pour « P1 » et « P3 » et dès le 02 mai pour « P2 ».
Une synchronisation des périodes d'envols était notée avec une succession de 5 générations : la première «G1» s'est étalée entre mi –avril et le 05 juin, la deuxième «G2» du 05 juin jusqu'au 07 août. Ces deux premières générations présentaient un niveau de capture faible et correspondaient aux générations les moins nuisibles.

La troisième «G3» s'est étalée du 07 août au 18 septembre et qui était plus importante au niveau de «P1» avec un pic de capture de 32 adultes / piège / semaine enregistré le 28 août alors qu'au niveau des deux autres parcelles, cette moyenne n'a pas dépassé les 4 adultes/piège.
La quatrième «G4» s'est étalée du 18 septembre jusqu'à 09 octobre et présentait des pics de captures de 28 adultes/piège le 03 octobre 2014 au niveau de «P1» et de 25 adultes/piège le 25 septembre au niveau de «P3» alors qu'au niveau de « P2 » le pic de capture n'a pas dépassé les 7 adultes /piège le 25 septembre.
Quant à la cinquième génération «G5», elle s'est étalée du 09 octobre jusqu'à début décembre et dont les pics de captures étaient de 27 ; 24 et 10 adultes/piège respectivement pour « P3 », « P1 » et « P2 » enregistrés le 23 octobre. Les quatrième et cinquième générations présentaient une activité très similaire entre « P1 » et « P3 ».

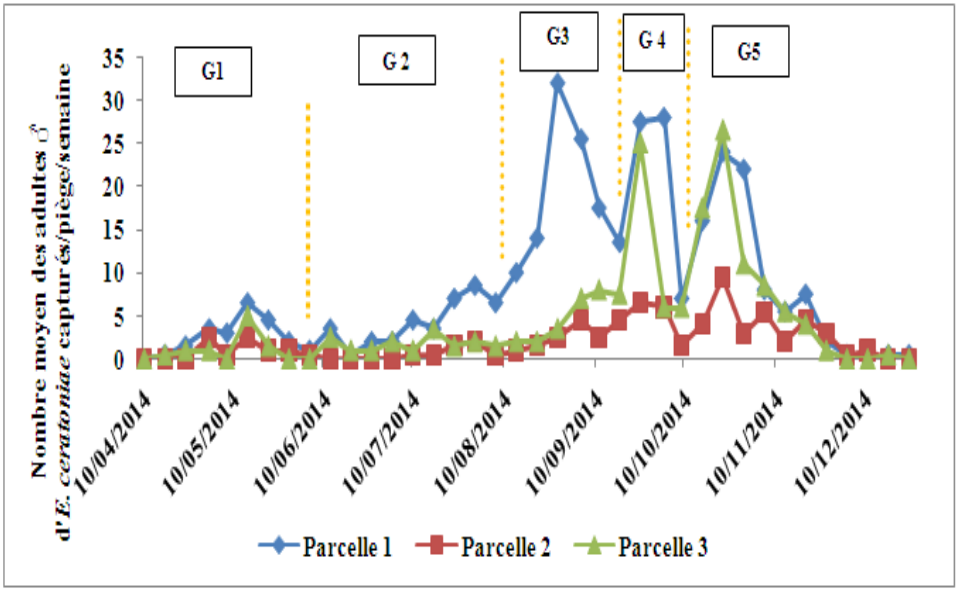


Figure 29 :Comparaison de la fluctuation de la population imaginale de la pyrale des dattes entre les 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014.

En comparant les deux années de suivi de la pyrale des dattes, on constate que l'activité de ce ravageur débute en moyenne au mois d'avril et se poursuit jusqu'à fin novembre début décembre pour tous les sites d'études. Il est à noter, que l'apparition des premiers vols des adultes est échelonnée entre les biotopes et même entre les différentes parcelles du même biotope. De même, les taux de captures d'*E. ceratoniae* sont très variables entre les biotopes et même au niveau des différentes parcelles du même biotope. De plus, pour l'année 2013, le nombre de générations était de 5 pour les 21 parcelles d'études, mais c'est seulement au niveau de la parcelle (A3) que 3 générations uniquement sont apparues. Egalement, 5 générations ont été observées pour les 3 parcelles de Morneg en 2014.

Par ailleurs**,** des travaux antérieurs ont reportéquesur caroubier, 2 générations ont été observées en Chypre (Ashman ,1968) alors que sur amandier la pyrale des dattes évoluait en 4 générations en Australie (Madge, 2012).

Sur palmier dattier, Skander Essid (2011) a indiqué la présence de 5 générations dans les oasis de Tozeur. En Algérie, Wertheimer (1958), Lepigre (1963), Doumandji (1981) et Ben Salah (2015) ont reporté la présence de 4 générations. En Israel, Blumberg (2008) a noté la présence de 3 à 4 générations. Aux Etats Unis d'Amérique, Nay et Perring (2008) ont indiqué la présence de 5 générations sur palmier dattier.

Sur grenadier, le nombre de générations de la pyrale des dattes variait de 2 à 3 à Ksar Ghriss et 3 à Tozeur (Jammazi, 1994). Alors que Mediouni (2005), Ben Ayed (2006) et Mejri (2008) ont indiqué la présence de 4 générations en Tunisie. Egalement, 4 générations ont été reportées sur grenadier en Turquie (Mart et Kilincer ,1993 ; Demirel ,2016) et en Iran (Naseiran *etal.*, 2012). En Iraq, 5 générations ont été indiquées par Al-Izzi *et al.*, (1985).

Sur agrumes, Serghiou (1983) a indiqué que l'activité maximale de la pyrale des dattes a été observée en août et en septembre alors qu'elle est un peu plus faible en octobre sur pamplemousse. Ces trois mois coïncident avec la période de développement et d'achèvement de l'infestation par *E. ceratoniae* sur pamplemousse en Chypre. En Turquie, (Özturc *et al.*, 2011) ont indiqué la présence de 7 à 8 générations sur la variété Washington Navel.
De ce fait, la fluctuation de la population imaginale d'*E.ceratoniae*est variable selon les régions et les plantes hôtes.

D'autre part, la durée d'une génération variait de 3 à 8 semaines. En effet la durée de la plus courte génération (3 semaines) était enregistrée pour la quatrième génération« G4 » en 2014 ce qui pourrait être expliqué que cette période d'activité réunissait les conditions optimales pour l'accomplissement du cycle de la pyrale des dattes de point de vue facteurs abiotiques (température de 25-30°C et humidité relative de 65-70%) mais également de la réceptivité du fruit hôte (calibre propice dépassant les 45 mm) (Hached, 2012). Doumandji (1981) a montré que la durée du cycle de développement est en relation avec la plante hôte, du degré de maturité du fruit et de la saison. Elle diffère selon que l'insecte soit élevé sur des pistaches ou des dattes, dans la mesure, où elle dure respectivement 46,6 et 44,7 jours à 27°C et 70% HR (Dhouibi, 1989). Sur milieu artificiel de son de blé, sa durée moyenne est de 31 jours à 28°C et 45% HR (Mediouni, 2005). Elle est de 60 jours dans les oranges à ombilic « navel » de 70 jours dans les pomelos et de 52 jours dans les amandes (Doumandji, 1981).
De plus, Doumandji (1981) a remarqué que sur les caroubes sèches, l'émergence s'observe après 118 jours en moyenne, alors que sur les caroubes vertes, 37 jours suffisent.

Il en résulte alors que le nombre et la durée de génération sont variables suivant les conditions climatiques, la réceptivité des fruits, les fruits hôtes et les régions d'études.

II.2. Pourcentage d'infestation d'*E. ceratoniae*au niveau des vergers d'oranges Thomson

II.2.1.Au niveau des 4 biotopes d'études en 2013

Les résultats des pourcentages d'infestation sont présentés dans la figure 30 et ont montré une importante variabilité des taux d'attaques entre les différentes parcelles allant de 0 à 36%. Les parcelles les plus attaquées sont « A1 » et « M1 » avec des pourcentages d'infestation de 36 et 33% respectivement.

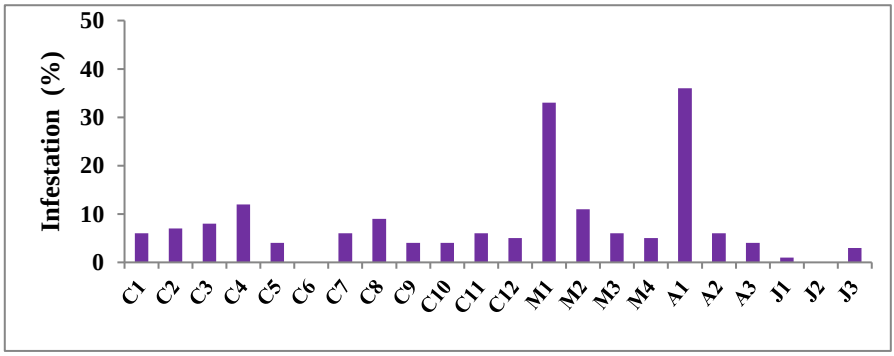


Figure 30 : Variation des pourcentages d'infestation par la pyrale des dattes au niveau des différentes parcellesd'oranges Thomson entre fin juillet et mi décembre 2013.

La relation entre le nombre total d'adultes d'*E. ceratoniae*capturés au niveau des pièges à phéromone sexuelle et le pourcentage d'infestation pour chaque parcelle a été illustré dans la figure 31. Une corrélation positive a été établie entre ces deux facteurs, avec un coefficient de corrélation de Pearson de 0,88.

On pourrait donc en déduire que les taux de présence des adultes d*'E.ceratoniae* au niveau des pièges de suivi alertent sur le niveau d'infestation par ce nuisible. Cependant, Chakroun (2013) a démontré que les femelles vierges d'*E. ceratoniae*capturent deux fois plus d'adultes que les capsules à phéromones sexuelles.

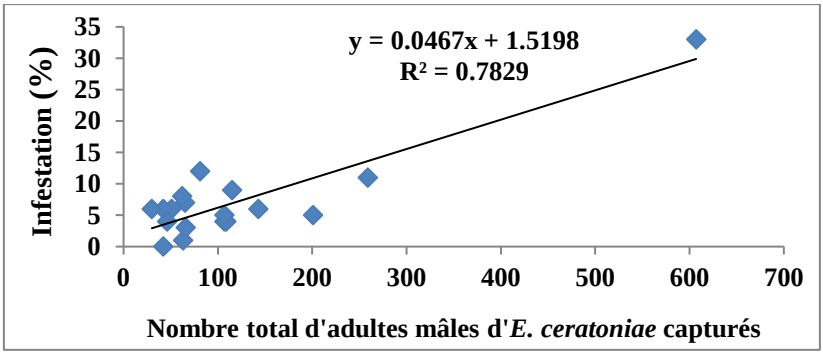


Figure 31 :Relation entre le pourcentage d'infestation d'*E. ceratoniae* et le nombre total d'adultes mâles capturés au niveau des parcelles d'orange Thomson durant la campagne 2013.

D'autre part, les adultes d'*E. ceratoniae*capturés au niveau des pièges pourraient provenir non pas seulement de la culture cible dans la parcelle notamment les oranges Thomson, mais également d'autres plantes hôtes ou même des entrepôts de stockage dans le voisinage.
Ces constations suggèrent alors qu'il ne faut pas se baser uniquement sur les résultats des pièges de suivis mais également, la prise d'échantillons de fruits s'avère nécessaire pour estimer les niveaux réels de l'infestation par la pyrale des dattes.

II.2.2.Au niveau des 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014

Le pourcentage d'infestation au niveau des fruits chutés pour les 3 parcelles d'études de Morneg en 2014 est présenté dans la figure 32. Le niveau d'infestation le plus élevé a été enregistré au niveau de la « parcelle 1 » qui a dépassé même les 73 % (pour le 09 octobre). Au niveau de la « parcelle 2 », le taux maximal d'infestation a atteint les 40% (enregistré le 03 octobre) alors qu'au niveau de la « parcelle 3 » ce taux n'a pas dépassé les 10% (enregistré le 03, le 23 octobre et le 11 novembre).

Il en résulte alors que les chutes de fruits suite aux attaques d'*E. ceratoniae*sont accentuées durant les mois d'octobre et de novembre qui correspondent aux générations les plus nuisibles.

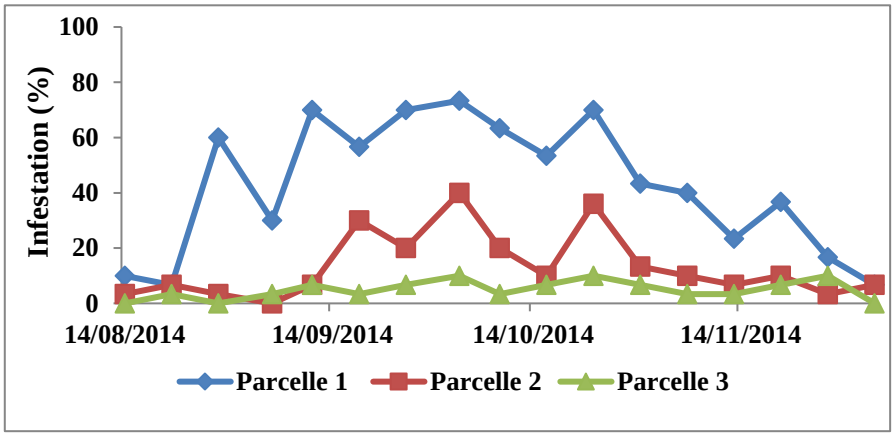


Figure 32 : Variation du pourcentage d'infestation entre les 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014.

Deux protocoles différents d'estimation des dégâts ont été utilisés en 2013 et 2014. En effet, le protocole de 2013, permet de renseigner sur un taux global d'infestation alors que pour le protocole de 2014, il permet de dégager les périodes d'accentuation des attaques sur fruits.

Nos résultats obtenus en 2014 concordent avec les travaux de Hached (2012) et Chakroun (2013) qui ont montré que le taux d'infestation par ce ravageur, était de 50% et pouvait même atteindre les 80% pour des lots d'oranges Thomson chutés, récupérés vers mi- octobre et fin novembre respectivement. De même, les travaux de Dhouibi *et al.*, (2016) réalisés dans les régions de Morneg et d'el Khlidia ont montré que les pourcentages d'infestationsont atteint les 80% et les 60% pour des lots d'oranges Thomson récupérés respectivement en début d'octobre et de novembre .

D'autre part, les travaux de Braham (2015) sur grenadier, ont montré que le pourcentage d'infestation des fruits chutés attaqués par *E. ceratoniae* a atteint les 40% pour l'ensemble des fruits chutés collectés d'aout à décembre.

Il en résulte alors, qu'il faut adopter une méthode d'échantillonnage adéquate qui reflète le niveau réel des dégâts de ce pyralide au niveau des vergers agrumicoles.

II.3. Structure de la population d'*E. ceratoniae*

II.3.1. An niveau des 4 biotopes d'études en 2013

Afin d'étudier la structure de la population de la pyrale des dattes au niveau de chaque biotope, la somme des fruits de toutes les parcelles pour chaque biotope étaient examinés. Les résultats de cet essai sont présentés dans la planche V.

Au niveau du biotope du Cap Bon (Planche V.a), pour toute la période d'échantillonnage, la population pré-imaginale est constituée de 18,3% de jeunes stades larvaires (L1+L2). Ces jeunes stades constituaient 30% de la population pour les premiers échantillonnages de fruits chutés en début aout, puis en début décembre ils ne constituaient que 3,22% de toute la population.

Pour le biotope de Morneg (Planche V.b), la population pré-imaginale est constituée de 21,8% de jeunes stades larvaires (L1+L2)pour toute la période d'échantillonnage. Ces jeunes stades constituaient 40% de la population pour les premiers échantillonnages de fruits prélevés en début aout, puis en début décembre ils ne constituaient que 2,94% de toute la population.

Au niveau du biotope d'El Alia (Planche V.c), pour toute la période d'échantillonnage, la population pré-imaginale est constituée de 17,82% de jeunes stades larvaires (L1+L2). Ces jeunes stades constituaient 41,17% de la population pour les premiers échantillonnages de fruits prélevés en début aout alors qu'ils étaient totalement absents au mois de décembre.

Quant au biotope de Boussalem (Planche V.d), les premières chutes de fruits causés par la pyrale des dattes n'étaient observées qu'à partir du mois de septembre.

La population pré-imaginale était composée de 20 % de jeunes stades larvaires pour toute la période d'échantillonnage.Ces jeunes stades constituaient 50 % de la population pré-imaginale pour les premiers échantillonnages de fruits prélevés en début septembre alors qu'ils étaient totalement absents au mois de décembre.

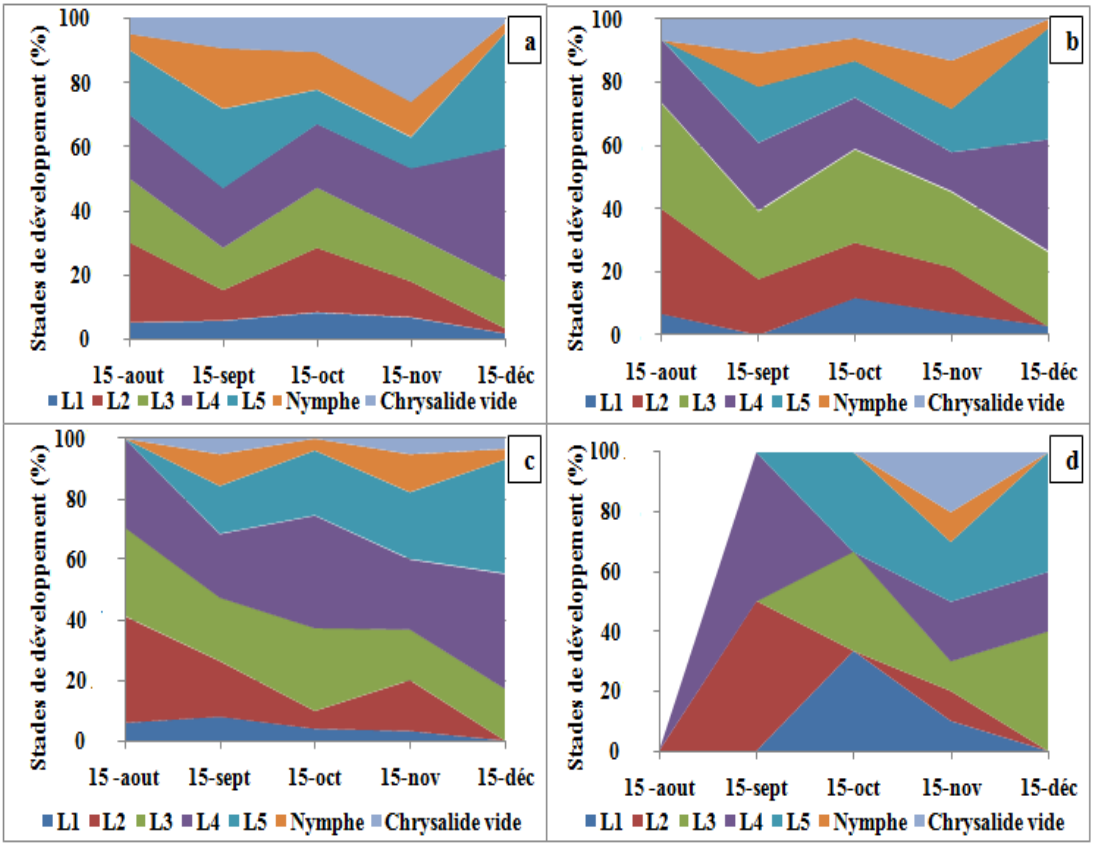


Planche V :Structure de la population pré-imaginale de la pyrale des dattes au niveau des oranges Thomson chutés récupérés des 4 biotopes d'études en 2013 avec
a) Cap Bon, b) Morneg, c) El Alia et d) Boussalem.

II.3.2. Au niveau des 3 parcelles du biotope de Morneg en 2014

L'examen des fruits chutés récupérés des 3 parcelles de Morneg en 2014 a permis de déterminer la structure de la population pré-imaginale de la pyrale des dattes qui est illustrée dans la planche VI.

Pour toute la période d'échantillonnage, les jeunes stades larvaires (L1+L2) constituaient 19,26% ; 27,94% et 20% de la population pré-imaginale respectivement pour « la parcelle 1 », « la parcelle 2 » et « la parcelle 3 ».

Ces jeunes stades larvaires, représentaient 30, 100 et 100% de la population pré-imaginale au niveau des premiers fruits prélevés le 14 aout pour « la parcelle 1 », « la parcelle 2 » et « la parcelle 3 » respectivement alors qu'ils étaient totalement absents au mois de décembre.

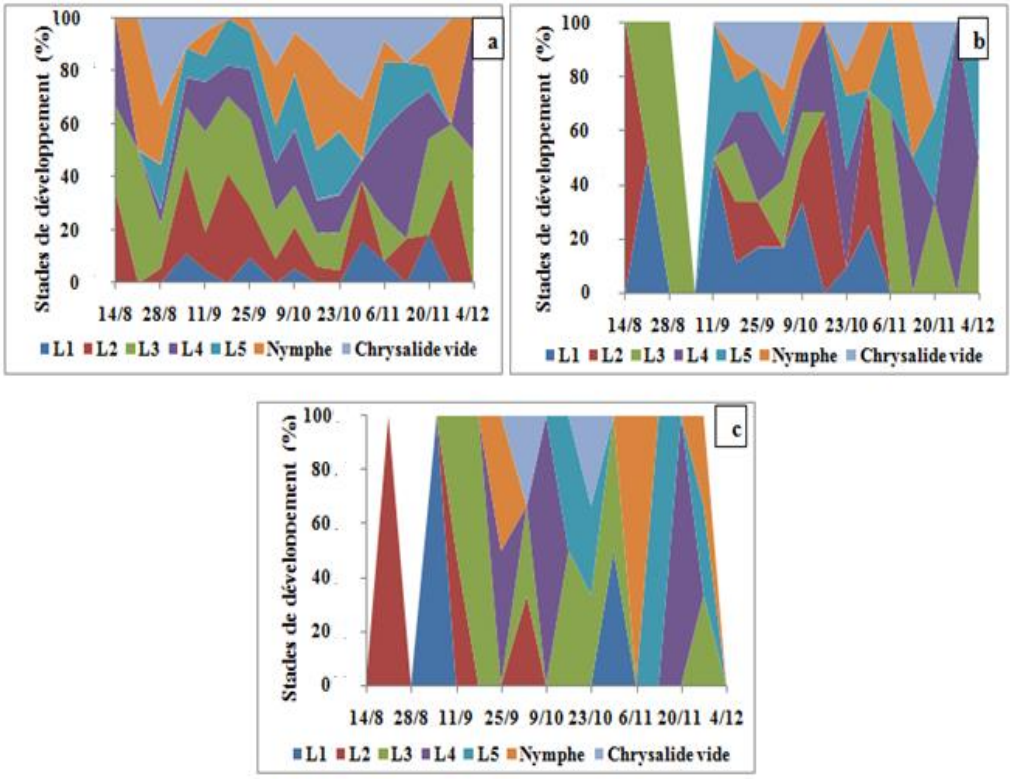


Planche VI :Structure de la population pré-imaginale d'*E. ceratoniae*au niveau des oranges Thomson chutés récupérés des 3 parcelles d'études du biotope de Morneg en 2014 avec a)Parcelle 1, b) Parcelle2, et c) Parcelle 3.

Pour les deux années de suivi 2013 et 2014, on a noté l'absence des œufs au niveau des fruits chutés, ce qui reflète que la femelle de la pyrale des dattes pond uniquement au niveau des fruits présents encore sur l'arbre.

De plus, la structure de la population pré-imaginale pour l'ensemble de la période de suivi a révélé que le pourcentage des jeunes stades larvaires était relativement faible avec un maxima de 27,94%, montrant ainsi que les jeunes stades larvaires se développent principalement sur les fruits encore attachés sur l'arbre. Par ailleurs, la présence de chrysalides vides au niveau des fruits, indique que la pyrale a achevé son cycle de développement à l'intérieur du fruit jusqu'à l'émergence de l'adulte.

D'autre part, en début décembre, les jeunes stades larvaires sont très peu présents voire même absents alors que les stades âgés composent la majorité de la population, ce qui s'explique par, que cette période coïncide avec les conditions climatiques défavorables au développement du ravageur qui va se préparer à l'hibernation.

II.4. Détermination du site de nymphose d'*E. ceratoniae*

Au niveau des parcelles agrumicoles, le stade nymphe était difficile à localiser malgré les différents échantillons prélevés (sur le sol et en profondeur, sur les brises vents et sur la frondaison de l'arbre). C'est seulement au niveau des feuilles chutées et enroulées sous les frondaisons du Thomson Navel que ce stade a été trouvé. Afin de confirmer ce résultat, un essai était mené au niveau du laboratoire qui visait à déterminer le choix du site de nymphose pour le stade larvaire L5 soit au niveau de la surface du sol, soit au niveau des feuilles enroulées des oranges Thomson placées juste sur la surface du sol , ou même au niveau des parois en bois de la cage utilisée. Les résultats de cet essai sont présentés dans la figure 33 et ont montré que pour l'ensemble des larves de l'essai (25 L5), le choix du site de nymphose a montré une différence significative pour les feuilles enroulées du Thomson Navel avec 56% (14/25) contre 32% (8/25) et 12% (3/25) respectivement pour la paroi en bois de la cage et le sol.

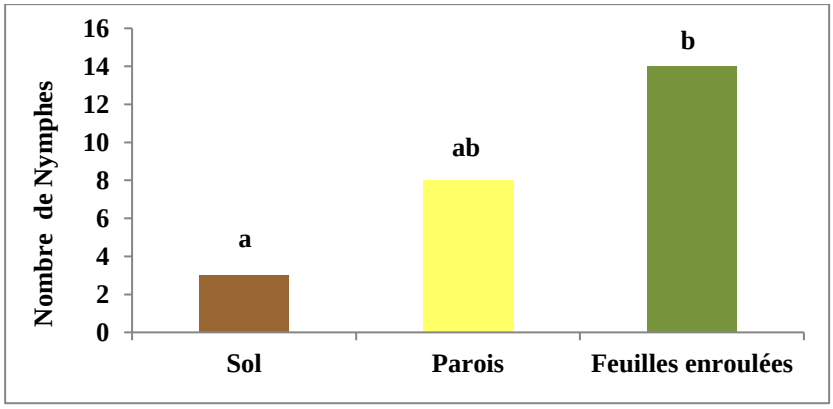


Figure 33 :Choix du site de nymphose pour leslarves L5 déposées.

L'analyse statistique a également montré une différence significative pour le site de nymphose au niveau des feuilles enroulées avec (P=0,006 ; F=7,913et ddl= 14). On pourrait donc déduire de cet essai, que les larves d*'E. ceratoniae* ne se nymphosent pas en profondeur du sol mais au niveau des feuilles enroulées chutées sur la surface du sol au niveau des agrumeraies.

Par ailleurs, les travaux de Balachowsky (1972) et de Dhouibi (1982,1989) ont montré que les fruits desséchés et les débris de grenades, de dattes ou de pistaches jouent le rôle de site de nymphose pour les chenilles hivernantes et à la base du tronc aussi dans les crevasses, voire même dans le sol. Au niveau des parcelles d'amandier, Madge (2012) a montré que les amandes non récoltées sur pieds constituaient le site de nymphose de la pyrale des dattes.

II.5. Les entrepôts de stockage peuvent ils être responsables de la propagation de la pyrale des dattes au niveau des vergers agrumicoles ?

La relation entre le nombre de pyrales capturées au niveau des pièges installés à différentes distances de la fosse de déchets et la nature des fruits présents dans l'entrepôt est illustrée dans la figure 34.

On a constaté une augmentation considérable du nombre d'*E. ceratoniae*capturés dès l'arrivage des fruits de grenades au niveau de l'entrepôt. Les suivis des pièges à distances, montraient la capacité de la pyrale à atteindre les 200 mètres de vol. Au niveau de cet entrepôt, la fosse de déchet ne serait fermée qu'au mois de janvier ce qui présente un danger réel car cette dernière constitue un foyer d'infestation. Cet essai pourrait expliquer alors les attaques des parcelles d'agrumes situées à proximité des entrepôts par la pyrale des dattes.

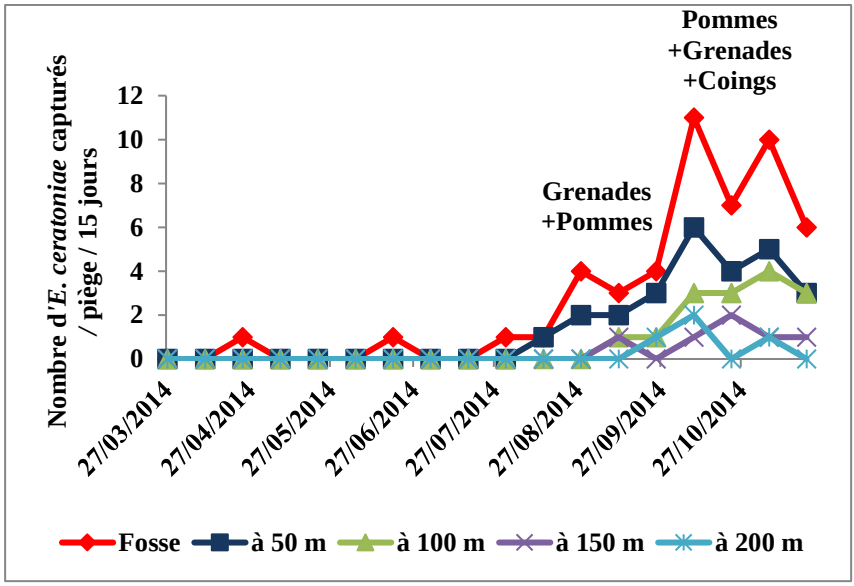


Figure 34 :Evolution du nombre des adultes d'*E. ceratoniae*capturés au niveau des pièges installés à différentes distances de la fosse de déchets en fonction de la nature des fruits à l'entrepôt.

Conclusion

Quand les conditions climatiques du milieu deviennent favorables à partir du mois d'avril, les premiers adultes de la pyrale des dattes apparaissent au niveau des vergers agrumicoles. Ce nuisible évolue en 5 générations en moyenne qui se succèdent jusqu'à fin novembre début décembre. Les générations printanières ne sont pas nuisibles car les fruits hôtes ne sont pas encore réceptifs, mais à partir du mois de juillet les attaques débutent. Les premières chutes dus aux dégâts de ce pyralide débutent en moyenne au mois d'aout.
Les générations qui présentent les pics de captures les plus importants évoluent entre les mois de septembre et octobre et engendrent ainsi l'accentuation des chutes de fruits durant les mois d'octobre et de novembre dont le maximum de dégâts peut atteindre les 36% selon la méthode d'évaluation des fruits chutés entre les mois d'aout et de décembre.
La femelle d'*E. ceratoniae,* pond principalement au niveau de l'ombilic sur les fruits attachés sur l'arbre, qui une fois attaqués ces derniers vont tomber.
La pyrale effectue tout son cycle de développement à l'intérieur du fruit jusqu'à émergence des imagos. Cependant, quand les conditions du milieu deviennent défavorables au mois de décembre, les larves du 5ème stade vont quitter les fruits chutés pour se nymphoser au niveau des feuilles enroulées sur le sol des vergers.
Par ailleurs, il a été démontré que la mauvaise gestion des déchets au niveau des entrepôts de stockage constitue une source d'infestation pour les parcelles avoisinantes.

Ces résultats pourraient ainsi être ainsi être valorisés dans un programme de lutte contre ce ravageur où les pièges de suivi doivent être installés dés le mois d'avril au niveau des parcelles agrumicoles pour suivre les niveaux de captures mais également la prise d'échantillons de fruits dés le mois de juillet est nécessaire afin de dégager le niveau d'infestation.

De plus, la lutte culturale par l'élimination des feuilles chutées enroulées sur le sol s'avère cruciale.

D'autre part, il faut prendre garde des entrepôts de stockage situées prés des vergers agrumicoles qui constituent une source d'infestation.

Dans les chapitres suivants, différents moyens de lutte vont être testés pour le contrôle de la pyrale des dattes.

Chapitre V : Essais de différents bio-insecticides, de molécules chimiques et du piégeage de masse dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae*

Introduction

L'agrumiculture en Tunisie est un secteur stratégique qui fait face à plusieurs contraintes notamment la réduction des récoltes dues entre autres à l'attaque de nombreux insectes ravageurs.Plusieurs lépidoptères sont inféodés aux agrumes, principalement la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella*et la teigne du citronnier *Prays citri* (Jerraya *et al.,* 1997 ; Lebdi-Grissa *et al.,* 2006). Depuis l'année 2008 des dégâts provoqués par un autre lépidoptère *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera : Pyralidae) ont été signalés au niveau des orangeraies tunisiennes (CTA, 2008). En Tunisie, la pyrale des dattes s'attaque à diverses denrées stockées de plus des cultures fruitières et elle est considérée comme étant la première espèce nuisible aux dattes et aux grenades. Pour lutter contre ce ravageur, plusieurs techniques ont été élaborées principalement au niveau des entrepôts de stockage où les traitements par modification de température, l'utilisation des huiles essentielles, le conditionnement sous atmosphère modifiée et l'utilisation des désinfectants ont prouvé leurs pouvoirs insecticides contre la pyrale des dattes (Zouba *et al.,* 2009 ; Amri *et al.,* 2014 ; Jemni *et al.,* 2014).

Par ailleurs, au niveau des palmeraieset des grenaderais tunisiennes, plusieurs efforts ont été déployés afin de contrôler ce ravageur. Alors qu'au niveau des orangeraies peu d'informations sont valables sur la lutte contre ce pyralide. Dansce contexte,ce présent chapitre a pour but de tester les techniques de luttes basées sur les traitements chimiques et biologiques ainsi que le piégeage de masse qui ont déjà prouvé leurs efficacités au niveau des palmeraies et des grenaderais tunisiennes et de les appliquer au niveau des orangeraies.

En outre, en absence de substances actives homologuées contre la pyrale des dattes sur agrumes, les molécules testées étaient soient homologuées sur la pyrale des dattes sur palmier dattier et grenadier ou alors homologuées sur d'autres lépidoptères des arbres fruitiers.

Partie A : Etude de l'effet répulsif de l'huile essentielle du laurier noble *Laurus nobilis* sur la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* sous conditions contrôlées

Introduction

Les huiles essentielles sont parmi les substances les plus testées contre les insectes, pouvant agir comme fumigants (Shaaya *et al*., 1997), insecticides de contact (Saxena *et al*., 1992; Schmidt et Streloke, 1994), répulsifs (Plarre *et al*., 1997), anti- appétants (Harwood *et al*., 1990) et peuvent affecter certains paramètres biologiques tels que le taux de croissance, la durée de vie et la reproduction. La plupart de ces substances ont été testées contre des insectes attaquants des produits stockés afin d'établir de nouvelles pratiques de contrôle présentant une toxicité moindre pour les mammifères et une faible persistance dans l'environnement.

Suite à des observations personnelles dans les vergers agrumicoles où est planté le laurier noble comme brise vent et élément de division entre les parcelles élémentaires, on a remarqué l'absence de l'attaque par la pyrale des dattes bien que les parcelles avoisinantes sont attaquées par ce ravageur. Par ailleurs, plusieurs études ont démontré l'effet répulsif de l'huile essentielle du laurier noble sur les insectes des denrées stockées comme *Sitophilus zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus* et *Tenebrio molitor* (Cosimi *et al.*, 2009); et aussi *Lasioderma serricorne* (Mediouni *et al*., 2011). Dans ce contexte, ce présent travail était conduit dans le but d'évaluer l'effet répulsif de l'huile essentielle du laurier noble sur la pyrale des dattes.

I.Matériel et Méthodes

I.1. Matériel biologique utilisé

Les larves du dernier stade de développement de la pyrale des dattes (L5) ont été récupérées de l'élevage de masse installé au niveau du laboratoire d'entomologie –acarologie de l'INAT.

I.2. Extraction de l'huile essentielle du laurier noble au niveau du laboratoire

Les feuilles du laurier noble utilisées ont été récupérées au mois de mai 2016 de la région de « Ras Djbel ». L'huile essentielle a été extraite par entrainement à la vapeur (Hydro-distillation). Cette méthode consiste à porter à ébullition le mélange de la matière végétale et de l'eau. Sous l'action de la chaleur, les cellules du végétal s'éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils. La vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant. La condensation de ce mélange gazeux, provoque sa séparation en deux phases liquides :

- Une phase organique huileuse et très odorante, appelée huile essentielle, contenant la majorité des composés odorants.
- Une phase aqueuse, odorante, appelée eaux aromatiques, qui n'en contient que très peu (Auclair et Côté, 2002 ; Lira *et al.*, 2009).

Au niveau du récipient en inox (de type Clevenger et de capacité 12 litres), 1,5 kg de feuilles fraiches de laurier ont été placées (sans rinçage au préalable). Après remplissage du récipient par l'eau, il va être fermé hermétiquement pour garder la température d'ébullition stable à 100°C (Figure 35). L'hydrodistillation a duré environ 3heures.
Afin de séparer la phase liquide et la phase huileuse, la quantité d'huile est recueillie dans un tube de décantation. Puis cette huile va être placée dans un flacon en verre opaque hermétiquement fermé pour éviter son oxydation et son altération par les rayons UV. Ce flacon sera conservé au réfrigérateur à 4°C.

Figure 35 : Etapes de l'extraction de l'huile essentielle du laurier noble au niveau du laboratoire (Cliché personnel, 2016).

I.3.Protocole expérimental

Pour évaluer l'effet répulsif de l'huile essentielle de laurier à l'égard du dernier stade larvaire L5 de la pyrale des dattes , la méthode de la zone préférentielle à 25°C et 65% HR décrite par McDonald *et al*., (1970) a été suivie.

Cette méthode consiste à utiliser des disques de papier filtre (Watman N°1) de 8 cm de diamètre placés dans des boites de Pétri en verre de 9 cm de diamètre. Les disques de papier filtre sont coupés en deux parties égales. Les solutions à tester étaient préparées par la dissolution de six doses (0,1 ; 0,15 ; 0,2 ; 0,25 ; 0,4 et 0,6 µl) de l'huile essentielle du laurier noble dans 1 ml d'acétone. Ces doses correspondent à des concentrations respectives de 0,04 ; 0,06 ; 0,08 ; 0,1 ; 0,16 et 0,24 µl/cm^2. Le traitement consiste à imbiber de façon homogène et à l'aide d'une micropipette une moitié du disque de papier filtre par 0,5 ml de chaque concentration ; tandis que l'autre moitié du disque est traitée uniquement par de l'acétone et elle est considérée comme témoin.

Après évaporation complète du solvant, les deux moitiés du disque sont associées dans une boite de Pétri de 9 cm de diamètre et ressoudées moyennant un ruban adhésif.

Dix larves (L5) seront placées au centre de chaque disque de papier filtre. Les boites de Pétri sont scellées avec du Parafilm. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque concentration de l'huile essentielle.

I.4. Pourcentage de répulsion (PR) et détermination de la concentration répulsive médiane (CR_{50}) de l'huile essentielle du laurier noble

Après 1,5 ; 3 et 24 heures du début de l'expérience, on compte le nombre de larves L5 présentes sur la partie traitée par l'huile essentielle qu'on note (**Nt**) et le nombre de ceux présentes sur la partie témoin traitée à l'acétone qu'on note (**Nc**).
Le pourcentage de la répulsion (**PR**) est calculé par la formule adoptée parCosimi *etal*., (2009) et Nerio *etal*., (2009) :

PR= ((Nc -Nt)/ (Nc +Nt)*100)

La valeur du pourcentage de répulsion permet de dégager différentes classes répulsives comme indiqué dans le tableau 18.

Tableau 18 : Interprétation du pourcentage de répulsion (PR) (Mc Donald *et al.*, 1970).

Classes répulsives	Pourcentage de répulsion (%)	Interprétation
Classe 0	PR <0,1	N'est pas répulsive
Classe I	PR= 0,1– 20	Très faiblement répulsive
Classe II	PR= 20,1 – 40	Faiblement répulsive
Classe III	PR = 40,1 – 60	Modérément répulsive
Classe IV	PR= 60,1 – 80	Répulsive
Classe V	PR = 80,1 – 100	Très répulsive

La détermination de la concentration répulsive médiane (CR_{50}) correspond à l'extrait induisant 50% de répulsion chez les populations d'insectes traités. La valeur (CR_{50}) est calculée selon la méthode de Probit (Finney, 1971). Elle est exprimée en ($\mu l/cm^2$).

I.5. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été effectuée moyennant le logiciel SPSS (version 16.0). Les comparaisons des moyennes de l'effet des différentes doses de l'huile sur le stade L5 après 24 heures d'exposition ont été réalisées moyennant le test Duncan au seuil de 5%.
La détermination de la concentration répulsive médiane (CR_{50}) a été effectuée grâce au logiciel Probit analysis (Finney, 1971).

II.Résultats et Discussion

Les résultats des pourcentages de répulsions de l'huile essentielle sur le dernier stade larvaire d'*E. ceratoniae* et les classes de répulsion correspondantes sont indiqués dans le tableau 19. Après une heure et demi d'exposition, le pourcentage de répulsion le plus important de 33,33% (Classe II) était enregistré pour la concentration de 0,06µl/cm^2 alors que les concentrations de 0,1 et 0,24 µl/cm^2 présentaient des pourcentages de répulsions négatifs de -33,3 et – 46,66 % (Classe 0) respectivement. Après 3 heures d'exposition, le pourcentage de répulsion le plus fort de 20% (Classe I) était obtenu pour la concentration de 0,16 µl/cm^2, alors que les concentrations de 0,08 ; 0,1 et 0,24 µl/cm^2 présentaient des pourcentages de répulsions négatifs (Classe 0). Au bout de 24 heures d'exposition, l'effet de répulsion le plus important de 80% (Classe IV) était enregistré pour la concentration de 0,24µl/cm^2 suivi de 20% (Classe I) pour la concentration de 0,06µl/cm^2. Il en ressort de ces résultats qu'uniquement la concentration de 0,24µl/cm^2 a montré un pouvoir de répulsion important après 24 heures d'exposition.
Ce qui a été confirmé par l'analyse de la variance qui a montré une différence significative pour la concentration de 0,24µl/cm^2 après 24 heures d'exposition avec (P=0,0065, F=2,836, ddl = 17).

Tableau 19 :Pourcentages de répulsions (moyenne ±ES) de l'huile essentielle du laurier noble sur les larves L5

d'*E. ceratoniae*en fonction de la durée d'exposition et de la concentration de l'huile essentielle sur papier filtre.

Concentration (µl/cm²)	**0,04**	**0,06**	**0,08**	**0,1**	**0,16**	**0,24**
Durée d'exposition (h): 1,5	13,33 ±1,54 Aa	33,33 ±13,14 Aa	6,66 ±1,8 Aa	-33,3 ±6,1 Aa	20 ±6,9 Aa	-46,66 ±2,30 Aa
Classe répulsive	I	II	I	0	I	0
Durée d'exposition (h): 3	13,33 ±1,54 Aa	6,66 ±2,3 Aa	-6,66 ±1,6 Aa	-20 ±4 Aa	20 ±6,9 Aa	-6,66± 2,30 Aa
Classe répulsive	I	I	0	0	I	0
Durée d'exposition (h): 24	0Aa	20 ±4 Aab	6,66 ±2,3 bAa	-33,33 ±4,6 Aa	6,66 ±1,6 Aa	**80 ±20 Bb**
Classe répulsive	0	I	I	0	I	**IV**

Les comparaisons des moyennes de la même colonne (lettres en majuscules) expriment l'effet de la durée d'exposition sur la répulsion de l'insecte.
Les comparaisons des moyennes sur la même ligne (lettres en minuscules) expriment l'effet de la concentration sur la répulsion de l'insecte.
Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de Duncan avec
$P \leq 0,05$.

Les analyses par Probit ont montré la sensibilité d'*E. ceratoniae*vis-à-vis l'huile essentielle du *Laurus nobilis*. La valeur de la concentration médiane de répulsion (CR_{50}) correspondante est de 0,062µl/cm² (Tableau 20).

Tableau 20 : Valeur de (CR_{50}) de l'huile essentielle du *Laurus nobilis* contre le dernier stade larvaire (L5) d'*E. ceratoniae*après 24 heures d'exposition.

Huile essentielle de*Laurus nobilis*	CR_{50}	Pente	Degré de liberté	$\chi 2$
	0,062	-0,94±0,75	5	16,377

Par ailleurs, Saim et Meloan (1986) ont reporté que les feuilles du laurier noble contiennent du benzaldéhyde, de la pipéridine et du geraniol à une concentration de 50 ppm; ces molécules sont toutes trois connues pour leurs qualités de répulsion des insectes.
D'autre part, des études effectuées par Mediouni-Ben Jemâa *et al.*,(2011 ;2012.c) et Ncibi (2012) ont confirmé l'effet répulsif de l'huile essentielle du laurier noble sur *Lasioderma serricorne* et sur *Rhyzopertha dominica* avec variation du pourcentage de répulsion en fonction de la dose.

Conclusion

Il a été démontré par cet essai, l'important pouvoir répulsif (80%) du laurier noble après 24 heures d'exposition sur le dernier stade larvaire d'*E. ceratoniae*
Cependant, au niveau des entrepôts de stockage, des tests sur l'impact de cette huile essentielle sur les fruits traités doivent être effectués afin de déterminer les doses adéquates permettant à la fois le contrôle des ravageurs tout en préservant la qualité des fruits et en assurant la sécurité du consommateur.
On en a déduit, alors, que cette plante pourrait jouer l'effet de barrière qui empêche l'invasion de ce nuisible d'où l'intérêt de planter le laurier noble au niveau des vergers agrumicoles.

Partie B : Efficacité des insecticides chimiques et biologiques dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae* sous conditions contrôlées et en verger d'oranges Thomson

Introduction

En absence de substances actives homologuées sur la pyrale des dattes sur agrumes, ce présent travail a pour but de tester la toxicité de quelques molécules chimiques et biologiques homologuées sur d'autres lépidoptères ravageurs sous conditions contrôlées et de vérifier par la suite leurs efficacités dans la lutte contre la pyrale des dattes au niveau du verger des oranges Thomson.

I. Matériel et Méthodes

I.1. Substances actives testées

Au niveau du laboratoire et du verger agrumicole, 4 substances actives : [2 biologiques (spinosade et azadirachtine) et 2 chimiques (abamectine etemamectine-benzoate)] ont été testées sur la pyrale des dattes, comme indiqué dans le tableau 21. Les substances actives choisies sont homologuées sur d'autres lépidoptères ravageurs.

Tableau 21 :Substances actives, doses homologuées sur les ravageurs cibles et doses testées sur la pyrale des dattes aux niveaux du laboratoire et du verger d'oranges Thomson.

Substance active (concentration)	**Ravageurs cibles**	**Dose homologuée (cc/hl)**	**Doses testées (cc/hl)**
Spinosade (240g/l)	Vers de la grappe (vigne) Mineuse des agrumes	60	60 90
Azadirachtine (32g/l)	Mineuse des agrumes	60	60 90
Abamectine (18g/l)	Mineuse des agrumes	40	40 60
Emamectine-benzoate (5%)	Carpocapse du pommier, Mineuse de la tomate et Pyrale du maïs	30	30 60

I.2. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au laboratoire

Le premier et le dernier stade larvaire (L1 et L5) d'*E. ceratoniae*, étaient récupérés de l'élevage de masse installé au niveau du laboratoire d'entomologie- acarologie de l'INAT

et étaient choisis comme cibles des traitements testés. Le protocole expérimental consiste à appliquer deux concentrations différentes sur chaque stade larvaire (Tableau 21) afin de déterminer la dose optimale de chaque traitement.
Pour les doses supérieures ou égales à 40 cc/hl, les doses testées étaient égales aux doses homologuées dans un premier lieu, puis elles étaient égales aux doses homologuées +50% de chaque dose.
Pour les doses inférieures à 40 cc/hl, les doses testées étaient égales aux doses homologuées au premier lieu, puis elles étaient égales aux doses homologuées + 100% de chaque dose.
Pour chaque stade larvaire (L1 ou L5) et chaque dose testée, 10 individus étaient placés dans des boites contenant chacune 10 gr du milieu d'élevage. Pour chaque essai, 3 répétitions ont été effectuées. Après l'injection d'un ml de la bouillie de chaque traitement dans le milieu d'élevage artificiel, son efficacité sur les stades larvaires était suivie après 15 min, 30 min, 1h, 2h, 24h, 48h et 72heures. Cette efficacité était évaluée selon le taux de mortalité corrigée obtenue par la formule d'Abbott (1925) exprimée par la formule suivante :

$$\mathbf{TR} = [(C-T)/C] \times 100,$$

Avec : **TR** : taux de mortalité corrigée, **C** : nombre d'individus vivants chez le témoin, **T** : nombre d'individus vivants chez les traités.

I.3. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au verger d'oranges Thomson de Morneg

Le verger des oranges Thomson se situe dans la région de Morneg (gouvernorat de Ben Arous), conduit en mode conventionnel avec un système d'irrigation en goutte à goutte.

Afin de coïncider l'application des traitements avec la présence des jeunes stades larvaires baladeurs (L1+L2), des échantillons de 20 fruits sur pieds/ semaine étaient récupérés au hasard depuis la deuxième quinzaine du mois d'aout 2014, dés que la population d'*E. ceratoniae*était composée de plus de 50 % de

ces jeunes stades, les traitements ont été appliqués.Les traitements étaient effectués le 05 septembre 2014 où 60 % de la population du pyralide était composée de ces stades.
Chaque traitement et chaque dose choisis étaient appliqués sur 5 pieds de Thomson Navel en pulvérisation foliaire. 5 pieds non traités étaient considérés comme témoin.
Afin d'évaluer l'efficacité de chaque traitement et de chaque dose appliquée, 10 fruits sur pieds étaient récupérés au hasard de chaque pied traité et de chaque pied du témoin le jour du traitement (J0) puis après 3, 7, 14 et 21 jours de l'application des différents traitements.
Les fruits récupérés étaient examinés sous loupe binoculaire au niveau du laboratoire afin de déterminer les dégâts occasionnés par la pyrale des dattes, particulièrement la présence des jeunes stades larvaires. L'efficacité de chaque traitement était évaluée par la formule d'Abbott.

I.4. Données climatiques

Les températures mensuelles moyennes et les humidités relatives mensuelles moyennes de la région de Morneg en 2014 sont présentées dans le tableau 22.

Tableau 22 :Données climatiques de la région de Morneg en 2014(INM, 2014).

	Jan.	**Fév.**	**Mars**	**Avr.**	**Mai**	**Juin**	**Juil.**	**Aout**	**Sept.**	**Oct.**	**Nov.**	**Déc.**
T (°C)	13,3	14,5	14,2	18,2	20,7	26,1	27,9	28,8	27,7	23,4	19,1	13,9
H.R (%)	70	70	75	65	64	55	55	60	64	71	70	71

I.5. Analyses Statistiques

L'analyse statistique était effectuée moyennant le logiciel SPSS 16.0 (Inc.2007). Afin d'évaluer l'efficacité des traitements appliqués, des analyses de la variance étaient réalisées et la

comparaison des moyennes était effectuée avec le test Duncan avec P ≤0,05.

II. Résultats

II.1. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au laboratoire

II.1.1. Détermination de la dose optimale pour chaque traitement testé

Pour chaque stade larvaire L1 et L5 d*'E. ceratoniae*, deux concentrations de chaque substance active ont été testées afin de déterminer la dose optimale du traitement choisi.

II.1.1.1. Spinosade

Les résultats de l'évolution de la mortalité corrigée des stades L1 et L5 sous les deux concentrations de chaque produit testé sont présentés dans la Planche VII.

Le bio-insecticide spinosade a engendré la mortalité du premier stade larvaire L1 dès les premières minutes de son application indépendamment de la dose appliquée. Cependant, la mortalité totale des larves de ce premier stade n'était enregistrée qu'au bout de 24 heures de l'application du traitement pour la dose de 90cc/hl et au bout de 48heures pour la dose de 60 cc/hl (Planche VII.a). L'analyse de la variance n'a pas donné de différence significative entre les deux doses testées sur la mortalité du stade L1 (P=0,001, F= 11,102, ddl=23).

Concernant le dernier stade larvaire L5, les deux concentrations appliquées ont engendré une mortalité de 100% après 48 et 72 heures respectivement pour 90 et 60 cc/hl (PlancheVII.b). L'analyse statistique n'a pas montré de différence significative entre les concentrations de 60 et 90 cc/hl sur la mortalité du stade L5 (P=0,002, F=8,789, ddl =23).On peut donc en déduire, que le premier stade larvaire est plus sensible que le dernier envers le spinosade. Egalement, plus la concentration est élevée, plus la mortalité des stades larvaires est rapidement induite.

II.1.1.2. Azadirachtine

Les concentrations de 60 et 90 cc/hl du bio-insecticide azadirachtine ont exercé un effet similaire sur les mortalités du premier stade larvaire L1 (P=0,002, F= 8,984, ddl=23) et du

dernier stade larvaire L5 d'*E. ceratoniae*(P=0,002, F=8,310, ddl =23). La Planche (VII.c) montre qu'un taux de mortalité corrigée de 100% du stade L1 n'était obtenu qu'après 24 heures de l'application de la dose de 90 cc/hl et 48 heures pour la dose de 60 cc/hl. Alors que, pour le dernier stade larvaire L5, la concentration de 90 cc/hl a engendré une mortalité totale des individus plus rapide en comparaison avec la dose de 60 cc/hl (Planche VII.d).

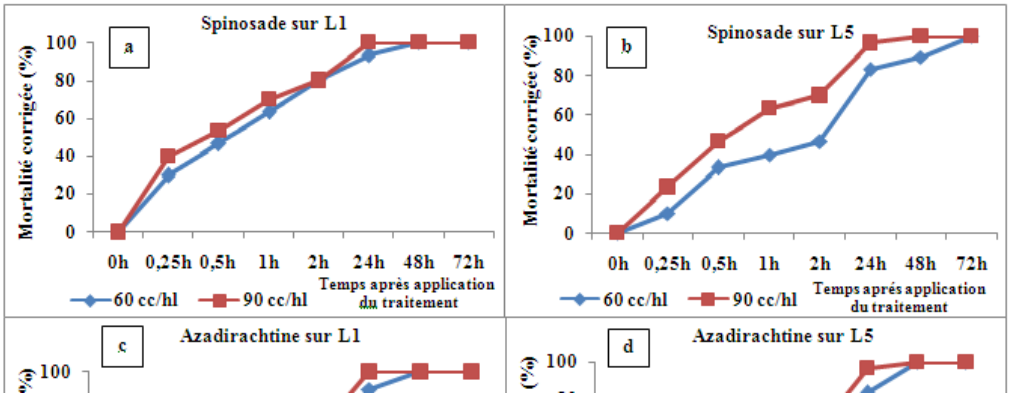
II.1.1.3. Abamectine

L'insecticide chimique, abamectine, appliqué à la dose de 40 cc/hl a agit faiblement sur la mortalité du premier stade larvaire L1 en comparaison avec la dose de 60 cc/hl durant les premières 15 minutes de l'application du traitement (Planche VII.e). Cependant, ces deux doses ont exercé un effet similaire durant tout le temps qui a suivi jusqu'à 48 heures de l'application du traitement où 100% de mortalité corrigée était enregistrée (P=0,016, F=5,025, ddl=23).

Pour le stade larvaire L5, la mortalité totale des individus était obtenue 72 heures après l'application des doses de 40 et 60 cc/hl (Planche VII.f). Ces doses n'ont pas montré de différence significative sur la mortalité de ce stade larvaire L5 d'*E. ceratoniae* (P=0,037, F=3,862, ddl =23).

II.1.1.4. Emamectine-benzoate

La concentration de 30cc/hl de l'emamectine-benzoate n'a commencé à agir sur la mortalité du premier stade larvaire L1 et du dernier stade larvaire L5 d'*E. ceratoniae*qu'après 15 min de son application (Planche VII.g.h) ; alors que l'application de la concentration de 60 cc/hl a causé des mortalités sur le premier stade larvaire L1 dès les premières minutes de son injection dans le milieu d'élevage artificiel. L'analyse statistique n'a pas montré de différence significative entre ces deux doses ni sur la



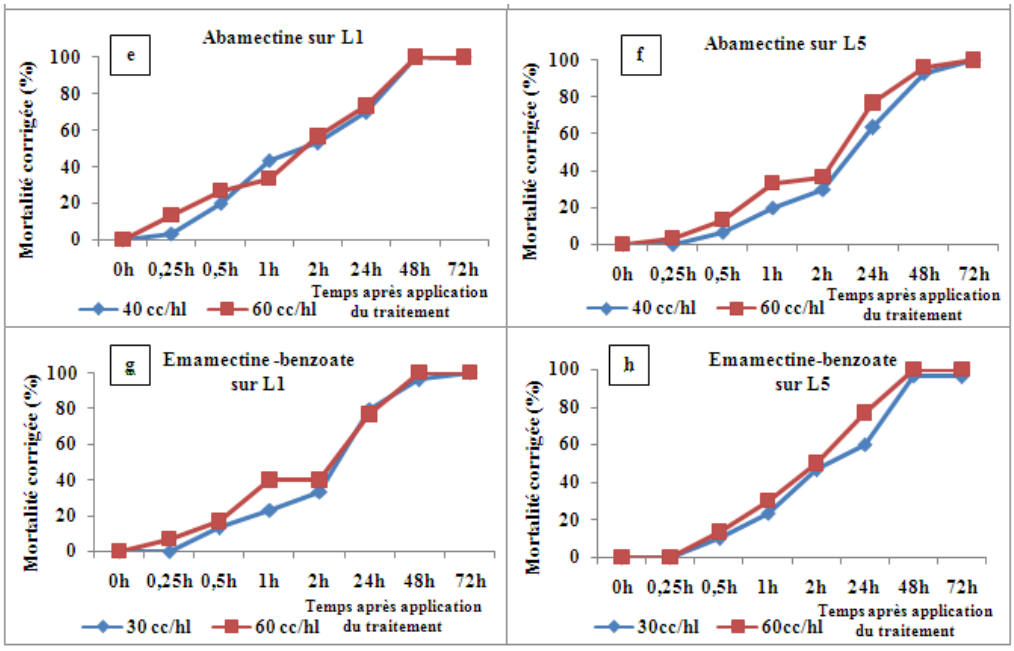


Planche VII : Evolution de la mortalité corrigée chez les stades larvaires L1 et L5 sous l'effet des deux concentrations de chaque produit testé, appliquées sous les conditions contrôlées du laboratoire à T°= 28 ± 1 °C, 16:8 (L: O) et 65 ± 5% (HR).

II.1.2. Comparaison de l'effet des doses optimales déterminées des quatre substances actives testées sur les stades larvaires L1 et L5 d'*Ectomyelois ceratoniae*

Les résultats de la comparaison de l'effet des doses optimales déterminées des quatre substances actives testées sur les stades L1 et L5 de la pyrale des dattes sont présentés dans la figure 36.
Les doses optimales des substances actives choisies pour contrôler les stades larvaires L1 et L5 d'*E. ceratoniae* sont les doses les plus faibles puisqu'il n'y a pas eu de différence significative entre les deux doses testées pour chaque substance active. De ce faite le choix de la dose optimale était basé sur la plus faible concentration qui peut d'une part contrôler le ravageur et d'autre part présenter un moindre risque pour l'environnement et la faune utile. Ces doses optimales sont respectivement 60 cc/hl pour le spinosade, 60 cc/hl pour l'azadirachtine, 40 cc/hl pour l'abamectine et 30 cc/hl pour l'emamectine benzoate.
L'application de ces doses sur le premier stade larvaire L1, (Figure 36.a), n'a pas montré de différence significative sur sa mortalité (P=0,018, F=3,444, ddl=39). Cependant le spinosade a agit plus rapidement que les autres traitements sur la mortalité des L1 où 100 % de la mortalité était enregistrée après 24 heures de son application, alors que pour les autres traitements, la mortalité totale des larves n'était enregistrée qu'au bout de 48 heures de leurs applications.
Pour le dernier stade larvaire L5, 100% de la mortalité corrigée n'était enregistrée qu'après 48 heures de l'application de tous les traitements (Figure 36.b). L'analyse statistique n'a pas montré de différence significative entre ces doses sur la mortalité des L5 (P=0,045, F=2,728, ddl=39).

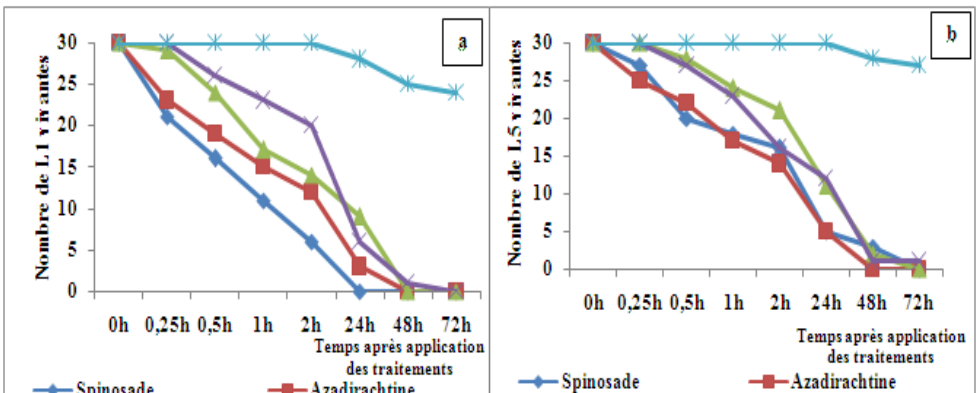


Figure 36 : Comparaison de la mortalité des stades larvaires L1 (a) et L5 (b) sous l'effet des concentrations optimales déterminées des substances actives appliquées sous les conditions contrôlées du laboratoire à T°= 28 ± 1 °C, 16:8 (L: O) et 65 ± 5% (HR).

II.2. Essais de lutte contre *E. ceratoniae* au verger des oranges Thomson

Au niveau du verger agrumicole, les mêmes substances actives étaient testées afin d'évaluer leurs efficacités dans le contrôle de la pyrale des dattes.

Vu le développement endophyte de ce ravageur, tous les traitements appliqués visaient les jeunes stades baladeurs. Les résultats de cet essai sont illustrés dans le tableau 23 qui montre qu'après 3 jours de leurs applications, une faible réduction des populations larvaires d'*E. ceratoniae*était enregistrée pour tous les traitements. Le taux le plus élevé de mortalité corrigée 15,4% était enregistré pour le spinosade à la dose de 60 cc/hl alors que les autres produits exerçaient un effet similaire avec une mortalité corrigée faible de 7,7%. L'emamectine-benzoate à la dose de 30 cc/hl, n'a eu aucun effet sur la mortalité des larves d'*E. ceratoniae*. Après sept jours de l'application des traitements, l'efficacité la plus élevée était enregistrée pour le spinosade avec 61,5% de réduction de la population larvaire pour la dose de 60 cc/hl et 46,2% pour la dose de 90 cc/hl.

Aucune efficacité de l'emamectine-benzoate à la dose de 30 cc/hl n'était enregistrée. A cette date, une baisse d'infestation de 18% était enregistrée pour le spinosade à 60 cc/hl.

Après 14 jours de l'application des traitements, tous les produits ont permis de réduire la population immature du ravageur, cependant le taux de mortalité corrigée le plus élevé était

enregistré par le spinosade avec 57% et 50% respectivement pour les doses de 60 et 90 cc/hl. L'azadirachtine aux doses de 60 et 90 cc/hl, ainsi que l'emamectine-benzoate à 60cc/hl ont montré une efficacité moyenne de l'ordre de 35,7%, alors que l'abamectine sous les deux doses a eu un faible effet sur le contrôle de la pyrale des dattes.

Après 21 jours de l'application des traitements, des faibles taux de mortalité corrigée étaient enregistrés pour tous les produits testés avec un maximum de 17,6% pour le spinosade à la dose de 60 cc/hl et l'azadirachtine aux doses de 60 et 90cc/hl. L'analyse statistique a montré une différence significative entre les traitements testés sur la réduction de la population du ravageur (P=0,350, F=1,158, ddl=44). En effet, le tableau 23 montre que tous les produits testés ont pu réduire la population du ravageur avec une différence significative pour le spinosade à la dose de 60 cc/hl qui était le plus efficace pour le contrôle d'*Ectomyelois ceratoniae.* Tous les autres produits testés ont montré une efficacité moyenne intermédiaire entre le témoin et le spinosade à 60cc/hl dans la lutte contre *E. ceratoniae* au niveau du verger agrumicole.

Tableau 23 : Efficacité des produits testés (pourcentage de mortalité corrigée) sur le contrôle d'*Ectomyelois ceratoniae* après 3, 7, 14 et 21 jours de leurs applications par pulvérisation foliaire au niveau du verger agrumicole de Morneg.

	Efficacité (%)			
	J+3	J+7	J+14	J+21

Spinosade 60 cc/hl	15,4	61,5	57,1	17,6
Spinosade 90 cc/hl	7,7	46,2	50,0	11,8
Azadirachtine 60 cc/hl	7,7	23,1	35,7	17,6
Azadirachtine 90 cc/hl	7,7	38,5	35,7	17,6
Abamectine 40 cc/hl	7,7	7,7	14,3	5,9
Abamectine 60 cc/hl	7,7	23,1	28,6	11,8
Emamectine-benzoate 30 cc/hl	0	0	14,3	11,8
Emamectine-benzoate 60 cc/hl	7,7	30,8	35,7	11,8

III.Discussion

Le spinosade, est un produit fermenté dérivé du mélange de deux toxines (spinosyne A et D) sécrétées par une bactérie vivant dans le sol *Saccharopolyspora spinosa*. Il agit par contact à tous les stades de la vie des insectes, y compris les œufs, les larves et les adultes. Les œufs doivent être pulvérisés directement, mais les larves et les adultes peuvent être efficacement affectés par contact avec les surfaces traitées. Ce bio-pesticide est plus efficace lorsqu'il est ingéré, montrant, généralement, une plus grande sélectivité vis-à-vis des insectes cibles (Bacci *et al.,* 2016). Son efficacité était démontrée contre divers ordres d'insectes principalement les lépidoptères comme *Spodoptera littoralis* (Noctuidae), *Prays citri* (Hyponomeutidae) et *Glyphodes pyloalis* (Pyralidae) (Pineda *et al.,* 2004 ; Jendoubi, 2007 ; Piri *et al.,* 2014). Les résultats de cette étude ont montré l'efficacité de la biomolécule contre *E. ceratoniae* au niveau du laboratoire, où 100 % de mortalité corrigée était enregistrée 24 et 48 heures après application de la dose de 90 cc/hl respectivement sur L1 et L5.

Au niveau du verger agrumicole, une efficacité de l'ordre de 61,5% était obtenue pour la dose de 60 cc/hl.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Hadjeb *et al.*,(2017) qui ont montré que, sous conditions contrôlées, l'efficacité du spinosade contre le premier stade larvaire L1 d'*E. ceratoniae*augmente en fonction du temps d'exposition au bio-pesticide. Egalement, les travaux de Khoualdia *et al.,* (2002) ont confirmé que les traitements au spinosade à de faibles doses

sont capables de réduire l'infestation de la pyrale au niveau des palmeraies tunisiennes où le taux d'infestation est passé de 7% pour le témoin à 2 % pour les traités. Au niveau du verger agrumicole, Chakroun (2013) a également confirmé, la capacité du spinosade à réduire le taux d'infestation de la pyrale.

L'azadirachtine, est un insecticide naturel d'origine végétale (*Melia azedarach*) qui agit par contact et ingestion. Il affecte le processus de mue chez les insectes, mais aussi, possède un effet anti-alimentaire, répulsif, de confusion sexuelle et d'inhibition de la ponte chez les femelles. Des travaux antérieurs sur la lutte contre la teigne du citronnier *Prays citri* au niveau du verger, ont montré que la dose de 5kg/hl d'une suspension de *Melia azedarach* a engendré une mortalité corrigée de 76,9% après deux semaines de son application (Jendoubi ,2007). Appliqué sur *Ectomyelois ceratoniae*, les résultats de notre essai ont montré que ce bio-pesticide peut causer la mortalité de la totalité des premier et dernier stades larvaires après 48 heures d'application sous conditions contrôlées. Mais au niveau du champ, le taux de mortalité corrigée n'a pas dépassé les 38,4%. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Mehaoua *et al.,* (2013) qui ont confirmé que la mortalité du stade L1 d'*E. ceratoniae*est significativement et positivement corrélée avec le temps d'exposition à l'azadirachtine au niveau du laboratoire. Dans les palmeraies tunisiennes, un essai conduit par Khoualdia *et al.,* (2002) a montré que ce bio-pesticide a engendré une diminution maximale de l'infestation de 16% au niveau du témoin à 2,4% chez les traités.

L'abamectine, ayant une action translaminaire et de contact, il agit lentement bien que les ravageurs soient paralysés juste après qu'ils soient exposés au produit et la mortalité maximale était observée après 3 à 5 jours.

Une remarquable efficacité de ce produit était démontrée contre un autre lépidoptère ravageur des agrumes *Phyllocnistis citrella* (Rae *et al.,* 1996). Notre étude a montré qu'au niveau du laboratoire, cet insecticide peut engendrer une mortalité corrigée de 100%, entre 48 et 72 heures après exposition au traitement respectivement pour L1 et L5. Mais au niveau du verger agrumicole, le taux de mortalité corrigé n'a pas dépassé les 28,6% pour la dose de 60 cc/hl.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Chakroun (2013) qui a démontré que le pourcentage d'infestation par *E. ceratoniae* est passé de 40% chez le témoin à 10 % chez les traités suite à l'application de l'abamectine à 50 cc/hl au niveau du verger agrumicole.

L'emamectine-benzoate présente une bonne activité ovo-larvicide et agit principalement par ingestion. Cet insecticide, appliqué par injection au niveau du tronc, permet de lutter contre d'autres ravageurs, notamment le charançon rouge du palmier *Rhynchophorus ferrugineuse* et la pyrale du buis *Cydalima perspectalis* (Bras *et al.*, 2017). Les résultats de cette étude ont montré qu'au niveau du laboratoire, la mortalité corrigée de 100% n'était obtenue qu'après 72 heures d'application du traitement. Cependant, au niveau du verger agrumicole, cet insecticide a engendré une efficacité moyenne sur la pyrale des dattes avec un taux de mortalité corrigée de 35,7%.

Conclusion

Les essais de contrôle de la pyrale des dattes par différents traitements chimiques et biologiques ont montré une différence significative pour le spinosade dans la baisse du niveau d'infestation au niveau du verger agrumicole ce qui rend son intégration, dans un programme de lutte intégrée contre ce pyralide, prometteuse. Cependant, il est nécessaire de prévoir un intervalle de temps de 14 jours entre deux traitements pour maximiser l'efficacité de ce produit biologique. D'autre part, des essais sur la présence de résidus du produit en plus de sa toxicité sur les parasitoïdes d'*E. ceratoniae*doivent être conduits dans le but de préserver l'environnement, la faune utile et la santé humaine.

Partie C : Efficacité du piégeage de masse et des insecticides dans la lutte contre *Ectomyelois ceratoniae* au verger des oranges Thomson

Introduction

En absence de substances actives homologuées sur la pyrale des dattes sur agrumes, ce présent travail a pour but de tester l'effet combiné du piégeage de masse et de différents produits

chimiques et biologiques homologués sur d'autres lépidoptères ravageurs sous 2 modes d'applications (pulvérisation foliaire et en eau d'irrigation), sur la baisse du taux d'infestation de la pyrale des dattes au niveau du verger des oranges Thomson.

I.Matériel et Méthodes

I.1. Site expérimental

Le verger agrumicole choisi est situé dans la région de Takelsa de coordonnées géographiques (36°45'17.7"N 10°35'09.4"E). La variété d'agrumes choisie pour les essais est le Thomson Navel, avec une densité de plantation de 6 x 4 m conduite en système d'irrigation de goutte à goutte.

I.2. Protocole expérimental

I.2.1. Effet combiné du piégeage de masse et des insecticides dans la lutte contre la pyrale des dattes

Pour l'année 2014 un essai de lutte intégrée a été effectué. La parcelle expérimentale était divisée en 3 blocs.
Le bloc I de 0,75 ha de superficie comprenait l'essai de l'effet combiné de substances chimiques et biologiques associé à un piégeage de masse de densité 10 pièges par ha (au total 7 pièges y ont été installés).
Le bloc II (0,5 ha) comprenait l'essai de l'effet combiné du piégeage de masse de densité 10 pièges par ha (au total 5 pièges y ont été installés).
Le bloc III était considéré comme témoin (0,25ha).

Au niveau du premier bloc, 4 substances actives ont été testées comme indiqué dans le tableau 24.

Tableau 24 : Substances actives testées et mode d'application.

Nom commercial	Matière active	Concentration appliquée (cc/hl)	Mode d'application suivi
Tracer (240	Spinosade	60	Pulvérisation

SC)	(240g/l)		foliaire et en eau d'irrigation
Nuprid (200 SL)	Imidaclopride (200g/l)	60	Pulvérisation foliaire et en eau d'irrigation
Voliam Targo 063 (SC)	45g/l chlorantraniliprole + 18g/l d'abamectine	60	Pulvérisation foliaire et en eau d'irrigation
Bactospéine (WP)	*Bacillus thuringiensis* (16 000 UI/mg)	50	Pulvérisation foliaire et en eau d'irrigation

Deux répétitions ont été appliquées pour chaque produit (sauf pour le Voliam Targo une seule application). La première application des traitements était effectuée le 29 septembre 2014 et la 2ème application était réalisée le 20 octobre 2014.
Afin de coïncider les traitements avec la présence des jeunes stades baladeurs d'*E. ceratoniae*, des échantillons de 20 fruits étaient récupérés chaque semaine depuis début septembre dés que le pourcentage de présence des jeunes stades larvaires (L1+L2) dépassait les 50%, les traitements étaient appliqués.

I.2.2. Comparaison de différentes densités de piégeage de masse

Pour l'année 2015, afin de vérifier l'efficacité de la densité du piégeage de masse de 10p/ha, deux densités de piégeage de masse 10 et 14 p/ha ont été choisies. Chaque densité était appliquée sur une superficie de 0,5ha, ce qui implique l'installation de 7 pièges pour le premier bloc I et de 5 pièges pour le bloc II, alors que pour le bloc témoin, 2 pièges de suivis y ont été installés. Les pièges étaient installés le 19 septembre.

I.3. Evaluation de l'efficacité des différents traitements sur la pyrale des dattes

Pour la campagne agricole 2014, afin d'évaluer l'efficacité des différents traitements sur la baisse du niveau d'infestation de la pyrale des dattes, 10 fruits sur pied étaient récupérés de chaque pied traité et de chaque pied témoin à la récolte. Pour chaque produit testé 5 pieds étaient marqués.
De même, 5 pieds étaient marqués au niveau du bloc de piégeage de masse et 5 pieds au niveau du bloc témoin. Les fruits récupérés étaient examinés sous loupe binoculaire au niveau du laboratoire afin de déterminer les dégâts occasionnés par la pyrale des dattes.L'efficacité de chaque produit était évaluée selon le taux de mortalité corrigée obtenue par la formule d'Abbott (1925) exprimée par la formule suivante :

$$\mathbf{TR} = [(C-T)/C] \times 100,$$

avec**TR** : taux de mortalité corrigée, **C** : nombre d'individus vivants chez le témoin, **T** : nombre d'individus vivants chez les traités.

Pour la campagne agricole 2015, afin d'évaluer l'effet des deux densités de piégeages de masse appliquées, 5 pieds étaient marqués au niveau de chaque bloc traité, ainsi qu'au bloc témoin. Pour chaque pied marqué, le nombre total de fruits sur pied était calculé le jour de l'installation du piégeage de masse puis, à chaque semaine jusqu'à la récolte.
Les fruits chutés provenant de chaque arbre, ont été ramassés séparément et examinés sous loupe binoculaire au laboratoire pour chaque semaine jusqu'à la récolte (mi-décembre) afin de vérifier la présence d'*E. ceratoniae*. Les fruits endommagés ont été comptés en pourcentage du nombre total de fruits sur chaque arbre.L'efficacité des densités utilisées était évaluée selon la formule de Henderson-Tilton (Henderson et Tilton, 1955).

$$\% \text{ d'efficacité} = (1- (Ta / Ca). (Cb / Tb)) \times 100$$

Où: **Tb** est l'infestation dans la parcelle traitée avant l'application

Ta est l'infestation dans la parcelle traitée après l'application
Cb est l'infestation dans la parcelle de contrôle avant l'application
Caest l'infestation dans la parcelle de contrôle après l'application

Le niveau d'infestation d'*E. ceratoniae*dans les trois blocs (témoin + bloc 1 + bloc 2) était égal au début des expériences. En fait, ces blocs ont la même méthode pour la gestion des cultures, donc Cb était égal à Tb donc (Cb / Tb) = 1.

I.4. Données climatiques

La délégation de Takelsa, fait partie de l'étage bioclimatique semi-aride supérieur. Les températures mensuelles moyennes pour les années 2014 et 2015 sont présentées dans le tableau 25.

Tableau 25 :Températures mensuelles moyennes à Takelsa pour 2014 et 2015 (INM, 2014, 2015).

T(°C)	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Jui	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
2014	16,5	16	15	18,5	22	26,5	29	30,5	29,5	26	22	17
2015	15,5	14,5	15	19	24,5	27	29,2	31	26,6	22	17	12,7

I.5. Analyses statistiques

L'analyse statistique était effectuée moyennant le logiciel SPSS 16.0 (Inc.2007). Afin d'évaluer l'efficacité des traitements appliqués, des analyses de la variance étaient réalisées et la comparaison des moyennes était effectuée avec le test Duncan avec P =0,05.

II.Résultats et Discussion

II.1. Effet combiné du piégeage de masse et des insecticides dans la lutte contre la pyrale des dattes

Les résultats de l'effet combiné du piégeage de masse et des insecticides dans la lutte contre *E. ceratoniae* sont présentés dans le tableau 26.

Les résultats de cet essai ont montré que tous les traitements appliquésont permis de réduire la population larvaire de la pyrale des dattes au niveau du verger des oranges Thomson.

Le spinosade, appliqué en pulvérisation foliaire et associé au piégeage de masse a montré le taux de mortalité corrigé le plus élevé de 75,67%. D'autre part, les traitements avec leChlorantraniprole- abamectine appliqué en pulvérisation foliaire, l'imidaclopride appliquée en irrigation, le*Bt* appliqué en pulvérisation foliaire et le spinosade appliqué en irrigation tous associés à la même densité du piégeage de masse semblent exercer un effet similaire sur la réduction de la population d'*E. ceratoniae*avec des pourcentages de mortalités corrigées de 64,86 ; 62,16 ; 62,16 et 59,45% respectivement. Alors que, l'imidaclopride appliqué en pulvérisation foliaire,le Chlorantraniprole – abamectine appliqué en irrigation, le *Bt* appliqué en irrigation et associés au piégeage de masse, ainsi que le piégeage de masse uniquement semblent exercer le même effet sur la réduction de la population de la pyrale des dattes avec des pourcentages de mortalités corrigées respectifs de 51,35 ; 51,35 ; 48,64 et 48, 64%. L'analyse statistique a montré que tous les produits testés ont pu réduire la population du ravageur avec une différence significative pour le spinosade en pulvérisation foliaire associé au piégeage de masse où (P=0,000 ; F= 13,24).

Tableau 26 : Efficacité de l'effet combiné du piégeage de masse et des insecticides biologiques et chimiques testés et du piégeage de masse appliqué seul, exprimée en pourcentage de mortalité corrigée sur le contrôle d*'E. ceratoniae*dans le verger des oranges Thomson de Takelsa en 2014.

	TR(%)
Spinosade Foliaire + PM	75,67**a**
Spinosade Irrigation + PM	59,45**ab**
Bt Foliaire + PM	62,16 **ab**
Bt Irrigation + PM	48,64**b**

Imidaclopride Foliaire + PM	51,35**b**
Imidaclopride Irrigation + PM	62,16 **ab**
Chlorantraniprole et abamectine Foliaire + PM	64,86 **ab**
Chlorantraniprole et abamectine Irrigation + PM	51,35 **b**
PM	48,64**b**

Le spinosade est un bio-insecticide qui agit par contact et ingestion et permet de contrôler très efficacement les chenilles de nombreux insectes lépidoptères sur de nombreuses cultures. Il est issu de la fermentation d'une bactérie du sol actinomycète naturellement, *Saccharopolyspora spinosa* (Larson *et al.*,1999).Nos résultats, ont montré une efficacité plus élevée dans la lutte contre *E. ceratoniae* lorsqu'il est appliqué en pulvérisation foliaire.

Au niveau des palmeraies, Khoualdia *et al*., (2002), ont reporté que les traitements au spinosade en pulvérisation foliaire à de faibles doses sont capables de réduire l'infestation de la pyrale des dattes de 7 à 2% respectivement pour les palmier témoins et les palmiers traités.

De plus, au niveau des grenaderaies, Braham (2017), a montré l'efficacité du spinosade appliqué en pulvérisation foliaire à la dose de 50 cc/hl dans la baisse du niveau d'infestation par *E. ceratoniae*.

Egalement, Chakroun (2013), a confirmé la capacité du spinosade à 50 cc/hl dans la réduction de la population larvaire d'*E. ceratoniae*au niveau des orangeraies.

Le *Bt*est un insecticide biologique, qui agit par ingestion, dont la matière active est constituée par le complexe "spore-cristal" de la bactérie *Bacillus thuringiensis* provoquant la paralysie de l'appareil digestif et les insectes atteints cessent de s'alimenter et meurent de faim. Efficace notamment contre les chenilles des lépidoptères. Nos résultats ont montré une efficacité plus importante de ce bio-insecticide lorsqu'il est appliqué en pulvérisation foliaire. En grenaderaies, ce bio-insecticide, appliqué en pulvérisation foliaire à la dose de 50 cc/hl, a pu baisser le niveau d'infestation par *E. ceratoniae* (Sayed *et al.,* 2015 ; Braham, 2017). En orangeraies, Uygun et Satar (2008), ont recommandé l'utilisation de ce bio- insecticide pour la lutte

contre *E. ceratoniae*. Par ailleurs, le *Bt* appliqué en pulvérisation foliaire, sur un autre lépidoptère, montre une importante réduction de la population de la teigne du citronnier *Prays citri* (Thligène, 2013).

L'imidaclopride, est un insecticide chimique de la famille des chloronicotinyles, doté de propriétés systémiques, agissant par contact et ingestion sur le système nerveux des insectes. Nos résultats ont montré que l'efficacité de cet insecticide est plus importante lorsqu'il est utilisé en irrigation. Les travaux de Braham (2017) ont également reporté l'efficacité de cet insecticide dans la baisse du niveau d'infestation d'*E. ceratoniae*appliqué à la dose de 60 cc/hl. Par ailleurs, appliqué sur d'autres lépidoptères, les travaux de Ahmad *et al.,* (2013) ont indiqué que l'imidaclopride pourrait être efficacement utilisée dans la lutte intégrée contre *Helicoverpa armigera.*

Chlorantraniprole et abamectine agissent en synergie par contact et ingestionprovoquant l'épuisement des réserves de calcium intracellulaire dans les fibres musculaires, et causent la contraction incontrôlée des muscles, la paralysie puis la mort de l'insecte associé à un effet ovo-larvicide et adulticide. Nos résultats ont montré son efficacité dans la lutte contre *E. ceratoniae* lorsqu'il est appliqué en pulvérisation foliaire. Les travaux de Braham (2017) ont également montré son efficacité dans la baisse du niveau d'infestation d'*E. ceratoniae*appliqué à la dose de 60 cc/hl en grenaderaies.

II.2. Effet de la densité du piégeage de masse dans la lutte contre la pyrale des dattes

Afin d'évaluer l'efficacité de deux densités du piégeage de masse de 10 et 14 pièges /ha dans la lutte contre *E. ceratoniae* au niveau des vergers d'oranges Thomson, un essai a été mené dans le verger de Takelsa en 2015 dont les résultats sont présentés dans la figure 37.

Les deux densités appliquées ont permis la baisse du niveau d'infestation de 9,64% à 3,92% et 3,32% respectivement entre le témoin et les densités de 10 et 14 p/ha. L'efficacité des deux

densités du piégeage de masse obtenue par la formule de (Henderson et Tilton, 1955) est égale à 62, 44%.

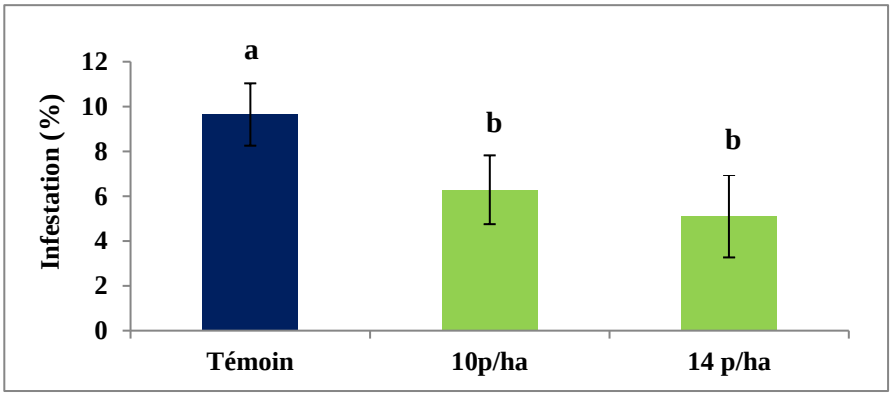


Figure 37 : Variation du niveau d'infestation de la pyrale des dattes en fonction de la densité du piégeage de masse au niveau du verger d'oranges Thomson de Takelsa en 2015.

Plusieurs travaux antérieurs sur la détermination de la densité optimale du piégeage de masse pour la lutte contre *E. ceratoniae* ont été menés. Sur grenadier, Ben Ayed (2006), Mejri (2008) et Hached (2012) ont confirmé que la densité de 10 pièges / ha est la plus adéquate.

Mediouni (2005) a démontré que la densité nécessaire pour le contrôle d'*E. ceratoniae*sur grenadiers est de 12 pièges/ha qui a permis de baisser l'infestation de 28 % en 2001 à 4,5 % en 2004.Cependant, la phéromone sexuelle utilisée dans cet essai, par Mediouni (2005), était en cours d'expérimentation par une firme française alors que celle utilisée par les autres auteurs est officiellement homologuée et proposée sur le marché par une firme américaine.

Sur les oranges Thomson, Chakroun (2013) et Dhouibi *et al.*, (2016) ont également reporté l'efficacité de la densité de 10p/ha.

Conclusion

Les résultats de cette étude ont montré l'efficacité de l'effet combiné du piégeage de masse appliqué à la densité du 10 pièges/ ha et associé au bio-insecticie "spinosade" appliqué en pulvérisation foliaire à la dose de 60 cc/hl. Ces résultats encouragent ainsi d'utiliser cette combinaison dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée contre la pyrale des dattes en vergers d'agrumes à condition de coïncider les traitements avec la présence des stades cibles du ravageur et de bien couvrir les pieds d'oranges avec le traitement.

Chapitre VI : *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) : lâchers innondatifs pour le contrôle biologique d'*E. ceratoniae* et effets non intentionnels des substances les plus utilisées en vergers d'agrumes sur ce parasitoïde

Introduction

La lutte biologique est un outil crucial dans le contrôle des ravageurs des cultures. Il est défini comme la réduction des populations d'ennemis des plantes par des agents naturels et implique généralement un rôle humain actif (Holmes *et al.,* 2016). Le but de cette méthode est de réduire les populations d'organismes nuisibles en dessous des seuils économiques de nuisibilité (Bale *et al.,* 2008). Les mesures de lutte biologique comprenaient l'utilisation d'ennemis naturels tels que les prédateurs, les microbes, les nématodes bénéfiques et les parasitoïdes (Mahr *et al.,* 2008).

Le comportement endophytique de la pyrale des dattes rend son contrôle inefficace avec les insecticides (Dhouibi *et al.,* 2000) d'où le recours à l'emploi de méthodes alternatives notamment grâce à ses ennemis naturels.

Trichogramma cacoeciae (Marchal) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) est une espèce thélytoque avec une large distribution géographique (Pinto, 1999). En Tunisie, une souche autochtone sélectionnée par Khoualdia *et al.,* (1995) a prouvé son efficacité pour lutter contre *E. ceratoniae* sur palmiers dattiers (Khoualdia *et al.,* 2008) en plus des vergers de grenade (Lebdi-Grissa et Ben Ayed, 2005).

Dans cet ordre, et avec les rares informations sur son efficacité dans les vergers d'agrumes, ce travail a été mené pour évaluer la capacité de *T. cacoeciae* à contrôler *E. ceratoniae* dans un verger d'oranges Thomson dans la première partie, et de vérifier dans un deuxième lieu, sous conditions contrôlées, la toxicité des produits les plus utilisées dans les vergers d'agrumes sur les stades de son développement.

Partie A : Lutte biologique contre *E. ceratoniae* par des lâchers de l'oo-parasitoïde *Trichogramma cacoeciae* Marchal dans un verger d'oranges Thomson

I.Matériel et Méthodes

I.1. Site expérimental

L'essai a été réalisé en 2015 dans un verger d'oranges Thomsonsitué à Morneg, de coordonnées géographiques (36°43'11.0"N 10°17'09.1"E).Le champ couvrait une superficie de 0,9 ha et conduit en mode conventionnel avec une

densité de plantation de 6x4m et un système d'irrigation de goutte à goutte.

I.2. Élevage de *Trichogramma cacoeciae*

Des œufs irradiés aux ultraviolets d'un hôte de substitution, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) ont été utilisés pour maintenir et élever *T. cacoeciae* au laboratoire (Lebdi-Grissa et Ben Ayed, 2005). Ces œufs ont été saupoudrés sur des morceaux de papier cartonné (40 x 15 mm) préalablement enduits d'un côté avec une gomme arabique (10%) pour les coller. Ensuite, les papiers en carton ont été conservés dans des tubes à essai en verre bouchés avec du coton contenant des adultes de trichogrammes, qui vont pondre dessus. Les tubes ont été placés dans une pièce acclimatée (16L: 8O) dans des conditions constantes de température (25 ± 1 ° C) et d'humidité relative (60 ± 10%). Les œufs parasités obtenus ont été conservés jusqu'à l'éclosion.

Lors de leur émergence, une goutte de miel a été placée dans le tube pour nourrir les guêpes. Ces adultes ont reçu des œufs d'*E. kuehniella* fraichement pondus.

I.3. Lâchers de *Trichogramma cacoeciae* sur le terrain

Afin de coïncider les moments des lâchers avec la présence des œufs d'*E. ceratoniae*au niveau du verger, des échantillons de 20 fruits par semaine étaient ramenés au niveau du laboratoire depuis le 15 aout. Trois lâchers de *T. cacoeciae* ont été effectués tôt le matin, le 24 aout, le 7 septembre et le 3 novembre 2015.

Les unités de libération étaient des cartes en carton contenant chacune environ 1 000 œufs d'*E. kuehniella* parasités par *T. cacoeciae*. Chaque papier en carton a été placé dans une moustiquaire (avec des mailles de 2 mm^2 permettant l'échappement des parasitoïdes émergeants) et accroché à chaque arbre appartenant au bloc traité par un fil imbibé de colle pour éviter toute prédation par les fourmis.

Ces papiers en carton ont été placés sur les branches terminales intérieures des agrumes, à une hauteur de 1,5 m, pour protéger les œufs parasités contre les variations de température à l'extérieur de la canopée (Figure 38).

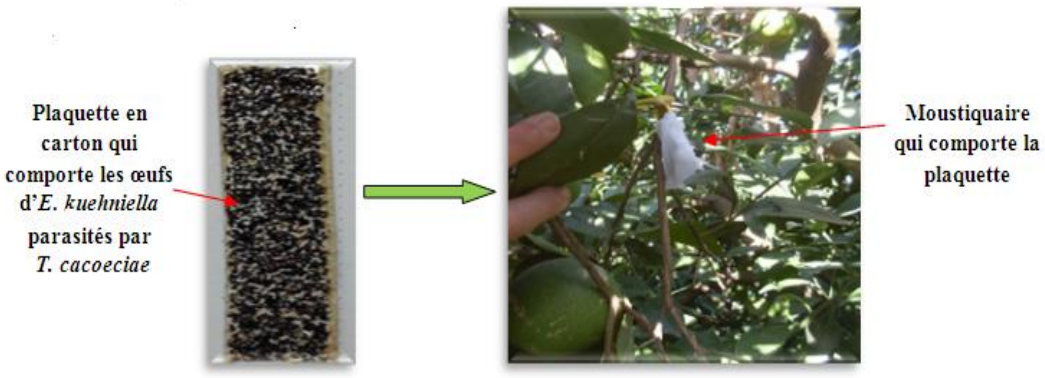


Figure 38: Emplacement de la plaquette du trichogramme dans la moustiquaire (Cliché personnel, 2015).

Trois cartons ont été placés sur chaque arbre (dans les directions du nord-est, du sud-est et du sud-ouest) pour appliquer 3000 parasitoïdes par arbre et par lâcher. Un total de trente arbres a été utilisé pour l'essai. Dix arbres constituaient le bloc élémentaire de l'essai: un bloc pour le contrôle et deux autres blocs pour le traitement.

Un total de trente plaquettes en carton a été utilisé par lot de Trichogramma par bloc traité.

A la fin du traitement, chaque arbre traité a reçu 9000 œufs d'*E. kuehniella*parasités par*T. cacoeciae*. Au total, 180 000 guêpes ont été libérées au champ (vingt arbres traités).

Afin de vérifier la présence de trichogrammes autochtones dans le verger d'oranges Thomson avant d'effectuer les lâchers, deux cartons contenant 1000 œufs d'*E. Kuehniella* non parasités ont été placés chaque semaine sur le terrain depuis le mois juin. Ces cartons étaient remplacés chaque semaine, et au niveau du laboratoire sous loupe binoculaire, on vérifiait si elles étaient parasités ou pas par les trichogrammes.

I.4. Taux d'émergence de *Trichogramma cacoeciae*

Afin de déterminer le taux d'émergence de *T. cacoeciae*, les plaquettes en carton ont été récupérées dix jours après chaque

libération et examinées sous loupe binoculaire. Dix cartons ont été évalués dans les conditions du laboratoire pour comparer le taux d'émergence entre les conditions contrôlées et les conditions du verger. Le taux d'émergence a été calculé comme suit:

Taux d'émergence=

$$\frac{\text{Nbr. d'œufs d'}E.\ Kuehniella\text{ parasités par }Trichogramma\text{ qui ont éclos}}{\text{Nbr. total d'œufs d'}E.\ Kuehniella\text{ parasités par }Trichogramma\text{ présents sur le carton}} \times 100$$

I.5. Estimation du taux de parasitisme de Trichogramma sur le terrain

Le taux de parasitisme a été estimé en installant des plaquettes en carton contenant 1000 œufs non parasités d'*E. kuehniella*placées dans des moustiquaires et attachées aux arbres traités. Chaque pied d'oranges Thomson traité a reçu une plaquette en carton placée au tronc à une hauteur de 1,5 m. Ces plaquettes ont été installées le jour de chaque lâcher et une semaine après. Ce taux a également été calculé sous les conditions du laboratoire en utilisant dix plaquettes cartonnées.

Le taux de parasitisme a été calculé comme suit:

Taux de parasitisme = (nombre total d'œufs d'*E. Kuehniella*qui ont été parasités/ nombre total d'œufs d'*E. Kuehniella* non parasitésprésents initialement sur le carton) x100.

I.6.Efficacité de *T. cacoeciae* pour lutter contre *E. ceratoniae* dans le verger d'oranges Thomson

L'efficacité du parasitoïde à contrôler le pyralide a été évaluée par l'examen de tous les fruits chutés de chaque arbre appartenant à la parcelle expérimentale (témoin + traité).

Les fruits chutés, provenant de chaque arbre, ont été ramassés séparément et examinés le jour du premier lâcher puis chaque semaine jusqu'à la récolte (mi-décembre 2015). Les fruits endommagés ont été comptés en pourcentage du nombre total de fruits sur chaque arbre.

Le succès des lâchers de Trichogramma a été évalué par la diminution de la densité des organismes nuisibles en utilisant la formule de Henderson-Tilton (Henderson et Tilton, 1955).

$$\textbf{\% d'efficacité} = (1- (Ta / Ca). (Cb / Tb)) \times 100$$

Où: **Tb** est l'infestation dans la parcelle traitée avant l'application
Ta est l'infestation dans la parcelle traitée après l'application
Cb est l'infestation dans la parcelle de contrôle avant l'application
Ca est l'infestation dans la parcelle de contrôle après l'application

Le niveau d'infestation d'*E. ceratoniae*dans les trois blocs (témoin + bloc 1 + bloc 2) était égal au début des expériences. En fait, ces blocs ont la même méthode pour la gestion des cultures, donc Cb était égal à Tb donc (Cb / Tb) = 1.

I.7. Données climatiques

Les températures mensuelles moyennes et les humidités relatives mensuelles moyennes de la région de Morneg en 2015 sont présentées dans le tableau 27.

Tableau 27 : Données climatiques de la région de Morneg en 2015 (INM, 2015).

	Jan	**Fév**	**Mar**	**Avr**	**Mai**	**Jun**	**Jui**	**Aou**	**Sep**	**Oct**	**Nov**	**Déc**
T (°C)	12,8	11,4	13,9	17	22,2	25,1	29,1	28,8	26,6	22,8	17,6	13,6
HR (%)	69	74	74	66	57	60	55	65	62	69	75	81

I.8. Analyses statistiques

Les données obtenues correspondent aux adultes de *T. cacoeciae* émergés d'*E. Kuehniella*, le taux de parasitisme de *T. cacoeciae* sur les œufs d'*E. Kuehniella* et le taux d'infestation d'*E. ceratoniae*sur les oranges Thomson a été analysé en utilisant une ANOVA à un facteur. Les moyennes des traitements ont été séparées en utilisant le test à plage multiple de Duncan à P = 0,05. Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel SPSS 16 (SPSS Inc. 2007).

II.Résultats et Discussion

II.1. Taux d'émergence de *Trichogramma cacoeciae*

La détermination du taux d'émergence donne une idée du nombre réel de trichogrammes sur le terrain. Les résultats des taux d'émergence sont présentés dans le tableau 28 qui montre qu'en moyenne, le nombre d'adultes de *T. cacoeciae* émergés au cours des trois lâchers était de 595,8 / 1000 œufs parasités, ce qui signifie que 59,58% des œufs libérés ont émergé chez les trichogrammes. Une différence significative pour le taux d'émergence entre le témoin (sous les conditions du laboratoire), le premier et le second lâcher par rapport au troisièmea été enregistrée où (P = 0,000 ; F = 18,441 et ddl = 189).
La différence entre les conditions du laboratoire et du terrain peut s'expliquer par plusieurs facteurs tels que la qualité et les conditions de stockage des œufs d'*E. Khueniella* utilisés pour élever ces parasitoïdes (Blibech, *et al.*, 2010; Ozder, 2004).

Tableau 28: Moyenne (± ES) du nombre des adultes de *T. cacoeciae* émergeant des œufs parasités d'*E. kuehniella*et le taux d'émergence correspondant (%) sous les conditions du laboratoire et du verger 10 jours après le lâcher.

	Nbr. d'adultes émergés / Nbr. initial d'œufs parasités	**Taux d'émergence (%)**
Conditions du laboratoire	904,5 ± 26,8 **c**	90,45
Lâcher 1	627,2 ± 127,1 **b**	62,72
Lâcher 2	641,2 ± 152,7 **b**	64,12
Lâcher 3	518,9 ± 206 **a**	51,89

Les facteurs climatiques tels que la pluie et la température pourraient jouer un rôle clé pour expliquer cette différence. En effet, les chutes de pluie enregistrées durant la première semaine de novembre 2015 ont provoqué la lixiviation des plaquettes

d'œufs (pouvant atteindre ≈ 97% sur deux plaquettes cartonnées). En effet, les pluies tombées délogent de nombreux œufs provoquant leurs chutes puis leur destruction sur le sol ce qui conduit à la diminution du taux d'émergence de 62,72% et 64,12 % pour les deux premiers lâchers respectivement à 51,89 % pour le dernier lâcher.

En outre, la température optimale pour l'élevage de *T. cacoeciae* sur un hôte alternatif (*E. kuehniella*) est de 25 °C, tandis que nos lâchers ont été réalisés en août (28,8 °C) et en novembre (17,6°C). Néanmoins, des études antérieures menées par Pizzol *et al.*, (2010) et Zouba, (2016) ont montré que les taux d'émergence étaient relativement stables aux quatre températures testées (15, 20, 25 et 30°C) sur *T. cuehniella*sous conditions contrôlées.Par ailleurs, Krechemer et Foerster, (2015) ont montré que l'émergence de trois espèces de Trichogramma, *T. pretiosum, T. atopovirilia et T. acacioi* élevées sur des œufs de *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) n'était pas affectée par les mêmes températures testées. Par conséquent, ce facteur ne peut pas être pris en compte.

Enfin, nous avons remarqué que les plaquettes cartonnées ont été attaquées par plusieurs prédateurs malgré toutes les précautions prises (moustiquaire et colle) ce qui corrobore avec les travaux de Pereira *et al.*,(2004).
Ces auteurs ont démontré que les œufs parasités de *T. cacoeciae* peuvent être attaqués, avec un pourcentage de prédation de 97,8%,par des fourmis et d'autres prédateurs.

II.2. Estimation du taux de parasitisme

Le taux de parasitisme est défini comme le nombre d'œufs noircis comparé au nombre d'œufs offerts. Les résultats de la variation du taux de parasitisme entre les conditions du laboratoire et du verger et aussi entre les 3 lâchers sont décrits dans le tableau 29. La variation du taux moyen de parasitisme entre les conditions du laboratoire et du verger, présentée dans le tableau (29.a), a montré une différence significative où ce taux variait entre 88,2% et 23% respectivement avec (P= 0, 000 ; F =

420,186 et ddl = 15). Cette faiblesse des performances sur le terrain due à la difficulté des parasitoïdes à localiser l'œuf hôte peut être influencée par des facteurs environnementaux tels que le vent ; ainsi Yu, *et al.*,(1984) ont confirmé que le vent affecte la dispersion des adultes. En outre, les basses températures et les pluies peuvent réduire la recherche et le parasitisme (Suh, 1998). De plus, Pizzol, *et al.*,(2010) ont confirmé que l'humidité et la photopériode pouvaient influencer l'efficacité du parasitisme chez les Trichogrammes.

De plus, les espèces de Trichogrammes utilisent divers sémiochimiques, y compris des kairomones hôtes, dans leur recherche des œufs hôtes (Noldus, 1989), qui peuvent être affectés dans des conditions du terrain.

Par ailleurs, en comparant les résultats de la variation du taux de parasitisme de *T. cacoeciae* sur les œufs d'*E. kuehniella*entre les 3 lâchers (Tableau 29.b), une différence significative a été notée. En effet, le pourcentage de parasitisme le plus important a été enregistré pour le deuxième lâcher, 30,5%, alors que pour les deux autres lâchers, ce taux était de 22 et 17%, pour le premier et le troisième lâcher respectivement avec (P= 0,023 et F= 16,936).

Tableau 29:Taux moyen de parasitisme de *T. cacoeciae* sur les œufs d'*E. kuehniella*

a. Comparaison entre les conditions du laboratoire et du verger agrumicole

	Laboratoire	**Verger**
Taux de Parasitisme de *T. cacoeciae* sur *E. kuehniella* (%)	88,2±0,060 **a**	23±0,064 **b**

b.Comparaison entre les 3 lâchers sous les conditions du terrain

Période de contrôle	**Taux de Parasitisme (%)**
Lâcher 1	22 ± 1 **a**
Lâcher 2	30,5 ± 2,5 **b**

Lâcher 3	17± 1 **a**

Cependant, par rapport aux études précédentes, dans les vergers arboricoles, les taux de parasitisme enregistrés dans ces lâchers étaient relativement faibles. En effet, dans un essai réalisé par Khoualdia, *et al.,* (2008) dans une palmeraie tunisienne, le parasitisme de *T. cacoeciae* sur des œufs d'*E. ceratoniae*a atteint 78,7%. Appliqué sur la tordeuse de l'écorce de cerisier (*Enarmonia farmosana*), le taux de parasitisme de *T. cacoeciae* variait entre 72 et 74% (Breedveld et Tangioshi, 2006).

Les œufs des vers de carpocapse (*Cydia pomonella*) parasités par *T. cacoeciae* ont atteint des taux de parasitisme de 45% et de 31% dans les vergers de montagne de Crimée et en Inde respectivement (Dyadechko *et al.*, 1978; Pawar *et al.*, 1980). Le niveau de parasitisme des vers de la vigne (*Lobesia botrana*) avec *T. cacoeciae* dans les vignobles a atteint respectivement 45 et 50% pour la première et la deuxième générations du papillon (Hommay *et al.*, 2002). Même lorsqu'il est appliqué sur des cultures de solanacées, telles que la tomate, Cherif et Lebdi (2013) ont démontré que le taux de parasitisme de *T. cacoeciae* sur les œufs de *Tuta absoluta* variait entre 43,3 et 78,7%.

Ces résultats suggèrent que la taille et la structure de la culture pourraient avoir une incidence sur la performance au champ, en plus de la taille de l'œuf hôte (Bigler *et al.*, 1997, Roriz *et al.*, 2006).

D'autres espèces de Trichogramma ont été évaluées sur des œufs d'*E.ceratoniae*. Dans les palmiers algériens, les taux de parasitisme de*Trichogramma embryophagum* et *Trichogramma cordubensis* étaient d'environ 45% et variaient respectivement de 47 à 64% (Doumandji-Mitiche et Idder, 1986; Idder *et al.*, 2009). Dans les vergers de grenade iraniens, Mirkarimi (2000) a confirmé que, grâce aux lâchers de *Trichogramma embryophagum*, le pourcentage d'œufs parasités est passé de 17,5% dans des conditions naturelles à 53,1% dans la parcelle de lâcher massif.

II.3.Évaluation de l'efficacité des 3 lâchers *T. cacoeciae* contre *E. ceratoniae* en verger d'oranges Thomson

Afin de vérifier la présence de Trichogrammes autochtones dans le verger, des plaquettes en carton contenant les œufs d'*E. Kuehniella* non parasités étaient installées avant d'effectuer les lâchers. Les résultats de cet essai indiquaient l'absence de parasitoïdes autochtones sur le terrain.

Les résultats de l'évaluation de l'efficacité des 3 lâchers de *T. cacoeciae* sur la baisse du niveau d'infestation d'*E. ceratoniae*sont présentés dans la figure 39, qui montre que l'infestation pour toute la période de l'essai de la dernière semaine du mois d'aout jusqu'à la récolte (mi – décembre) était plus élevée dans le bloc témoin (19,03%) que dans les deux blocs traités où elle était similaire (10,56% en moyenne). L'efficacité de ce parasitoïde calculée par la formule de Henderson-Tilton, (1955) était de 44,5%. De plus, l'analyse statistique a montré une différence significative pour les taux d'infestations entre le témoin et les deux blocs traités après les lâchers de *T. cacoeciae* dans le verger d'oranges Thomson avec (P = 0,000 ; F = 16,250 et ddl = 29).

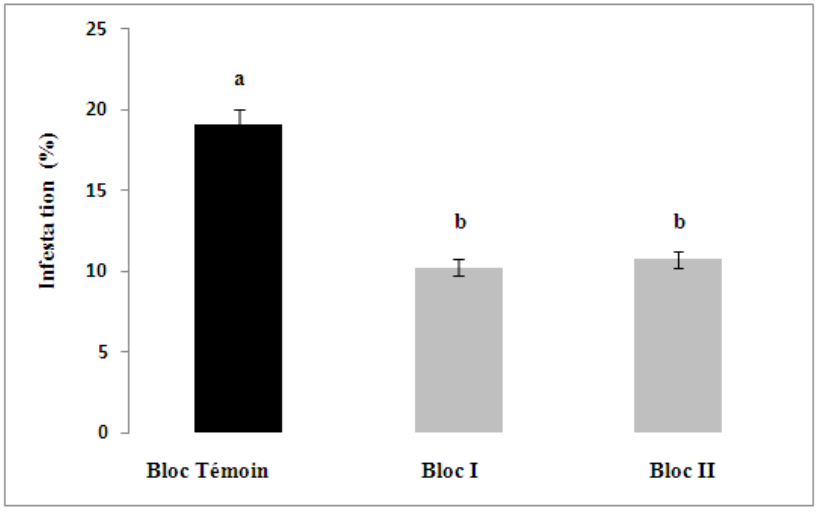


Figure 39 : Variabilité du taux d'infestation entre le bloc témoin et les blocs traités après les 3 lâchers de *T. cacoeciae* au niveau du verger agrumicole de Morneg en 2015.

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'efficacité des lâchers de Trichogramma dans le verger d'agrumes. Premièrement, le choix de la souche comme conseillé par Hommay *et al.*,(2002) qui a confirmé que les souches autochtones de Trichogramma sont généralement mieux adaptées aux conditions locales et sont l'option privilégiée pour le contrôle biologique des ravageurs. Ce qui justifie notre application de la souche tunisienne *T. cacoeciae* qui a prouvé son efficacité dans la lutte contre *E. ceratoniae* dans les parcelles de palmier dattier et de grenadier.
Deuxièmement, la dose de Trichogrmama utilisée: dans cet essai, le nombre d'œufs parasités était de 9 000 par arbre, mais seulement 5362 ont émergé en trichogrammes (le taux d'émergence obtenu était de 59,58%) ce qui signifie que pour un ha ciblé ayant reçu 1 800 000 œufs parasités, seulement 1072440 *T. cacoeciae* ont été réellement obtenus. Différentes doses de *T. cacoeciae* ont été testées dans les vergers tunisiens contre *E. ceratoniae*. Au niveau des palmeraies, Khoualdia*et al*., (2008), ont libéré 20 000 trichogrammes par hectare et ils ont obtenu 78,7% d'œufs parasités.
Au niveau des grenaderiaes, Lebdi-Grissa et Ben Ayed, (2005), ont relâché 15 000 *T. cacoeciae* par grenadier et le taux d'infestation est passé respectivement de 13,2% à 2,4% dans les parcelles témoins et traitées à la récolte. De plus, Dhouibi *et al.*,(2016) en libérant 25 000 de ces parasitoïdes par hectare de grenadier, le niveau d'infestation a diminué de 82% à 22%.
Dans les vergers d'agrumes Dhouibi *et al.*,(2016) ont démontré que la libération de *Trichogramma cacoeciae,*à la dose de 300 œufs / arbre, a diminué le niveau d'infestation à ≈ 8%.
Par ailleurs, plusieurs travaux ont évalué l'efficacité de ce parasitoïde, *T. cacoeciae*, sur d'autres lépidoptères. Stein (1960) a confirmé que les dommages causés par la carpocapse du

pommier diminuaient,suite aux lâchers de *T. cacoeciae*, d'environ 35 à 65% pendant la saison normale, mais sous forte densité d'hôtes et par temps très chaud, la réduction du carpocapse par *T. cacoeciae*n'était que de 10 à 45%. De plus, Almatni *et al.*,(2002) ont obtenu une efficacité de 34,37% (en libérant 300 *T. cacoeciae* / pommier), tandis que Sakr *et al.*,(2000) ont obtenu la meilleure efficacité avec 80, 6%.
Contre le ver de la vigne, *Lobesia botrana* dans les vignobles français, *T. cacoeciae* a obtenu un succès modéré (Barnay *et al.*, 2001).

Troisièmement, la fréquence des lâchers de parasitoïdes dépend de la disponibilité, en plus de la durée pendant laquelle les parasitoïdes doivent rester activement à la recherche de nourriture (Smith, 1994).
Enfin, les conditions artificielles d'élevage en masse peuvent sélectionner des changements génétiques qui réduisent l'efficacité du Trichogramme sur le terrain (Bigler, 1994).
Cependant, l'efficacité du parasitoïde sélectionné contre le même ravageur dépend du type de culture. Ainsi, Li(1994) a souligné que le nombre total de parasitoïdes libérés devrait être assez élevé pour contrôler la population d'insectes nuisibles cibles au niveau économique autorisé, qui varie selon le type et la croissance des cultures, le climat, les espèces et la densité de ravageur.

Par ailleurs, plusieurs autres parasitoïdes ont été testés pour contrôler *E. ceratoniae*. En grenaderaies, le taux de parasitisme de *H. hebetor* a atteint respectivement 55% et 95% (Dhouibi et Jammazi, 1993 ; Dhouibi *et al.*, 2000). En libérant *Trichogramma embryophagum*, le pourcentage de grenades endommagées à la récolte a été réduit de 72,2% dans la parcelle témoin à 24,2% dans la parcelle traitée (Mirkarimi, 2000). Dans les oasis de Tozeur, le taux de parasitisme de *Phanerotoma ocuralis* a atteint environ 80% (Khoualdia *et al.*, 1996).

Conclusion

Il en résulte de ces essais que la diminution du niveau d'infestation d'*E. ceratoniae*suite aux 3 lâchers de *Trichogramma cacoeciae* à la dose de 3000 *T. cacoeciae* / pied / lâcher dans les blocs traités, était relativement faible. Ce qui suggère de tester d'autres doses afin de mieux contrôler la pyrale des dattes s'attaquant aux oranges Thomson.

Partie B : Effets non intentionnels des produits les plus utilisés au niveau des vergers d'agrumes sur les stades immatures de l'oo-parasitoïde *Trichogramma cacoeciae* Marchal sous conditions contrôlées

Introduction

L'utilisation des insecticides au niveau des vergers agrumicoles pourrait affecter la faune utile comme les trichogrammes. Donc la connaissance détaillée des effets des traitements sur les stades les plus sensibles des ennemis naturels aidera à déterminer le bon moment de la pulvérisation pour les éviter. Dans ce contexte, le but de cette étude est d'évaluer, sous conditions contrôlées, les effets secondaires de six insecticides couramment utilisés dans les cultures d'agrumes sur les stades de développement immatures de *Trichogramma cacoeciae* Marchal agent de lutte biologique contre *Ectomyelois ceratoniae* Zeller.

I.Matériel et Méthodes

I.1. Elevage du parasitoïde oophage

La population de *Trichogramma cacoeciae* Marchal utilisée pour les expériences a été élevée sur le substitut de l'œuf hôte *Ephestia kuehniella* Zeller dans des conditions du laboratoire de température : 25 ± 1°C, d'humidité relative : 60 ± 10% et de photopériode: L/O: 16/8, à l'INAT.

I.2. Traitements testés

Deux bio-pesticides: Spinosade (240g/l) appliqué à la dose de (60cc hl-1) et *Bacillus thuringiensis* (16000 UI/mg) appliqué à

la dose de (250g hl-1) en plus de quatre insecticides chimiques: Abamectine (84g/l) appliqué à la dose (15 cc hl-1), Diméthoate (400g/l) appliqué à la dose (100cc hl-1), Malathion (500g/l) appliqué à la dose de (200cc hl-1) et Chlorpyrifos-éthyl(480g/l) appliqué à la dose de (150 cc hl-1) ont été utilisés dans les expériences. La concentration de chaque solution d'insecticide reflétait les doses homologuées au niveau des vergers d'agrumes. L'eau distillée a été considérée comme témoin.

I.3. Protocole expérimental

L'expérimentation a été réalisée selon le protocole de l'IOBC (Bueno *et al.*, 2008). La première étape consistait à coller 300 œufs d'*E. kuehniella* sur une bandelette de 0,7 cm^2 et les exposer dans un crachoir à 15 femelles de trichogrammes pendant 24 heures à 25±1°C, 60 ± 10% d'humidité relative et 16heures de lumière et 8 heures d'obscurité. Après 24 heures, les œufs d'*E. kuehniella*sont transférés dans de nouveaux crachoirs et stockés jusqu'à ce que les parasitoïdes atteignent le stade de développent souhaité. Ensuite, les œufs parasités obtenus sont traités par trempage des plaquettes dans des solutions insecticides pendant 10 secondes soit 3, 6 ou 9 jours après le parasitisme initial.

La concentration de chaque solution insecticide utilisée correspond au dosage recommandé lors de son homologation. Après 15 jours de traitement, on compte le nombre d'adultes émergeants.

I.4. Détermination des effets du traitement

La réduction de l'émergence a été calculée en utilisant la formule d'Abbott.

$$E\ (\%) = \frac{C-T}{C} \times 100$$ avec (C: adultes émergés pour le témoin, et T: adultes émergés en traitements)

Les valeurs 'E' calculées pour les traitements insecticides ont été classées selon l'Organisation Internationale de Contrôle Biologique (Bueno *et al.*, 2008).): classe 1 : inoffensif (E

<30%), classe 2: légèrement nocif (30% <E <79%), classe 3 : modérément nocif (80% <E <99%) et classe 4 : nocif (E> 99%).

I.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique SPSS (Inc, 2007). Les données relatives aux taux de Réduction des Émergences ont été soumises à une ANOVA à un facteur. Le test de Duncan à $P \leq 0,05$ a été utilisé pour séparer les moyennes des taux d'émergence.

II.Résultats et Discussion

Les résultats de l'effet des différentes substances testées sur les stades de développement de *T. cacoeciae*, exprimés en variation des taux d'émergence, sont présentés dans le tableau 30. Tous les traitements testés ont réduit l'émergence du parasitoïde*T. cacoeciae,* quel que soit le stade de développement sur lequel ils étaient appliqués.

Cette étude a montré que le spinosade était plus toxique lorsqu'il était appliqué sur le stade larvaire (classe 4: nocif) par rapport aux stades pré-pupe et pupe (classe 3: modérément nocif). Ces résultats ne concordent pas avec les travaux de Ksentini *et al*., (2010) qui ont indiqué que ce traitement était modérément nocif (classe 3) tant pour les stades larvaires que pour les stades pupes comparativement au stade pré- pupe (classe 2: légèrement nocif).

D'autre part, Maia *et al*., (2013) ont confirmé l'effet légèrement nocif de ce spinosade lorsqu'il est appliqué sur *Trichogramma atopovirilia* à partir d'œufs traités d'*Anagasta kuehniella*.

De plus, Sattar *et al*.,(2011) ont indiqué que ce biopesticide avait un effet légèrement nocif sur les stades immatures de *Trichogramma chilonis* élevés sur des œufs de *Helicoverpa armigera*.

D'autre part, l'abamectine, le diméthoate et le *Bacillus thuringiensis* étaient légèrement nocifs (classe 2) pour *T. cacoeciae* indépendamment du stade de développement sur lequel ils étaient appliqués. En fait, ce résultat a été confirmé pour l'abamectine pulvérisé sur les stades immatures de *Trichogramma pretiosum* Riley parasitant les œufs hôtes

Anagasta kuehniella (Zeller) appliqué sur le stade larvaire. Mais, appliqué sur le stade pupe, ce traitement chimique était modérément nocif (Classe 3) (Moura *et al*., 2006).
Quant au diméthoate, il s'est révélé modérément nocif (classe 3) lorsqu'il a été appliqué surle stade pupe de *T. cacoeciae* (Youssef *et al*., 2004).
Au contraire, Ksentini *et al.*,(2010) ont montré que *Bacillus thuringiensis* appliqué aux doses de 70 et 100 gr hl-1 était inoffensif (classe 1) pour tous les stades immatures de *T. cacoeciae*.

Par ailleurs, le traitement au Malathion était nocif sur le stade pré-pupal, légèrement nocif surle stade nymphal et inoffensif sur le stade larvaire. Cependant, Youssef *et al.*,(2004) ont montré que ce traitement était inoffensif sur le stade nymphal.

La réduction la plus importante du succès d'émergence de *T. cacoeciae* a été causée par le chlorpyrifos-éthyl.
Effectivement, ce traitement chimique était nocif pour tous les stades immatures (classe 4). D'autres études ont confirmé que le chlorpyrifos était hautement toxique chez les adultes de *T. cacoeciae* (Al Abbar *et al.*, 2011), mais lorsqu'il était appliqué sur les stades de développement immatures de *T. atopovirilia*, cet insecticide était inoffensif (Maia *et al.*,2013).

Tableau 30: Variation du taux d'émergence (±ES) [(1)], Réduction de l'émergence (%)[(2)], Classe de toxicité[(3)] des stades de développement de *Trichogramma cacoeciae* traités par les différentes dosesd'insecticides sous les conditions contrôlées de(T : 25 ± 1 °C; HR : 60 ± 10%; L/O: 16/8).

Traitement (dose appliquée)	Stades de développement traités									
	Larve[(1)]	E(%) [(2)]	Classe [(3)]	Pré-pupe [(1)]	E(%) [(2)]	Classe [(3)]	Pupe [(1)]	E(%) [(2)]	Classe [(3)]	
Spinosade (60cc hl^{-1})	0 Aa	100	4	0,155±0,066 Bb	81,54	3	0,011±0,006 Aa	98,69	3	P=0,000, F=30,664, ddl=17
Abamectine (15cc hl^{-1})	0,639±0,096 Ca	33,85	2	0,530±0,122 Ca	36,9	2	0,531±0,324 Ba	36,78	2	P=0,619, F=0,496, ddl=17
Diméthoate (100 cc hl^{-1})	0,220±0,129 Ba	77,22	2	0,544±0,135 Cb	35,23	2	0,536±0,025 Bb	36,19	2	P=0,000, F=17,218, ddl=17
Bacillus thuringiensis (250g hl^{-1})	0,656±0,204 Cb	32,09	2	0,980±0,008 Ec	-0,16	1	0,336±0,160 Ba	60	2	P=0,000, F=27,587, ddl=17
Malathion (200 cc hl^{-1})	0,706±0,087 Cc	26,91	1	0 Aa	100	4	0,423±0,250 Bb	46,64	2	P=0,000, F=32,393, ddl=17
Chlorpyriphos-ethyl (150 cc hl^{-1})	0 A*	100	4	0 A*	100	4	0 A*	100	4	-
Témoin (eau distillée)	0,966±0,092 Db	-		0,840±046 Da	-		0,840±0,046 Ca	-		P=0,006, F=7,343, ddl=17
	P=0,000, F=72,458, ddl=41			P=0,000, F=163,813, ddl=41			P=0,000, F=19,346, ddl=41			

Les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas statistiquement différentes en utilisant les moyennes de comparaisons (Test de Duncan avec P≤0,05).
Les lettres en majuscule qui suivent les valeurs représentent les comparaisons sur la colonne alors que les lettres en minuscule représentent les comparaisons sur la ligne.
*. Nombre insuffisant d'insectes pour évaluer cette caractéristique biologique
[3)]. Classe de toxicité selon la classification de l '(IOBC)

Conclusion

Cet essai a révélé que le chlorpyrifos-éthyl suivi du spinosade étaient les traitements les plus toxiques pour tous les stades de développement de *Trichogramma cacoeciae*. Pour ce fait, le moment de leur pulvérisation ne doit donc pas concorder avec les lâchers de *T. cacoeciae*. En outre, les pesticides dans les catégories inoffensives et modérément nocives devraient être davantage pris en compte dans une approche de lutte intégrée (IPM).

Conclusion générale

Le présent travail s'intègre dans le cadre d'approfondir les connaissances sur la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* s'attaquant aux oranges Thomson en terme de sa bio-écologie, sa diversité génétique et de rechercher de nouvelles alternatives de protection biologique contre ce ravageur redoutable au niveau des vergers d'agrumes.

Au terme de ce travail, divers points ont été éclaircis :
Les résultats de la distribution géographique de la pyrale des dattes au niveau des vergers d'oranges Thomson ont montré la sensibilité de la zone de Morneg à ce ravageur, ce qui pourrait être expliqué, comme nous l'avons monté, par la mauvaise gestion des déchets de fruits au niveau des fosses des entrepôts de stockage y présents qui constituent un foyer d'infestation pour les parcelles avoisinantes. D'où la nécessité de sensibiliser les agriculteurs aux dangers potentiels des entrepôts de stockage qui avoisinent leurs parcelles afin de prendre les précautions nécessaires.
Dans un deuxième lieu, la comparaison des spécimens d'*E. ceratoniae*provenant de trois plantes hôtes grâce aux techniques de la biologie moléculaire ont confirmé la non-spécificité génétique de ce ravageur vis- à – vis la culture hôte ce qui explique la large gamme de plantes hôtes attaquées par ce nuisible et incite les agriculteurs à éviter de planter ces cultures (palmier dattier, grenadier et oranges Thomson Navels) au niveau des mêmes vergers.
D'autre part, l'étude de la bio-écologie de ce ravageur au niveau des vergers d'oranges Thomson, a permis de dégager sa période d'activité et de déterminer son site de nymphose.

Par ailleurs, les résultats des effets des différents moyens de lutte testés contre ce pyralide ont démontré les points suivants :
- L'efficacité du spinosade (240 g/l) dans la lutte contre la pyrale des dattes s'élève quand le traitement est appliqué en association avec le piégeage de masse et quand il vise les stades cibles du ravageur.

Cependant, en tenant compte de sa toxicité envers tous les stades de développement de *Trichogramma cacoeciae,* son application ne doit pas coïncider avec les lâchers de ce parasitoïde.
- Le piégeage de masse moyennant les pièges à phéromone sexuelle a pu montrer un impact réducteur de l'infestation avec la densité de 10 pièges /ha. L'installation du piégeage de masse doit être précoce pour pouvoir contrôler la population imaginale.

- L'efficacité du lâcher du parasitoïde *Trichogramma cacoeciae* dépend des doses et du temps des lâchers : les lâchers doivent être inondatifs et effectués au moment de la présence des œufs d'*E.ceratoniae* sur fruits pour pouvoir les couvrir, cependant le cout de production de ce parasitoïde à grande échelle demeure élevé.
De plus, nous avons confirmé l'effet répulsif du laurier noble contre *E. ceratoniae,* donc la plantation de cet arbre comme brise vent secondaire au niveau des agrumeraies jouera une barrière contre l'attaque par ce ravageur.

L'ensemble de ces résultats doit être valorisé à grande échelle pour pouvoir protéger les vergers d'oranges Thomson des attaques de la pyrale des dattes dans le cadre d'un programme de lutte intégrée.

References Bibliographiques

-A-

- **Abbott WS, 1925**. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology: 265-267
- **Abderrahmane C, Dhouibi MH, Mahjoub A, 2002.** Effet de l'irradiation sur certains paramètres écophysiologiques et sur la stérilité héritée des adultes de la pyrale des dattes irradiés à différents doses de rayonnement gamma, Revue de l'I.N.A.T. Vol.17n°1-Juin 2002.
- **Adham Z, 1965.** Appearance of *Ectomyelois ceratoniae* in Saudi Arabia. FAO Plant Protection Bulletin, 13: 113–114.
- **Agenjo R, 1959.** La polilla de las garrofas, plaga actual de las naranjas (Lep. Phycit.). Graellsia Madrid, 17 : 7–17.
- **Ahmad S, Ansari M, Ahmad N, 2013.** Acute toxicity and sublethal effects of the neonicotinoid imidacloprid on the fitness of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). International Journal of Tropical Insect Science, 33(4):264-275. doi:10.1017/S1742758413000246.
- **Al-Abbar F, Hajjar MJ, Jamal M, 2011**. The side-effects of some insecticides to be used in apple orchards on the adults of egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Trichogrammatidae: Hymenoptera) .Journal of Damascus Agricultural university, 2 (27): 263-275.
- **Al-Barty AMF**,**2014**. Detection of genetic diversity among populations of *Ectomyelois ceratoniae* using RAPD Markers. International Journal of Advanced Research 11:944-951.
- **Alfken J D, 1928.** On the occurrence of the Pyralid, *M. ceratoniae*, in Bremen. Mitteilungen der Gesellschaft fur Vorratsschutz, 4: 55–56.
- **Alford DV, 2007.** Pests of fruits crops. Academic press, USA, 296 p.

- **Al Izzi MAJ**, **Al-Maliky SK, Younis MA, Jabbo NF, 1985**. Bionomics of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) on pomegranates in Iraq. Environmental Entomology, 14: 149-153.
- **Al-Izzi MAJ, Al-Maliky, SK, Jabbo NF, 1987.**Culturing the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera, Pyralidae), on artificial diet. Journal of Economic Entomology, 80: 277–280.
- **Al-Maliky SK, Al-Izzi MAJ, 1986.**Parasites of *Ectomyelois ceratoniae* with biological studies on Apanteles sp. group ultor in Iraq. Entomophaga, 31: 313–319.
- **Almatni W, Jamal M, Monje JC, Zebitz CPW, 2002.**Primary field release of *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Trichogrammatidae, Hymenoptera) as a part of biological control of codling moth, *Cydia pomonella* L. (Tortricidae, Lepidoptera) at As-Sweida, Southern Syria. Damascus University Journal of Agricultural Sciences, 18(2):65-72.
- **Alrubeai HF, 1987.** Growth and development of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory mass-rearing conditions. Journal of Stored Products Research, 23:133–135.
- **Alrubeai HF, 1988.** Susceptibility of *Ectomyelois ceratoniae* to *Bacillus thuringiensis* isolates under laboratory and field conditions. Journal of Agriculture and Water Resources Research Plant Production, 7:125–136.
- **AmriI, HamrouniL, HananaM, JamoussiB, LebdiK, 2014**. Essential oils as biological alternatives to protect date palm (*Phoenix dactylifera* L.) against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae).Chilean Journal of Agricultural Research, 74(3):273-279.
- **Anonyme 2, 1926**. Departmental activities: Entomology. Journalof the Department of Agriculture, Union of South Africa, 12(3), 195–201.

- **Anonyme 3**,**2007**.Louisiana Agriculture Magazine, 2007**.** Adresse URL: http://text.lsuagcenter.com/en/communications/publications/agmag/Archive/2011/Summer/LouisianaAgricultureSummer2011.htm.
- **Anonyme 1,2011**. Arab Scientist organisation, 2011**.** Les ravageurs les plus importants liés à la cochenille blanche des citrus. Adresse URL : <http://www.arabscientist.org/french/pages/planococus/linkmealy/>**.** Page consultée le25/02/2011.
- **Ashman F, 1968.** The control of infestation in carobs (*Ceratonia siliqua L.*) with special reference to Cyprus. European and Mediterranean Plant Protection Organization Publication Series A, 64E, 117–120.
- **Auclair J et Côté I, 2002.** Extraction d'huiles essentielles de conifères, Expot-Journal, rapport interne, département des sciences de la nature, Cépeg de Saint-Félicien, Saint-Félicien, 11p.
- **Aytas M, Yumruktepe R, Aktura T ,1996.**Studies on the chemical control of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller [Apomyelois ceratoniae] on citrus in the Eastern Mediterranean region. Zirai Mucadele Arastirma Yilligi:28–29; 81–82.
-

-B-

- **Bacci L,Lupi D, Savoldelli S, Rossaro B, 2016**. A Review of Spinosyns, a Derivative of Biological Acting Substances as a Class of Insecticides with a Broad Range of Action Against many Insect Pests. The Journal of Entomological and Acarological Research, 48(1):40-52. DOI: 10.4081/jear.2016.5653.
- **Bachrouch O, Mediouni J, Wissemb AW, Talou T, Mrazouk B, Abderraba M, 2010**. Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller. Journal of Stored Products Research, 46: 242- 247.

- **Baker TC, Francke W, Lofstedt C, Hansson BS, Du JW, Phelan PL, Vetter RS, Youngman R, 1989.**Isolation, identification, and synthesis of sex pheromone components of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*. Tetrahedron Letters, 30: 2901–2902.
- **Balachowsky AS, 1972.** Entomologie appliquée à l'agriculture, Tome II : Lépidoptère, 2 : 1199-1205.
- **Bale JS,Lenteren JC, Bigler F, 2008.** Biological control and sustainable food production. Philosophical Transactions of the Royal Society B, 363:761–776.
- **Ball SL, Armstrong KF, 2006**. DNA barcodes for insect pest identification: a test case with tussock moths (Lepidoptera: Lymantriidae). Canadian Journal of Forest Research, 36: 337–350.
- **Ballinger-Crabtree ME**, **Black WC,Miller BR, 1992**. Use of genetic polymorphism detected by the random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD-PCR) for differentiation and identification of *Aedes aegypti* subspecies and populations. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene,47: 893-901.
- **Barnay OG, Hommay G, Gertz, C, Kienlen JC, Schubert G , Marro JP, Pizzol J , Chavigny P, 2001.** Survey of the natural populations of Trichogramma (Hym., Trichogrammatidae) in the vineyards of Alsace (France). Journal of Applied Entomology, 125:469–477.
- **Belaam I, 2010**. Les Thrips des agrumes. Projet de fin d'études du cycle Ingénieur. INAT, 85p.
- **Belaam I, Boulahia-Kheder S, 2012**. Inventory of thrips species in citrus orchards and assessment of scarring fruits in two citrus-producing regions of Tunisia. Tunisian Journal of Plant Protection, 7: 43-51.
- **Belaam-Kort I, Boulahia-Kheder S, 2017**. Thrips in citrus orchards, emerging pests in Tunisia.Entomologie Faustique – Faunistic Entomology, 70: 77-87.
- **Belhadj Hamada R, 2012.** Lutte biologique contre la pyrale des caroubes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller, 1881 (Lepidoptera:Pyralidae). Mémoire de mastère en sciences agronomiques, Institut National Agronomique de Tunis, 81p.

- **Bell CH,2000**. Fumigation in the 21st century. Crop Protection, 19: 563-569.
- **Ben Amor R, 2016**. Analysis on the international competitiveness of Tunisian palm date fruit Deglet Noor cv. and studies on the effects of physical postharvest treatments on *Ectomyelois ceratoniae* mortality and fruit quality. Thèse de Doctorat.
- **Ben-Amor R, de Miguel-Gómez MD, Martínez-Sánchez A, Aguayoac E, 2016.**Effect of hot air on Deglet Noor palm quality parameters and on *Ectomyelois ceratoniae.* Journal of Stored Products Research, 68: 1-8.
- **Ben Ayed N, 2006.** La lutte contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidopterae : pyralidae) par des lâchers de *Trichgramma cacoaeciae* (Héminoptère : *Trichogrammatidae*). Mémoire de mastère en sciences agronomiques, Institut National Agronomique de Tunis, 2006, 76 p.
- **Ben Brahim H, 2008.** Etude de tests de qualité et optimisation de la dose d'irradiation dans le cadre d'un programme de lutte contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* par la technique des insectes stériles. Mémoire de mastère en sciences agronomiques, Institut National Agronomique de Tunis, 91 p.
- **Ben Salah Mk, 2015.** Evaluation des caractéristiques biologiques d*'Ectomyelois ceratoniae (*Zeller, 1839) (Lepidoptera pyralidae) dans les conditions naturelles et contrôlées. Stockage, conservation et lutte. Mémoire de Thèse Doctorat. Université Mohamed Khidher. Biskra, Algérie.117p.
- **Ben Sassi C, 2011.** 20 millions de régimes de dattes pollinisés dans la région de Kébili. Disponible sur le web sur https://www.tunisienumerique.com/20-millions-de-regimes-de-dattes-pollinise-dans-la-region-de-kebili/.
- **Bettaibi A, Mezghani-Khemakhem M, Bouktila D, Makni H , Makni M, 2012**. Genetic variability of the tomato leaf miner (*Tuta absolutaMeyrick*; Lepidoptera: Gelechiidae), in Tunisia, inferred from RAPD-PCR. Chilean Journal of Agricultural Research, 72(2): 212-216.

- **BickfordD, Lohman DJ, Sodhi NS, Ng PKL, Meier R, WinkerK, IngramKK , Das I , 2007**.Cryptic species as a window on diversity and conservation. Trends in ecology and evolution, 22 (3): 148-155.
- **Bigler F, 1994**. Quality control in Trichogramma production, 93-111pp In: Wajnberg E, Hassan SA (eds.), Biological Control with Egg Parasitoids. CAB International, Wallingford, 286pp.
- **Bigler F,Suverkropp BP, Cerutti F, 1997.** Host-searching by Trichogramma and its implications for quality control and release techniques. In Ecological Interactions and Biological Control, eds. D. A. Andow, D. W. Ragsdale and R. F. Nyvall, Westview Press, 71-86pp.
- **Biliotti E, Daumal A, 1969.** Biologie de *Phanerotoma flavitestacea* Fisher (Hymènoptère: Braconidae). Mise au point d'un élevage de permanant en vue de la lutte biologique contre *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lépidoptère: Pyralidae). Annales de zoologie animale, 1(4): 379-394.
- **Bitaw AA, Bin Saad AA, El-Mokhtar O, 1988.** Natural enemies of date palm pests in Jamahiriya. Arab and Near East Plant Protection Newsletter, 7, 26.
- **Blibech I**, **Ksantini M, Martinou A, Milonas P, Konstontopolou M, 2010.**Etudes de quelques principaux critères de performance chez des parasitoïdes locaux du genre *Trichogramma*. Ezzaitouna, 11 (1):11.
- **Bloem S, Bloem KA, Carpenter JE, Calkins CO, 1999.** Inherited sterility in codling moth (Lepidoptera: Tortricidae): effect of sub-sterilizing doses of radiation on field competitiveness. Environmental Entomology, 28: 669-674.
- **Bloem KA, Bloem S, Carpenter JE, 2005.** Impact of moth suppression/eradication programmes using the sterile insect technique or inherited sterility, pp. 677Ð700. *In* V. A. Dyck, J. Hendrichs, and A. S. Robinson. (eds.),Sterile insect technique: principles and practice in area wide integrated pest management. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

- **Blumberg D, 2008.** Review: Date palm arthropod pests and their management in Israel. Phytoparasitica, 36(5): 411–448.
- **Bodenheimer F S, 1930**. The insect pest fauna of Palestine with particular regard to the chief pests of the Mediterranean region. Monographien zur angewandten Entomologie, Verlagsbuchhandlung Paul Parey, Berlin, Germany, 16: 438pp.
- **Bodenheimer FS, 1951**.Citrus entomology in the Middle East. W. junk, The Hague, the Netherlands.
- **Bouka H, Chemseddine M, Abbassi M, Brun J, 2001.**The date moth in the area of Tafilalet in the southeast of Morocco. Fruits, 56: 189–196.
- **Bournier A, 1982**. Les Thrips: biologie, importance agronomique. Ed. Institut National de la Recherche Agronomique. Paris, Références bibliographiques 112,128p.
- **Braham M, 2015.** Insect larvae associated with dropped pomegranate fruits in an organic orchard in Tunisia. Journal of Entomology and Nematology, 7(2): 5-10.
- **Braham M, 2017.** Population dynamics and effectiveness of chemical and natural products for the control of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, in Tunisia. Communication orale. Premier symposium maghrébin sur la protection intégrée des plantes. 30 octobre- 1er novembre. Sousse.
- **Braham M, Pasqualini E, Ncira N, 2007**. Efficacy of kaolin, spinosad and malathion against *Ceratitis capitata* in Citrus orchards. Bulletin of Insectology, 60(1): 39-47.
- **Bras A**, **Auger-Rozenberg MA, Pineau P, Lorme P, Roques A, Laparie M, Rousselet J ,2017.** Effet de micro-injections d'emamectine benzoate dans l'arbre hôte sur la survie des premiers stades larvaires de la pyrale du buis. AFPP 6ème conférence sur les moyens alternatifs de protection pour une production intégrée Lille, 21,22 et 23 Mars.

- **Breedveld KGH, Tanigoshi LK, 2007.** Seasonal phenology of *Enarmonia formosana* (Lepidoptera: Tortricidae) and egg parasitism by *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in Washington State, USA.Journal of Pest Science, 80:15–19.
- **Brunner PC, Chatzivassiliou EK, Katis NI, Frey JE, 2004**. Host-associated genetic differentiation in *Thrips tabaci* (Insecta; Thysanoptera), as determined from mtDNA sequence data. Heredity,93: 364–370.
- **Burt S, 2004**.Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94 (3): 223-253.

-C-

- **Carpenter JB et Elmer H S, 1978**. Pests and diseases of the date palm (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service Handbook No. 527, 42 pp).Washington, DC: United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service.
- **Catling HD, 1970.** Notes on new minor pests of citrus in Southern Africa. South African Citrus Journal, 444: 13–14.
- **CDFA (California Department of Food and Agriculture) 1983**. Carob moth in California. In R. Gill & S. Kaiser (Eds.), California plant pest and disease report no 2 (pp. 11–14). Sacramento: California Department of Food and Agriculture.
- **Chakroun S, 2010.** La pyrale des dattes, *Ectomyeloisceratoniae* (Lepidoptera : Pyralidae) sur agrumes, bio-écologie et lutte biologique.PFE.INAT.2010.55p.
- **Chakroun S, 2013**. La bio-écologie de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (1881) (Lepidoptera : Pyralidae) en vergers d'agrumes et les moyens alternatifs de lutte. Mémoire de mastère de recherche en

sciences agronomiques, INAT, Université de Carthage.140p.

- **Chakroun S, Rempoulakis P, Lebdi – Grissa k, Vreysen MJB, 2017**.Gamma irradiation of the carob or date moth *Ectomyelois ceratoniae*: dose–response effects on egg hatch, fecundity, and survival. Entomologica Experimentalis et Applicata.164 (3): 257-268.
- **Cherif A, Lebdi-Grissa K, 2013**. *Trichogramma cacoeciae* as a biological control agent of the tomato pinworm *Tuta absoluta* in Northeastern Tunisia. Entomologia Hellenica, 22: 35-42.
- **Cônsoli FL, Botelho PSM, Parra JRP, 2001**. Selectivity of insecticides to the egg parasitoid *Trichogramma galloi* Zucchi, (1988) (Hym, Trichogrammatidae). Journal of Applied Entomology, 125: 37-43.
- **Cosimi S, Rossi E, Cioni PL, Canale A, 2009.**Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plants against stored-product pests: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). Journal of Stored Products Research, 45:125-132.
- **Cox AJ, Hebert PDN, 2001.** Colonization, extinction, and phylogeographic patterning in a freshwater crustacean. Molecular Ecology, 10(2):371-86.
- **Cox PD, 1976.** The influence of temperature and humidity on the life cycle of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Phycitidae). Journal of Stored Products Research, 12: 111-117.
- **Cox PD, 1979.** The influence of photoperiod on the life-cycle of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research, 15: 111–115.
- **CTA, 2008.** Lutte intégrée de certains ravageurs de citrus. Rapport annuel du centre technique des agrumes 2008.8p.
- **CTA, 2014.** La mouche méditerranéenne des fruits. Brochure technique du centre technique des agrumes.

- **CTA, 2015.** La fertilisation des agrumes. Rapport annuel du centre technique des agrumes .8p.
- **CTA, 2017.** Lutte intégrée de certains ravageurs de citrus. Rapport annuel du centre technique des agrumes .7p.

-D-

- **Deivendran S**, **Alaguchamy N, Geetha R, Boominathan S, 2014**. Genetic variability of populations of *Earias vittella* (Fab.) (Noctuidae: Lepidoptera) as revealed by Random Amplified Polymorphic DNA. Biolife, 3(1): 68-71
- **De Jong YSDM, 2013.** Fauna europaea version 2.6. Available at: www.faunaeur.org.
- **Demirel N, 2016.** A study on occurrence and population trends of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) in pomegranate orchards by using pheromone traps. Entomology and Applied Science Letters, 3(1):26-31.
- **De Rocca Serra D, Ollitrault P, 1992.**L'amélioration des agrumes : II- Créations variétales et biotechnologies = Citrus breeding : II. Genetic improvement and biotechnology.Fruits, 47 (spéc. Agrumes) : 124-134.
- **Deseo K V, Briolini G, Bruno P, 1981.**Observations on pests of walnut. Informatore Fitopatologico, 31: 3–6.
- **De Stefani T, 1919.** Some insects infesting carob pods. Bollettino Stazione Sperimentale di Frutticoltura e di Agrumicoltura, Acireale, Italy, 37: 5–6.
- **Dhouibi MH**, **1982.** Bio-écologie d*'Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera : Pyralidae) dans les zones présahariennes de la Tunisie. Thèse de Docteur Ingénieur, Paris VI. 145p.
- **Dhoubi MH, 1987.** Effets des traitements chimiques sur les populations d'*Ectomyelois ceratoniae* Zell. (Lepidoptera : Pyralidae) vivant sur grenades. Revue de l"INRAT, 92 : 1-21.

- **Dhouibi MH**, **1989**. Biologie et écologie d*'Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) dans deux biotopes différents au sud de la Tunisie et recherches de méthodes alternatives de lutte. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles. Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, France, 189 pp.
- **Dhouibi MH, 1991**. Les principaux ravageurs du Palmier Dattier et de la Datte en Tunisie. Brochure, ed. Imp. Kahia: Foundouk-choucha. Rades, 1991, 64p.
- **Dhouibi MH, 1992.** Effect of the Bactrospein XLV on the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). International Symposium over phytopharmacie en phytiatrie, 44(2) : 505-514.
- **Dhouibi MH, 1994.** Traitement terrestre et aérien à la bactospéine (Poudre et suspension concentrée XLV) contre le ver des dattes, *E. ceratoniae* (Lepidoptera : pyralidae) durant la compagne 1992. p14.
- **Dhouibi MH**,**2000**. Lutte intégrée pour la protection du palmier dattier en Tunisie. Centre de publication universitaire. 91- 140. Tunisie.
- **Dhouibi MH, 2013**. Gestion phytosanitaire intégrée des principaux Bio-agresseurs du palmier dattier, et particulièrement, les pyrales des dattes, édition 2013 Climat Pub 65 p.
- **Dhouibi MHetJemmazi A, 1993.** Lutte Biologique contre la Pyrale des caroubes *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) par *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) en vergers de grenadier. Medical Faculty of Landbouw Ghent University, 58: 427-436.
- **Dhouibi MH et Jemmazi A, 1995.** Utilisation combinée de *Bacillus thuringiensis* Ber et d*'Habrobracon hebetor* say (Hym. Braconidae) pour lutter contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.pyralidae) dans les dépôts de stockage des dattes. (Revue INAT). p16.

- **Dhouibi MH, Hawlitzky N, Krissaane T, 1998.**Biological control of the carob moth in Tunisian oasis by the egg- larval parasitoid, *Phanerotoma ocularis* Kohl (Hymenoptera: Braconidae) during 1996. IOBC WPRS BULLETIN, 21(6): 29-40.
- **Dhouibi MH et Jarraya A, 1998**. Le ver des dattes carob moth : *Ectomyelois ceratoniae*. Groupement Interprofessionnel des Dattes. 16-31pp.
- **Dhouibi MH**, **Hawlitsky N, Zaaraoui H, Krisaane T, Cheikh T, Cherni M, Ben Moussa I, 2000**. Biological control against the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in oases and in packing houses in Tunisia. 229-236pp. In: Tan KH (ed.) Area-Wide Control of Fruit Flies and Other Insect Pests. Penerbit Universiti Sains, Penang. Malaysia, 782p.
- **Dhouibi MH, Mhfoudhi N, Chabbouh N, 2003.** Lutte intégrée contre la cochenille farineuse *Planococcus citri* Risso (Homoptera : Pseudococcidae), document technique, Imprimerie officielle de la république Tunisienne, 16p.
- **Dhouibi MH, Hermi H, Soudani D, Thlibi H, 2016**. Biocontrol of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in pomegranate and citrus orchards in Tunisia. International Journal of Agricultural Innovations and Research, 4(5): 849-856.
- **Dhouibi MH, Hawari W, Touil S, Zouba A, Ben Hamida F, 2017**. Biocontrol of the Carob Moth *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) in Two Oases in the South of TUNISIA using Mating Disruption with SPLAT EC O. International Journal of Agriculture Innovations and Research, 5(5): 2319-1473.
- **Doumandji B, 1981.** Le complexe parasites-prédateurs d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller. Bulletin de Zoologie Agricole INA El Harrach ,1: 4-6.
- **Doumandji-Mitiche B et Doumandji S, 1982.** Les ennemis naturels d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller dans les palmeraies de Biskra. Bulletin de Zoologie Agricole, 4 : 1-10.

- **Doumandji-Mitiche B**, **Idder MA, 1986.**Essais de lâchers de *Trichogramma embryophagum* Hartig (Hymenoptera, Trichogrammatidae) contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) dans la palmeraie d'Ouargla. Annales de l'INA, 10 (1): 167-180.
- **Durrant JH, 1915.***Myelois phoenicissp.* n. bred from dates in Algeria and England (Lepidoptera: Pyralidae). Entomologist's Monthly Magazine, 51: 304–305.
- **DyadechkoNP, Tsibul'skaya GN, Frantsevich LA, 1978.** On certain biological characteristics of *Trichogramma cacoecia pallida* Meyer from mountain orchards of the Crimea (in Russian, English summary). Agricultural Biology, 13:62–66.
- **Dyar HG, 1911.** Two species of Phycitinae new to our fauna. Proceedings of the Entomological Society of Washington DC, USA, 13: 30pp.
-

-E-

- **Elsayed G et Bazaid SA, 2011**. Field investigation of pomegranate fruit worms in Taif and laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* against *Ectomyelois ceratoniae*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 44: 28–36.
- **Emery VJ, Landry JF, Eckert CG, 2009.** Combining DNA barcoding and morphological analysis to identify specialist floral parasites (Lepidoptera: Coleophoridae: Momphinae: *Mompha*). Molecular Ecology Resources, 9(1): 2017-223.https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.026+47.x
- **Enan E, 2001**. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology Toxicology andPharmacologyCBP, 130(3):325-37.

- **Ezzine O, Hausmann A, Branco M , Mannai Y, Dhahri S , Nouira S , Ben Jamaa ML, 2014.** Genetic patterns, host use and larval morphology in Tunisian populations of *Orgyia trigotephras*. Bulletin of Insectology, 67 (1): 73-79.
-

-F-

- **Failloux AB**, **Loan LL, Chanta N, HuberK, 2004.**Human transportation influences *Aedes aegypti* gene flow in Southeast Asia. Acta Tropica,90(1): 23–29.
- **F.A.O, 2015:**www.fao.org, Citrus fruit statistics 2015.
- **F.A.O, 2016:**www.fao.org, Citrus fruit statistics 2016.
- **Farahani HK**, **Bell H, Goldansaz SH, 2012**. Biology of *Apanteles myeloenta* (Hymenoptera: Braconidae) a larval parasitoid of carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Asia-Pacific Entomology, 15: 607–610.
- **Farhat I, Chaabane H , Bouagaa A , Khemiri R , Hammami M , Labidi A , Cherif M , Nasraoui B, 2016.** Pesticide residues surveillance and anomalies monitoring of 'Maltaise demi sanguine' (*Citrus sinensis* L.) oranges in packinghouses. Journal of New Sciences Agriculture and Biotechnology, 32(1):1845-1852.
- **Farzaneh A, 1984.***Spectrobates ceratoniae* Z. (Lep: Pyralidae) in Iran. Proceedings of the International Congress of Entomology, 17: 577pp.
- **Feder JL, Hunt TA, Bush GL, 1993.**The effects of climate, host plant phenology and host plant fidelity on the genetics of apples and hawthorn infesting races of *Rhagoletis pomonella*. Entomologia experimentalis et applicata**,** 69: 117-135.
- **Fields PG et White NDG, 2002**. Alternatives to methyl bromide treatments for stored- product and quarantine insects. Annual Review of Entomology, 47:331–59.
- **Finney DJ, 1971.** Probit Analysis, third ed. Cambridge University Press, London.

- **Fitt GP**, **1989.** The ecology of Heliothis species in relation to agroecosystems. Annual Review of Entomology, 34:17–52.
- **Floyd R, Lima J, DeWaard J, Humble L et Hanner R, 2010**. Common goals: policy implications of DNA barcoding as a protocol for identification of arthropod pests. Biological Invasions, 12 (9): 2947-2954.
-

-G-

- **Galtier N, Nabholz B, Glémin S, Hurst GD, 2009**.Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal.Molecular Ecology, 18(22):4541-50. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04380.x. Epub 2009 Oct 9.
- **Garner KJ**, **Slavicek JM, 1996**. Identification and characterization of a RAPD-PCR marker for distinguishing Asian and North American gypsy moths. Insect Molecular Biology, 5(2): 81-91.
- **Gençer NS, Coşkuncu KS, Kumral NA, 2005.** Determination of harmful and beneficial fauna in fig orchards in Bursa Province. Ondokuz Mayis Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 20: 24–30.
- **Gentry JW, 1965.** Crop insects of Northeast Africa-Southwest Asia (U.S. Department of Agriculture, 273 pp).
- **Geoffroy A, 2012**. Diversité génétique et délimitation d'espèces par des approches conjointes de barcoding et de génétique des populations : application à l'identification d'espèces d'algues marines nouvellement cultivées. Génétique. Thèse de Doctorat de l'université Pierre et Marie Curie. Paris 6, 2012. Français.185p.
- **Georgevits RP, 1981.** Seed insects of *Robinia pseudoacacia*. Dasikon Ereunon, 2: 223–255.
- **GIF, 2017.** Groupement Interprofessionnel des fruits. Agrumes / Le secteur des agrumes en Tunisie. (Fruit inter professional group) http://gifruits.com/?page_id=1530&lang=fr. 15-05-2016.

- **Godfray HCJ, 2002**. Challenges for taxonomy. Nature, 417: 17–19.
- **Gonzalez RH, 2002**. Development of first and second generation of apple codling moth *Cydia pomonella* (L.) and its influence on management programs. Revista Fruticola, 23: 5–16.
- **Gonzalez RH, 2003.** Las polillas de la fruta en Chile (Lepidoptera: Tortricidae, Pyralidae). Universidad de Chile, Serie Ciencias Agronomicas, 9, 188p.
- **Gonzalez RH et Cepeda D, 1999**. The carob-bean moth, *Spectrobates ceratoniae* (Zeller) (Pyralidae), a barrier to the implementation of mating disruption for control of codling moth on walnuts. Revista Fruticola, 20: 57–67.
- **González-Vaquero RA, Roig-Alsina A, Packer L, 2016.**DNA barcoding as a useful tool in the systematic study of wild bees of the tribe Augochlorini(Hymenoptera: Halictidae).Genome, 10: 889-898.
- **Gothilf S, 1968**. The biology of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zell) in Israel. Part 1.Mass culture on artificial diet. Israel Journal of Entomology, 3: 109–119.
- **Gothilf S**, **1969.a**. Natural enemies of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae*. Entomophaga, 14:195-202.
- **Gothlif S**, **1969.b.**The biology of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in Israel, II. Effect of food, temperature and humidity on development. Israel Journal of Entomology, 15: 107-116.
- **Gothilf S, 1970.** The biology of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (Zell.) in Israel. III. Phenology on various hosts. Israel Journal of Entomology, 5:161–175.
- **Gothilf S**, **1984.** Biology of *Spectrobates ceratoniae* on almonds in Israel. Phytoparasitica, 12:77-88.
- **Grebennikov Vet Smetana A, 2015.**DNA barcoding and regional diversity of understudied Micropeplinae (Coleoptera: Staphylinidae) in Southwest China: phylogenetic implications and a new Micropeplus from Mount Emei**.** Zootaxa, 3919(3): 583-599.

- **Griffiths JT etThompson WL, 1957.** Insects and mites found on Florida citrus. University of Florida.Agricultural Experiment Station Bulletin, 591: 30-33.
- **Gumpf DJ, Luck RF, Morse J, 1996.** Citrus pest problems and their control in the near east. FAO Plant production and protection, p31.

-H-

- **Hached W**, **2012.** Lutte Biologique contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1881), en vergers d'agrumes. Mémoire de mastère en sciences agronomiques, Institut National Agronomique de Tunis. 2012, 137 p.
- **Hached W, Chamkhi A, Lebdi-Grissa K, 2017.** Side-effects of some insecticides used in citrus cultivation on the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal immature stages. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5 (6) AD: 2176-2178.
- **Hadjeb A, Saidane H, Mehaoua MS, Ben Salah K, 2017.**Utilisation d'un biopesticide dans la lutte contre la pyrale des dattes. AFPP 6ème conférence sur les moyens alternatifs de protection pour une production intégrée Lille, 21,22 et 23 Mars 2017
- **Hampson GF, 1903.** The moths of India. Journal of the Bombay Natural History Society, 15:19–37.
- **Haouel S,Mediouni-Ben Jemâa J, Khouja ML, 2010**. Post harvest control of the date moth *Ectomyelois ceratoniae* using eucalyptus essential oil fumigation. Tunisian Journal of Plant Protection, 5: 201-212.
- **Harvey A, 2013.** Carob moth in Afghanistan. Outlooks on Pest Management, 24: 213–216.
- **Harpaz I et Wysok M, 1984**. Susceptibility of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, to *Bacillus thuringiensis*. Phytoparasitica,12: 189–191.
- **Harwood SH, Modenke AF, Berry RE, 1990**.Toxicity of peppermint monoterpenes to the variegated cutworm

(Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology, 83: 1761–1767.

- **Hashmi G, Glazer I, Gaugler R, 1996.**Molecular comparisons of entomopathogenic nematodes using Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD) markers. Fundamental and applied Nematology, 19(4): 399-406.
- **Hassouna S, 2014.** Contribution à l'étude des thrips inféodés aux cultures de vigne et de l'oranger dans la région de Takelsa et l'évaluation de l'efficacité du piégeage de masse, des bioinsecticides et d'insecticides dans la lutte intégrée contre ce ravageur. Mémoire de mastère de recherche en sciences agronomiques INAT, 120p.
- **Hausmann A, Haszprunar G, Segerer AH, Speidel W, Behounek G, Hebert PDN, 2011**. Now DNAbarcoded: the butterflies and larger moths of Germany (Lepidoptera: Rhopalocera, Macroheterocera). Spixiana, 34 (1): 47-58.
- **Hawlitzky N, 1992.** La lutte biologique à l'aide de trichogrammes. Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA, 16 : 9-26.
- **Hebert PDN, Cywinska A, Ball S L, De Waard JR, 2003a**. Biological identification through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society, Biological Sciences, 270: 313-321.
- **Hebert PDN, Ratnasingham S, De Waard JR, 2003b**. Barcoding animal life: Cytochrome C oxidase subunit I divergences among closely related species. Proceeding of the Royal Society, Biological Sciences, 270: 896-899.
- **Hebert PDN, De waard JR, Landry JF, 2010**. DNA barcodes for 1/1000 of the animal kingdom. Biology Letters, 6 (3): 359-362.
- **Henderson CF et Tilton E, 1955.**Test with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology, 48:157-161.
- **Hmid I, 2013**. Contribution à la valorisation alimentaire de la grenade marocaine (*Punica Granatum* L) : caractérisation physicochimique, biochimique et stabilité

de leur jus frais. Alimentation et Nutrition. Thèse de Doctorat, Université d'Angers. 179p.

- **Holmes L,Mandjiny S, Upadhyay D, 2016**. Biological control of agriculture insect pests. European Scientific Journal, Special edition May 2016:216-225.
- **Hommay G, Gertz C, Kienlen JC, Pizzol J, Chavigny P, 2002.** Comparison between the control efficacy of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae) and two *Trichogramma cacoeciae* Marchal strains against grapevine moth (Lobesia botrana Den. & Schiff.), depending on their release density. Biocontrol Science and Technology, 12:569-581.
- **Honiball FetCatling HD, 1998.** Carob moth. In: *Citrus pests in the Republic of South Africa*. Bedford, E.C.G. and van den Berg, M.A. and de Villiers, E.A. (eds) 2nd ed. Nelspruit:Agricultural Research Council, 210-211.
- **Huisman K, 1974.** Interesting captures of Lepidoptera. Entomologische Berichten, 34: 153–154.

-I-

- **Idder-Ighili H, 2008.** Interactions entre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera-Pyralidae) et quelques cultivars de dattes dans les palmeraies de Ouargla (Sud-Est algérien). Mémoire de mastère. Algérie, 112p
- **Idder MA, Bolland P, Pintureau B, Doumandji-Mitiche B, 2009**. Efficacité de *Trichogramma cordubensis* VARGAS & CABELLO (Hymenoptera, Trichogrammatidae) pour lutter contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) dans la palmeraie d'Ouargla, Algérie. Recherche Agronomique, 23:58-64.
- **I.N.M., 2013, 2014, 2015.** Institut national de Météorologie, Données climatiques de la Tunisie, température, humidité relative et pluviométrie.
- **Isman MB,2006**. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly

regulated world. Annual Review of Entomology, 51: 45-66.

- **Ivanova NV, De Waard JR, Hebert PDN, 2006**. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high-quality DNA. Molecular Ecology Notes, 6: 998-1002.

-J-

- **Jacobs SNA, 1933.** *Aphomia gularis* (Zell.) and other rare warehouse moths. The Entomologist, 66, 195.
- **Jammazi A, 1994.** Contribution à l'étude de la bioécologie d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae) et possibilité de lutte biologique par utilisation de l'éctoparasite *Hbrobracon hebetor*. Mémoire de cycle de spécialisation.
- **Jemni M**, **Oton M, Ramirez JG, Artés-Hernández F, Chaira N, Ferchichi A, Artés F ,2014.**Conventional and emergent sanitizers decreased *Ectomyelois ceratoniae* infestation and maintained quality of date palm after shelf-life. Postharvest Biological Technology, 87:33–41. DOI: 10.1016/j.postharvbio.2013.08.002.
- **Jemni M, Oton M, Souza M, Dhouibi MH, Ferchichi A, Artès F, 2015**. Ozone gas greatly reduced the survival of carob moth larvae in stored date palm fruit. Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 16(4) : 567-573.
- **Jemni M, Chniti S , Harbaoui K , Ferchichi A , Artès F, 2016**. Partial vacuum and active modified atmosphere packaging for keeping overall quality of dates. Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology, 29(1), 1656-1665.
- **Jendoubi H,2007**. La teigne du citronnier *Prays citri* Millière (Lépidopères : Hyponomeutidae) : Bio-écologie et lutte biologique. Mémoire de mastère de recherche en sciences agronomiques, INAT, Université de Carthage.
- **Jendoubi H, 2012.** Current status of the scale insect fauna of citrus in Tunisia and biological studies on *Parlatoria ziziphi* (Lucas). [PhD Thesis.] Catania, University of Catania.

- **Jerraya A et Vinson G, 1980.** Contribution à l'étude de l'entomofaune du pistachier- IV Observations biologiques et écologiques sur *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.Pyralidae). Annales de l'INRAT, 53 :5-36.
- **Jerraya A**, **Khedher Boulahia S, Jrad F, Fezzani M ,1997.** Lutte contre la mineuse des agrumes : Effet de l'acétamipride, nouvel insecticide. Phytoma-La Défense des végétaux, 499 : 46-50.

-K-

- **KambhampatiS**, **Black WC, Rai KS, 1992.** Randomly Amplified Polymorphic DNA of mosquito species and populations (Diptera: Culicidae): Techniques, statistical analysis and application. Journal of Medical Entomology,29 (6): 939-945.
- **Karami E, Mirabzadeh A, Karahroudi Z R, Ioni S, 2011**. Comparison of the effect of cutting off stamens of pomegranates and releasing *Trichogramma embryophagum* with *Ectomyelois ceratoniae* (Lep: Pyralidae) in Saveh region, Iran. Munis Entomology and Zoology, 6 (1):306–311.
- **Kashkuli A et Eghtedar E, 1976.**Biologie und Okologie von Spectrobates ceratoniae (Lep. Pyralidae) in der Provinz Fars. Entomologie et Phytopathologie Appliquées, 41: 21–32.
- **Khoualdia O, 2006**. Possibilités d'utilisation de la congélation rapide comme alternative au bromure de méthyle pour la désinfection des dattes. Mémoire de Mastère, Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage Chott-Mariam, Tunisia, 61p.
- **Khoualdia O**, **R'houma A, Jarraya A, Marro JP, Brun J, 1995**. Un trichogramme, nouveau parasite d*'E. ceratoniae* Zeller(Lep: Pyralidae) en Tunisie. Annales de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, 68:145–151.

- **Khoualdia O**, **R'houma A, Marro JP ,1996 a**. Utilisation de *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hymenoptera, Trichogrammatidae) contre la pyrale des dattes. Annales de l'INRAT, 69:197-205.
- **Khoualdia O, R'houma A, Marro JP, Brun, J. 1996.b.** Lâcher de *Phanerotoma ocuralis* Kohl contre la pyrale des dattes, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller, dans une parcelle expérimentale à Tozeur en Tunisie. Fruits, 51: 129-132.
- **Khoualdia O**, **Takrouni ML, Ben Mahmoud O, Rhouma A, Alimi E, Bel Hadj R, Abid M, Brun J ,2002**. Lutte contre la pyrale des dattes dans le Sud Tunisien. Essai de deux produits naturels, le spinosad et l'azadiractine. Phytoma. La Défense des Végétaux (France) 551 : 15-17.
- **Khoualdia O**, **Pizzol J, Ferran A, 2008**. Capacité´ de dispersion verticale chez *Trichogramma cacoeciae* Marchal(Hym: Trichogrammatidae) dans les palmeraies du sud tunisien. 8th International Conference on Pests in Agriculture. Montpellier, 8pp.
- **Knipling EF, 1955**. Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males. Journal of Economic Entomology, 48: 459–462.
- **Krasil'Nikova GA, 1965**. Food specialization of *Ectomyelois ceratoniae* and *Euzophera punicaella* caterpillars (Lepidoptera, Pyralididae). Izvestiya Akademii Nauk Turkmenskoi SSR Seriya BiologicheskikhNauk, 1: 55–60.
- **Krasil'Nikova GA, 1966.** Conditions promoting adaptation of some pyralids to synanthsopism. Entomologicheskoe Obozrenie, 45: 764–773.
- **Krechemer FSetFoerster LA, 2015**. Temperature effects on the development and reproduction of three *Trichogramma* (Hymenoptera:Trichogrammatidae) species reared on *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) eggs. Journal of Insect Science, 15(1): 90-96.

- **Ksentini I,Jardak T, Zeghal N, 2010**. *Bacillus thuringiensis*, deltamethrin and spinosad side-effects on three Trichogramma species. Bulletin of Insectology, 63 (1): 31-37.

-L-

- **Laflin HM et Parella MP, 2004**. Developmental biology of citrus mealybug under conditions typical of California rose production. Annual Entomology Society of America, 97: 982-988.
- **Lait LA et Hebert PDN, 2018**. A survey of molecular diversity and population genetic structure in North American clearwing moths (Lepidoptera: Sesiidae) using cytochrome *c* oxidase I. PLoS ONE, 13(8): e0202281. https://doi.org/10.1371/
- **Lance DR et Mc Innis DO, 2005.** Biological Basis of the sterile insect technique. Sterile Insect Technique, Principles and Practice in Area-wide Integrated Pest Management. Ed.V.A.Dyck, J. Hendrickset A.S. Robinson, Vienna, Austria, 69-94.
- **Lange CE, 1991**. A Nosema-type microsporidian in Ectomyelois ceratoniae (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Invertebrate Pathology, 58: 348–352.
- **Larson LL, Sparks T, Thomson GD, 1999.** The Spinosyns, new insect control agents isolated from *Saccharopolyspora spinosa* .Dow Agro Sciences, Indianapolis, IN 46268.
- **Lebdi Grissa k, 2010.** Etude de base sur les cultures d'agrumes et de tomates en Tunisie, Regional Integrated Pest Management Program in the Near East GTFS/REM/070/ITA Juillet – Septembre 2010. Adresse URL :<http://www.ipm-neareast.com/index.php>. Page consultée le 27/02/ 2012.
- **Lebdi-Grissa KetBen Ayed N, 2005.** Lutte biologique contre *Ectomyelois ceratoniae* sur grenadier par des lâchers de *Trichogramma cacoeciae*. AFPP 7ème Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, Montpellier, 7p.

- **Lebdi-Grissa K, Harrabi H, Loussaif F, 2006**. Sensibilité variétale du citronnier vis à vis de la teigne, *Prays citri* (Lepidoptères : Hyponomeutidae) et lutte biologique. VIème conférence Internationale Francophone d'entomologie-Rabat (Maroc), thème entomologie et développement durable. Institut scientifique, Université Mohamed V-Agdal. Maroc, 10p
- **Leonard MD, 1933.** Notes on insect conditions in Puerto Rico for the fi scal year, July 1931 thru June 1932. Journal of the Department of Agriculture, Puerto Rico, 17: 97–137.
- **Lepigre A, 1963.** Essais de lutte sur l'arbre contre la pyrale des dattes (*Myelois ceratoniae* Zeller–(Pyralidae) Annal. Epiphyties,14 (2):85-105.
- **Léry X, LaRue B, Cossette J, Charpentier G, 2003**. Characterization and authentication of insect cell lines using RAPD markers. Insect Biochemistry Molecular Biology, 33(10): 1035-1041.
- **Li LY**, **1994.** Worldwide use of Trichogramma for biological control of different crops: A survey. In: Wajnberg E, Hassan SA (Eds.). Biological control with egg parasitoids CAB International; Wallingford, U. K, 37-54pp.
- **Lira PDL, Retta D, Tkacik E, Ringuelet J, Coussio JD, Baren Cv and Bandoni AL, 2009.**Essential oil and by-products of distillation of bay leaves (*Laurus nobilis* L.) from Argentina. Industrial Crops and Products, 30(2): 259-264.
- **Lounsbury CP, 1919.** Worms in walnuts. South African Fruit Grower and Smallholder, 6: 307–309.

-M-

- **Machado HE, Bergland A O, O'brien K R, Behrman E L, Schmidt PS, Petrov DA, 2016**. Comparative population genomics of latitudinal variation in *Drosophila simulans* and *Drosophila melanogaster*.Molecular Ecology, 25: 723–740.

- **Machado S, Junges dos Santos JP, Fonseca PM, Bolzan AR, David J, Loreto ELdS, Gottschalk MS, Robe LJ, 2017.**Neotropical mycophagous drosophilids (Diptera: Drosophilidae): DNA barcoding as a way of overcoming the taxonomic impediment. Insect Conserv Divers, 10: 271-281. doi:10.1111/icad.12223.
- **Madge D, 2012.** Australian almond conference, 2012**.** Carob Moth - Eating Your Profits? 24p. (http://australianalmonds.com.au/documents/Industry/Conference/2012/Presentations%20%20Day%201/Carob%20Moth%20-%20Eating%20Your%20Profits%20-%20David%20Madge.pdf).
- **Mafra-Neto A, De Lame FM, Fettig CJ, Munson A S, Perring TM, Stelinski LL,Stoltman LL, Mafra LEJ, Borges R, Vargas RI, 2013.** Manipulation of insectbehavior with Specialized Pheromone and Lure Application Technology (SPLAT®). In J. J.Beck, J. R. Coats, S. O. Duke, & M. E. Koivunen (Eds.), Pest management with natural products (American Chemical Society Symposium Series, Washington DC, USA, 1141, pp. 31–58).
- **Mahr DL**, **Whitaker P, Rigdway N, 2008.** Biological control of insects and mites: An introduction to beneficial natural enemies and their use in pest management. Cooperative extension publishing, University of Wisconsin- Madison, 116pp.
- **Maia JB**, **Andrade CG De Oliveira RL, Lasmar O, Santos Leite MI, 2013.**Effects of insecticides used in corn on immature stages of *Trichogramma atopovirilia* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Revista Colombiana de Entomología, 39 (2): 205-210.
- **Mally BR, Léger T, Vairappan CS, Sutton S, Nuss M, 2017.** Discovery of another fern-feeding group of moths: the larvae of Hoploscopini (Insecta: Lepidoptera: Pyraloidea) from Borneo. Raffles Bulletin of Zoology, 65: 100-108.

- **Mansour R, Lebdi Grissa K, La Torre I, Zappalà L, Russo A, 2009.** Prelimenary study on mealybugs in two vineyards of the Cap Bon region (Tunisia). Tunisian Journal of Plant Protection, 4: 185-196.
- **Mars M et Sayadi S, 1992**. Etude comparative de la qualité des fruits de cinq variétés de grenadier (*Punica granatum* L.). Revue des Régions Arides, 4/92 : 45-57.
- **Mart C et Kilincer N, 1993**. Population fluctuations and number of generations of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) on pomegranate in Southeast Anatolia region. Turkiye Entomoloji Dergisi, 17: 209–216.
- **Martinez-Sanudo I, Mazzon L, Vecchia PD, Bagnoli B, Lucchi A, Marchesini E and Mori N, 2013.**Pyralidae Phycitinae in Italian vineyards: Behavioural and molecular genetic investigations. In A. Calonnec, C. Duso, C. Gessler, M. Maixner, D. Thiery, & T. Zahavi (Eds.), Proceedings of the IOBC/WPRS Working Group "Integrated Protection and Production in Viticulture", 2–5 October 2011, Lacanau, France. IOBC/WPRS Bulletin, 85: 211–215.
- **McDonald LL, Guy RH, Speirs RD, 1970,** Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insects. Marketing Res. Rep. n° 882. Washington: Agric. Res. Service, US. Dept of Agric., 183 p.
- **McFarlane J, 1962.** A note on the field infestation of pods of the tamarind tree, *Tamarindus indica* L., in Jamaica. Entomologist's Monthly Magazine, 97: 198–199.
- **Mediouni J, 2005.** Lute génétique contre la pyrale des caroubes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1881 (Lepidoptères: Pyralidae) par le biais de la technologie des insectes stériles. Thèses de Doctorat en sciences agronomiques, INAT, 153 p.

- **Mediouni J et Dhouibi MH, 2003.** Study of the Inherited Sterility effect on the behavior of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae). Oral presentation. Eighth Arab Congress of Plant Protection El-Beida, Great Jamahirya, October 12-16.
- **Mediouni J et Dhouibi MH, 2007**. Mass rearing and field performance of irradiated carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Tunisia pp 265-273. In Vreysen, M.J.B., A.S. Robinson, and J. Hendrichs (eds.) Area-wide control of insect pests. From research to field implementation. Springer Netherlands, Houten, Netherlands.
- **Mediouni-Ben Jemâa J, Tersim N, Khouja ML, 2011**. Composition and repellent efficacy of essential oil from *Laurus nobilis* against adults of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). Tunisian Journal of Plant Protection, 6: 29-41.
- **Mediouni Ben Jemâa J, Haouel S, Bouaziz M, Khouja ML, 2012a.** Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five Eucalyptus essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. Journal of Stored Products Research, 48 : 61-67.
- **Mediouni Ben Jemâa J, Haouel S, Khouja ML, 2012b**. Postharvest control of stored date pests in Tunisia using Eucalyptus essential oils. Integrated Protection of Stored Products IOBC-WPRS Bulletin, 81: 83-88.
- **Mediouni Ben Jemâa J, Tersim N, Taleb Toudert K, Khouja ML, 2012c.** Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. Journal of stored products research, 48:97-104.
- **Mediouni Ben Jemâa J, Haouel S, Khouja ML, 2013.**Efficacy of *Eucalyptus essential* oils fumigant control against *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under various space occupation conditions. Journal of Stored Products Research ,53 : 67-71.

- **Mehaoua MS**, **Hadjeb A, Lagha M, Bensalah MK, Ouakid ML, 2013.** Study of the Toxicity of Azadirachtinon Larval Mortality and Fertility of Carob Moth's Female *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) Under Controlled Conditions. Am-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 7(1): 1-9.
- **Mehrnejad MR**,**1993**. Biology of the carob moth *Apomyelois ceratoniae* a new pest of pistachio in Rafsanjan. Applied Entomology and Phytopathology ,66 (1-2): 1-12.
- **Mejri O, 2008.** Contribution à l'étude du phénomène de la diapause chez la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller, 1881), Perfectionnement des conditions de l'élevage en masse Et essais de lutte biologique. Mémoire de Mastère en sciences agronomiques. INAT. 2008. 96p.
- **Menken SBJ, Herrebout WM, Wiebes JT, 1992.** Small ermine moths (Yponomeuta): their host plant relations and evolution. Annual review of Entomolgy, 37: 41-66.
- **Michael P, 1968.** The carob moth. Journal of Agriculture, Western Australia, 9: 81–82.
- **Mineo G, 1967.** La *Myelois ceratoniae* Zeller infesta anche le olive. Università di Palermo Istituto di Entomologia Agraria, 7: 5–7.
- **Mirkarimi A**, **2000**. Biological control of carob moth with mass release of *Trichogramma embryophagum* Hartig for Pomegranata worm control, the *Ectomyelois (Spectrobates) ceratoniae* Zell. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 31 (1):103-110.
- **Moura AP**, **Carvalho GA, Pereira AE, Dias Rocha LC**, **2006.** Selectivity evaluation of insecticides used to control tomato pests to *Trichogramma pretiosum.* BioControl, 51: 769.
- **Mozaffarian F**, **Sarafrazi A, Ganbalani GN, 2007**. Host Plant-Associated Population Variation in the Carob Moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: A Geometric Morphometric Analysis Suggests a Nutritional Basis.Journal of Insect Science, 7(2): 1-11.

- **Mozaffarian F, Mardi M, Sarafrazi A, Nouri Ganbalani G, 2008.**Assessment of geographic and host-associated population variations of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, on pomegranate, fig, pistachio, and walnut, using AFLP markers. Journal of Insect Science, 8 (6): 1–9.

-N-

- **Naseiran N, Farazmand H, Vafaei Shoushtari HR, Avand-Faghih A, Azadbakht N, 2012.** The seasonal population fluctuations of pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and quince moth, *Euzophera bigella* Zeller in pomegranate orchards. Journal of Entomological Research, 5(2): 161-170.
- **Navarro S, Donahaye E, Calderon M, 1986.** Development of the carob moth, *Spectrobates ceratoniae*, on stored almonds. Phytoparasitica, 13: 177-186.
- **Nay JE, 2006.** Biology, ecology, and management of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), a pest of dates, *Phoenix dactylifera* L., in Southern California. PhD Dissertation, University of California, Riverside, California. USA.278pp.
- **Nay JE, Boyd EA, Perring TM, 2006**. Reduction of carob moth in 'Deglet Noor' dates using a bunch cleaning tool. Crop Protection, 25:758–765.
- **Nay JE, Perring TM, 2008**. Influences of host plant stages on carob moth (Lepidoptera: Pyralidae) development and fitness. Environmental Entomology, 37: 568–574.
- **Ncibi S, 2012.** Screening et effet insecticide de plusieurs huiles essentielles de plantes tunisiennes sur deux principaux ravageurs des céréales stockées *Rhyzoperta dominica*et *Triblolium castaneum***.** Mémoire de Mastère en sciences agronomiques de l'INAT, 2012, 145 p.
- **Nei M**, **Li WH, 1979**. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases

(molecular evolution/mitochondrial DNA/nucleotide diversity*)*. Proceedings of the National Academy of Sciences, (76)10: 5269-5273.

- **Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E, 2009**. Repellent activity of essential oilsfrom seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschlsky (Coleoptera). Journal of stored Products Research, 45: 212-214.
- **Noldus LPJJ, 1989**. Semiochemicals, foraging behavior and quality of entomophagous insects for biological control. Journal of Applied Entomology, 108:425–451.

-O-

- **ONAGRI, 2014.** www.onagri.tn. Observatoire National de l'Agriculture/Annuaire statistique 2014/ la production végétale :Evolution de la production des principaux fruits.
- **Özder N, 2004.** Effect of different cold storage periods on parasitization performance of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera, Trichogrammatidae) on eggs of*Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). Biocontrol Science and Technology, 14(5): 441-447.
- Ö**zturk N, Ulusoy M R, Bayhan E, 2005.** Pest and natural enemy species determined in pomegranate orchards in the Eastern Mediterranean Region, Turkey. Turkiye Entomoloji Dergisi, 29: 225–235.
- Ö**zturk N, Olculu M, Ulusoy MR**, **2011**. The adult population dynamics of the Carob moth (*Ectomyelois ceratoniae* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae) in citrus orchards in Adana and Mersin provinces. Bitki Koruma Bulteni,51(4): 347–358.

-P-

- **Panthi BR, Seal DR, Capinera JL, Nuessly GS, Martin CG, 2016.** Host Selection, Growth, and Survival of Melonworm (Lepidoptera: Crambidae) on Four Cucurbit Crops under Laboratory Conditions. *Environmental Entomology*, 45(4), 945–951.
- **Pawar AD, Tuhan NC, Balasubramaniam S, Parry M, 1980.** Biological control of codling moth in Ladakh. Indian Journal of Plant Protection, 8: 189-191.
- **Peakall R, Smouse PE,2006.**Genetic analysis in Excel.Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Resources, 6 (1): 288–295**.**
- **Peet RK, 1974.** The measurement of species diversity. Annual Review of Ecology and Systematics, 5: 258-307.
- **Pereira JA, Bento A, Cabanas JE, Torres LM, Herz A, Hassan SA, 2004.** Ants and predators of the egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) applied for biological control of the olivemoth, *Prays oleae* (Lepidoptera: Plutellidae) in Portugal. Biocontrol Science and Technology, 14 (7):653-664.
- **Peyrovi M, Goldansaz SH, Jahromi KT, 2011.**Using *Ferula assafoetida* essential oil as adult carob moth repellent in Qom pomegranate orchards (Iran). African Journal of Biotechnology, 10(3): 380-385. http://dx.doi.org/10.5897/AJB10.1232.
- **Pielou EC, 1969.** An introduction to Mathematical Ecology (Witley-Interscience ed.). New York: Witley-Interscience.
- **Piguet P, 1957.** Les ennemies animaux des agrumes en Afrique du nord. Société Shell. Algérie : 125p.
- **Pineda S, Budia F, Schneider MI, Gobbi A, Viñuela E, Valle J, Del Estal P, 2004.** Effects of two biorational insecticides, spinosad and methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions.Journal of Economic Entomology, 97(6):1906-11.
- **Pintureau B, Daumal J, 1979.** Les ectomyelois de l'ancien monde [lep. pyralidae. Bulletin de la Société Entomologique de France, 84, 84-88**.**

- **Piri F**, **Sahragard A, Ghadamyari M, 2014.** Sublethal Effects of Spinosad on Some Biochemical and Biological Parameters of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). Plant Protection Science, 50 (3): 135–144
- **Pinto JD**, **1999.** Systematics of the North American species of *Trichogramma Westwood* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Memoirs of the Entomological Society of Washington, 22: 1–287.
- **Pinto JD, Stouthamer R, 1994**. Systematics of the Trichogrammatidae with emphasis on Trichogramma. In: E. WAJNBERG and S.A. HASSAN, eds. Biological control with egg parasitoids. Wallingford: CAB International, pp. 1-36
- **Pizzol J,Pintureau B, Khoualdia O, Desneux N, 2010.** Temperature-dependent differences in biological traits between two strains of *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Journal of Pest Science, 83:447–452.
- **Plarre R, Poschko M, Prozell S, FrankA, Wohlgemuth R, Philips JK, 1997**. Effects of oil of cloves and citronellol, two commercially available repellents, against the webbing clothes moth *Tineola bisselliella* Hum. (Lepidoptera: Tineidae). Anz. Sch~.dlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz , 70 : 45-50.

-R-

- **Rae DJ, Watson DM, Liang WG, Tan BL, Li M, Huang MD, Ding Y, Xiong JJ, Du DP, Tang J, Beattie GAC ,1996** . Comparison of petroleum spray oils, abamectin, cartap, and methomyl for control of citrus leafminer (Lepidoptera: Gracillariidae) in Southern China. Journal of Economic Entomology, 89(2): 493-500.
- **Ratnasingham S, Hebert PDN, 2007.**Bold: The Barcode of Life Data System (http://www.barcodinglife.org).Molecular Ecology

Notes, 1; 7(3): 355–364. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x.

- **Razi S, Bernard EC, Laamari M, 2017.** A survey of thrips and their potential for transmission of viruses to crops in Biskra (Algeria): First record of the species *Frankliniella intonsa* and *Thrips flavus*. Tunisian Journal of Plant Protection, 12: 197- 205.
- **Real P, 1948.** Les Myelois parasites des dates (Lepidoptera: Phycitinae). Revue de Pathologie Végétale et d'Entomologie Agricole de France Paris, 27: 59–64.
- **Ribeiro LFC, Zanatta DB, Bravo JP, Brancalhão RMC, Fernandez MA, 2009**. Molecular markers in commercial *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) hybrids susceptible to multiple nucleopolyhedrovirus. Genetics and Molecular Research,8 (1): 144-153.
- **Roger J, 1977.** Collection d'écologie : Paléoécologie. Masson Edition, Paris.
- **Ronning CM, Schnell RJ, Kuhn DN, 1995**. Inheritance of random amplified polymorphic DNA markers in *Theobroma cacao* L. Journal of the American Society *for* Horticultural Science,120: 681-686.
- **Roriz V, Oliveira L, Garcia P, 2006**. Host suitability and preference studies of *Trichogramma cordubensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Biological Control, 36: 331–336.
- **Ros VID et Breeuwer JAJ, 2007**.Spider mite (Acari: Tetranychidae) mitochondrial COI phylogeny reviewed: host plant relationships, phylogeography, reproductive parasites and barcoding.Experimental and Applied Acarology, 42(4): 239–262.
- **Rose EA, 1991**. Applications of the polymerase chain reaction to genome analysis. The Federation of American Societies for Experimental Biology5: 46-54.

- **Ruggiero LF, Aubry KB, Buskirk SW, Koehler GM , Krebs CJ, McKelvey KS , Squires JR,1999**. Ecologyand conservation of lynx in the United States. General Technical Report RMRS-GTR-

30WWW. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station.

-S-

- **Saim N et Meloan EC, 1986**. Compounds from leaves of bay (*Laurus nobilis* L.) as repellents for *Tribolium castaneum* (Herbst) when added to wheat flour. Journal of Stored Products Research, 22(3) : 141-144.
- **Sakr EAH, Hassan SA, Zebitz CPW, 2000**. Control of the apple worm, *Cydia pomonella*, by Trichogramma releases.Trichogrammanews, 10,103pp.
- **San-Fu T, Bing-Lan L, Jiunn-Wang L, Jiunn-Shiow W, Jenn-Sheng H, Shun-Cheng W, Yew-Min T, Shu-Peng H, 2003.** Pulmonary toxicity of thuringiens in administered intratracheally in Sprague–Dawley rats. Toxicology, 186 (3), 22: 205–216.
- **Sattar S, Farmanullah ABD, Saljoqi AUR, Arif M, Sattar H, Qazi JI, 2011**. Toxicity of some new insecticides against *Trichogramma chilonis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) under laboratory and extended laboratory conditions. Pakistan Journal of Zoology, 43(6):1117-1125.
- **Saxena CR, Dixit PD, Harshan V, 1992.** Insecticidal action of *Lantana camara* against *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera. Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 28: 279-281.
- **SayedSM, ElsayedG, Mahmoud SF, Elzahrany OM, 2015**. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and Indigenous *Trichogramma turkistanica* for Controlling Lepidopterous Pests on Taify Pomegranate Fruits. African Entomology, 23(2):443-450.

- **Schmidt GH et Streloke M, 1994**.Effect of *Acorus calamus* (L.) (Araceae) oil and its main compound β-asarone on *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae). Journal of Stored Products Research, 30 (3): 227-235.
- **Schnell RJ, Ronning CM and Knight RJ, 1995**. Identification of cultivators and validation of genetic relationships in *Mangifera indica* using RAPD markers. Theoretical Applied Genetics,90: 269-274.
- **Schindel DE et Miller SE, 2005.**DNA barcoding a useful tool for taxonomists. Nature, 5; 435(7038):17.DOI:10.1038/435017b.
- **Scieux C, Grimont F, Regnault B, Bianchi A, Kowalski S**, **Grimont PA,1993.** Molecular typing of *Chlamydia trachomatis* by random amplification of polymorphic DNA. Research in Microbiology, 144: 395–404.
- **Sedghiani S, Raboudi F**, **Bouktila D**, **Makni H, Makni M**, 2017.A Practical Molecular Diagnostic Tool of the Date Moth *Ectomyelois ceratoniae*(Lepidoptera: Pyralidae) in Tunisia. Journal of Entomological Research Society, 19(1): 81-90, 2017.
- **Serghiou CS, 1983.** The citrus mealybug, *Planococcus citri*Risso-carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller, Pest complex on grapefruit and its chemical control. Agricultural research institute. Technical bulletin 56.
- **Shaaya E, Ravid U, Paster N, Juven B, Zisman U, Pissarev V, 1997**. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. Journal of Chemical Ecology, 17: 499- 504.
- **Shafik M, 1938.** Constant temperature hot air sterilizer for the control of Ephestia and Myelois on Dates. Bulletin de la Société Fouad Ier d'Entomologie, 22: 233–264.
- **Shakeri M, 1993.** First report of attack of *Spectrobates ceratoniae* Zell to figs in Iran. Applied Entomology and Phytopathology, 60: 29pp.

- **Shannon CE, Weaver W, 1949.** The mathematical theory of communication. The University of Illinois Press, Urbana, 117pp.
- **Sharma VL, Sobti RC, Tajinder KG, Kumari S, Kumari M, 2006.** Molecular Studies of Five Species of Butterflies (Lepidoptera: Insecta) Through RAPD-PCR Technique. Caryologia, 59(3): 226-234.
- **Shermon JD, Smith LY, Black TK, Talbert LK. 2001**. Identification of barley genome segments introgressed into wheat using PCR markers. Genome 44: 38-44.
- **Sheppard RA, 1926.** Insect pests imported on miscellaneous plant products. In 56th annual report of the Entomological Society of Ontario, 1925, Canada (pp. 50–54).
- **Shufran KA, Burd JD, Anstead JA, Lushai G, 2000.** Mitochondrial DNA sequence divergence among greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes: evidence for host-adapted races. Insect Molecular Biology, 9(2), 179-184.
- **Skander Essid M, 2011**. Application de la lutte thermique au moyen de l'air chaud contre deux ravageurs des dattes stockées : *Ectomyelois ceratoniae* Z. (Lepidoptera, Pyralidae) et *Carpophilus hemipterus* L. (Coleoptera, Nitidulidae).Mémoire de master de recherche de l'INAT.77p.
- **Smith SM, 1994**. Methods and timing of releases of Trichogramma to control Lepidoptera pests, 112 -143pp. In: Wajnberg E, Hassan SA (eds.), Biological Control with Egg Parasitoids. CAB International, Wallingford, 286pp.
- **Sonda M, 1963.** An interception of the locust bean moth, Ectomyelois ceratoniae (Zeller), in Japan, on English walnuts from Italy (Lepidoptera, Pyralididae). Kontyu, 31: 292–293.
- **Sorhagen L, 1881.** Aus meinem entomologischen Tagebuche. Berliner Entomologische Zeitschrift, 25: 17–40.

- **Stein, W, 1960**. Experiments on the biological control of the apple worm (*Carpocapsa pomonella* (L.)) by an oophagous parasitoid of the genus Trichogramma (1-2). Entomophaga, 3: 237-259.
- **Strutzenberger P, Brehm G, Fiedler K, 2010**. DNA barcoding-based species delimitation increases species count of Eois (Geometridae) moths in a well-studied tropical mountain forest by up to 50%. Insect Science, 18(3):349 – 362.
- **Suh CPC, 1998**. Reevaluation of Tricho-gramma releases for suppression of Heliothine pests in cotton. Proceedings of the Beltwide Cotton ProductionSan Diego, California, 2: 1098-1101.
- **Sumpich J, Skyva J, 2008**. Faunistic records from the Czech Republic – 255. Lepidoptera: Tineidae, Gracillariidae, Gelechiidae, Tortricidae, Alucitidae, Pyralidae. Klapalekiana, 44: 83–85.
- **Swezey OH, 1923.** The Erythrina Twig-Borer (Terastia meticulosalis) in Hawaii (Pyralidae, Lepidoptera). Proceedings of the Hawaiian Entomological Society, 5: 297–298.

-T-

- **Takada Y, Kawamura S, Tanaka T, 2001.**Effects of various insecticides on the development of the egg parasitoid *Trichogramma dendrolimi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Journal of Economic Entomology, 94: 1340-1343.
- **Taki M, Dabbagh GR, Torabi R, Kavianpoor MR, 2014**. Some mechanical methods to behavior manipulation of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* in pomegranate orchards. International Journal of Biosciences, 4 (6): 67–73.
- **Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S, 2013.** MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 30 (12): 2725–2729.

- **Tautz D, Arctander P, Minelli A, Thomas RH, Vogler AP, 2003**. A plea for DNA taxonomy. Trends Ecology Evolution, 18:70-74.
- **Tebassi S, 1992**. Lutte contre l'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller sur le grenadier dans les oasis littorales. Rapport de stage de fin d'études, I.R.A, Médenine.
- **Thakur MS, 2013.** Molecular studies of seven species of butterflies (Lepidoptera: Pieridae) through RAPD-PCR Technique. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 4(3): 1090 – 1098.
- **Thlibi H, 2014.** Efficacité de certaines méthodes de lutte biologique intégrée contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1881 (Lepidoptera,Pyralidae) sur agrumes et dans les stations de conditionnements. Projet de Fin d'Études du Cycle Ingenieur de l'INAT, 99p.
- **Thligene N, 2013**. Etude de deux ravageurs lépidoptères, la teigne du citronnier *Prays citri* Millière (Lepidoptera : Hyponomeutidae) et la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (lepidoptera : Pyralidae) en vergers d'agrumes. Projet de Fin d'Études du Cycle Ingenieur de l'INAT, 146p.
- **Tokmakogiu C, Soylu Z, Devecioughu H, Devecioglu H, 1967.**Studies on the biology and methods of controlling carob worm, *Myelois ceratoniae*. Bitki Koruma Bülteni, 7: 91–106.
- **Trabelsi I et Boulahia-Kheder S, 2009.**Sur la présence en Tunisie du thrips des agrumes *Pezothrips kellyanus* (Thysanoptera : Thripidae). Annales de l'INRAT 82: 181-186.
- **Trabut, 1923**. Diseases and enemies of the fig tree. Agricultural Bulletin of Algeria, Tunisia, Morocco, *29*, 117–124.

- **TugbaUluç F et Demirel N, 2011**. Detecting and montoring the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* by using sex pheromone traps to determine its distribution, population density and damage level in pomegranate orchards in Hatay Province, Turquie IV. Congrés de la protection des végétaux 28-30 juin 2011, Kahramanmaras, Turquie.

-U-

- **Uygun N et Satar S, 2008**.The current situation of citrus pests and their control methods in Turkey. Integrated Control in Citrus Fruit Crops .IOBC/wprs Bulletin, 38:2-9.

-V-

- **Vaughan H, 1870.** Descriptions of three species of Phycidae (from Britain) new to science. Entomologist's Monthly Magazine, 7: 130–132.
- **Voegelé J, 1986.** Lutte biologique en grandes cultures : les Trichogrammes. Les Colloques de l'INRA, 34, 113-129.
- **Voegelé J, Brun P, Daumal J ,1974**. Les trichogrammes. I : Modalité de la prise de possession et de l'élimination de l'hôte chez le parasite embryonnaire *Trichogramma brasiliensis*(Hym.chalcidoidea). Annales de la Société Entomologique de France, 10 : 757-761.

-W-

- **Warner RL, 1988.** Contributions to the biology and the management of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) in 'Deglet Noor' date gardens in the Coachella Valley of California (260 pp). PhD thesis, University of California, Riverside, California, USA.
- **Wertheimer M ,1958.** Un des principaux parasites du palmier dattier algérien : Le myelois décolore. Fruits, 13 (8): 109 – 123.
- **Widiez M, 1932**. The fig cultivation in North Africa. Agriculture Pratique des Pays Chauds 24: 415–445.

- **Wilkinson D S, 1925.** Entomological notes. Cyprus Agricultural Journal, 20: 9–10.
- **Williams JGK, Kubelik AR, Livak K, Rafalski JA, Tingey SV, 1990**. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research,18: 6531–6535.

-Y-

- **Yoshiyasu Y et Kitatsuji R, 2008.**Discovery of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) in a peach orchard in Japan. Scientific Reports of Kyoto Prefectural University, Life and Environmental Sciences, 60: 31–37.
- **Youssef AI, Nasr FN, Stefanos SS, Elkhair SSA, Shehata WA, Agamy E, Herz A, Hassan SA, 2004.** The side-effects of plant protection products used in olive cultivation on the hymenopterous egg parasitoid *Trichogramma cacoeciae* Marchal. Journal of Applied Entomology, 128: 593–599.
- **Yu DSK, Laing JE, Hagley EAC, 1984**. Dispersal of *Trichogramma* spp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in an apple orchard after inundative releases. Environmental Entomology, 13: 371-374.

-Z-

- **Zekri S et Laajimi A, 2001**. Etude de la compétitivité du sous-secteur agrumicole en Tunisie. In : Laajimi A. (ed.), Arfa L. (ed.). Le futur des échanges agro-alimentaires dans le bassin méditerranéen : Les enjeux de la mondialisation et les défis de la compétitivité. Zaragoza : CIHEAM, 2001. p. 9-16 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 57).
- **Zeller PE, 1839.** Tentative de division naturelle des insectes. Isis d'Oken, 32 :167–220.
- **Zimmerman EC, 1958.** Insects of Hawaii (volume 8), Lepidoptera: Pyraloidea. *Ectomyelois ceratoniae*, 360–361. University of Hawaii Press, Honolulu, Hawaii.

- **Zothansangi CV, Catherine V, Senthil Kumar N, Gurusubramanian G, 2011**. Genetic variation within two cryptic species of *Cirrochroa* (Heliconiinae: Lepidoptera) by RAPD-PCR. Science Vision ,11 (3):165-170.
- **ZoubaA, 2016.** Caractérisation moléculaire et biologique des espèces de trichogrammes pouvant servir comme agents de lutte contre deux ravageurs d'importance économique dans les oasis de sud ouest tunisien *Ectomyelois ceratoniae* Zeller et *Tuta absoluta* Meyrick. Thèse de doctorat. Institut Supérieure Agronomique Chott-Meriem, 134pp.
- **Zouba A, Khoualdia O, Antoneo Diaferia A, Valerio Rosito V, Bouabidi H, ChermitiB, 2009.**Microwave Treatment for Postharvest Control of the Date Moth *Ectomyelois ceratoniae*. Tunisian Journal of Plant Protection, 4:173–184.
- **Zouba A, Jmoui M, Chermiti B, Msetra A, Bouabidi H, 2013.**Hot air treatment for postharvest control of the date moth *Ectomyelois ceratoniae*. Tunisian Journal of Plant Protection, 8: 23-32.