الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Département d'agronomie

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Sciences Agronomique

Spécialité : Phytopathologie

Thème :

Étude de Évaluation de l'efficacité biologique de l'huil essentielle de Pinus halepensis et des champignons entomopathoghes

Contre les ravageurs des cultures

Présenté par :

Rabah Otmani Chaimaa

Khoudria Bouchra

Soutenue le : 23/06/2026

Devant le jury composé de :

Président	Nabi Fahima	Professeur	Université de Médéa
Examinatrice	Chaouati Karima	MCB	Université de Médéa
Promoteur	Chaouch Abderrezak	MCA	Université de Médéa

Année universitaire 2025/2026

Dèdicaces

Je dédie ce modeste ouvrage à :

Mes chers parents « Ismail » et « Karima Sebti » ;pour leur amour, leurs sacrifices, leurs encouragements et leur soutien indéfectible tout au long de mon parcours. Que Dieu les protège et les récompense abondamment.

Mon frère, « zineeddine », et ma sœur, « Douaa », pour leur amour et leur présence à mes côtés.B

Mon fiancé, « Bilal Benkortbi », pour son soutien inestimable, sa patience et ses encouragements.

Mes grands-parents :

« Mahmoud Sebti » et « Wahiba Ben Heda », avec tout mon amour et ma reconnaissance.

À la mémoire de mon grand-père, Mouhamad, que Dieu lui fasse miséricorde et lui accorde le Paradis. Son souvenir restera à jamais gravé dans mon cœur.

Ma grand-mère, Yamina Djebar, avec tout mon amour et ma gratitude.

À tous les membres de ma famille, pour leur soutien et leur bienveillance.

À mes tantes :

« Samira », son époux et leurs enfants ;

« DJazia », son mari et leurs enfants ;

Et ma tante, « Lamia ».

À mes oncles maternels :

« Marwan » et son épouse ;

« said Ali » et son épouse ;

Et mon oncle « Mouhamed », son épouse et leurs enfants ;

Ainsi que mon oncle Kamal.

À mes chères amies, pour leur soutien, leurs encouragements et tous les beaux moments partagés tout au long de mon parcours.

Une pensée toute particulière à ma meilleure amie et ma binôme, « Bouchra », pour sa présence, sa gentillesse, son soutien constant et tous les souvenirs que nous avons construits ensemble. Merci d'avoir été à mes côtés dans les moments de doute comme dans les moments de joie. Je te souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

Chaimaa



Dèdicaces

J'ai aujourd'hui l'immense bonheur de dédier ce modeste travail aux personnes les plus précieuses de ma vie.

À mon cher père « Abdelrazak Ismail », mon premier soutien, mon modèle de force et de sagesse. Merci pour tous les sacrifices que tu as faits pour moi, pour tes conseils, ta patience et ton amour infini. Tu as toujours cru en moi même dans mes moments de faiblesse. Que Dieu te protège et t'accorde une longue vie remplie de santé et de bonheur. Je serai toujours fière d'être ta fille.

À ma tendre mère « Safia Djebar », ma lumière, mon refuge et mon paradis sur terre. Aucun mot ne pourra exprimer tout l'amour et la reconnaissance que je ressens envers toi. Merci pour tes prières, ton affection, tes encouragements et toutes les nuits où tu as porté mes soucis avant les tiens. Tu es la plus belle bénédiction de ma vie. Qu'Allah te garde auprès de moi éternellement.

À ma grande sœur « Hafsa », ma confidente, mon exemple et ma deuxième maman. Merci pour ton amour, ton soutien et ta présence dans tous les moments importants de ma vie.

À « Hana » la belle, ta douceur et ton sourire rendent chaque moment plus beau. Merci d'être cette personne lumineuse qui apporte de la joie autour d'elle.

À « Rabab » la douce et tendre, merci pour ton cœur rempli de gentillesse et pour tout l'amour que tu me donnes sans attendre en retour.

À « Ritaj » ma petite gâtée, toi qui apportes de la joie, de l'innocence et du bonheur dans nos vies, reste toujours cette belle âme pleine de vie.

À mes adorables petites princesses « Areej » et « Bissan », les filles de ma sœur et les petites étoiles de mon cœur. Vos sourires sont capables d'effacer toute fatigue et de remplir mon cœur de bonheur. Je vous aime infiniment et je vous souhaite un avenir rempli de réussite et de joie.

À mon grand-père adoré, ta présence dans ma vie est une immense bénédiction. Merci pour ton affection, ta sagesse et toutes les valeurs que tu m'as transmises.

À ma chère grand-mère,

source de tendresse et de douceur. Tes prières et ton amour m'ont toujours accompagnée et protégée.

À moi-même, « Chaimaa », pour toutes les difficultés que j'ai traversées, pour chaque larme cachée derrière un sourire, pour chaque moment où j'ai choisi de continuer malgré la fatigue. Je suis fière de la personne que je deviens et de tout le chemin parcouru.

À mes amies qui sont devenues des sœurs pour moi, merci pour votre présence sincère, vos encouragements et tous les souvenirs inoubliables partagés ensemble.

Spécialement à « Yousra », ma très chère amie, merci pour ton amour, ta fidélité et ton soutien dans les moments difficiles comme dans les plus beaux moments.

Et à « Hazar », ma douce et précieuse amie, merci pour ta tendresse, ton écoute et ta présence rassurante qui ont illuminé mon parcours.

À ma magnifique binôme, merci d'avoir partagé avec moi cette aventure, les moments de stress, de fatigue mais aussi de rire et de réussite. Ce

travail porte une partie de nos efforts, de notre patience et de notre belle complicité. Je garderai toujours ces souvenirs avec beaucoup d'affection.

Enfin, à toutes les personnes qui m'aiment, me soutiennent et croient en moi de près ou de loin, je vous adresse toute ma gratitude et mon amour.

Je vous dédie ce travail avec tout mon cœur, en signe d'amour, de respect, de reconnaissance et de gratitude infinie.

Bouchra



Remerciements

J'exprime ma profonde gratitude à mon encadreur, le **Dr CHAOUCH Abderrezak**, pour son accompagnement, ses conseils et sa disponibilité, sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir.

Je remercie également les membres du jury, **Mme Nabi** , qui a bien voulu présider ce jury, et ,**Mme Chaouti Karima** qui a accepté d'examiner ce travail.

Et Je tiens également à adresser mes sincères remerciements à Mme Chaouti Karima pour sa disponibilité, sa gentillesse et l'aide précieuse qu'elle nous a apportée tout au long de la réalisation de ce travail. Ses conseils et son soutien ont été d'une grande valeur pour nous.

Mes sincères remerciements vont aussi à tous les enseignants qui m'ont soutenue et aidée durant ce parcours, en particulier Mlle **Djodi mounia** pour ses précieux conseils et son soutien.

Je n'oublie pas de remercier chaleureusement toutes les personnes du laboratoire, des étudiants aux techniciens de laboratoire, qui m'ont aidée de près ou de loin tout au long de ce travail, pour leur disponibilité, leur aide et leurs encouragements.

Enfin, j'adresse ma gratitude à l'ensemble du département SNV, enseignants et étudiants, pour leur soutien et leur bienveillance.

Résumé

Étude de Évaluation de l'efficaté biologique de l'huil essentielle de Pinus halepensis et des champignons entomopathoghes Contre les ravageurs des cultures

Notre étude s'inscrit dans le cadre de la lutte biologique. Elle consiste à tester au laboratoire l'effet de l'extrait d'huile essentielle des feuilles du pin d'Alep (Pinus halepensis) ainsi que l'effet de deux champignons, Metarhizium anisopliae et Trichoderma sp., contre les larves et les adultes de Tenebrio molitor et les larves de Zophobas morio. Cette étude a montré que l'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep est efficace contre les insectes étudiés. Cette efficacité varie en fonction de la dose utilisée, du temps d'exposition et du stade de développement de l'insecte. Les résultats ont révélé que plus la dose augmente, plus le taux de mortalité est élevé et plus le temps d'exposition est long, plus la mortalité devient importante. Chez les larves de Tenebrio molitor, la mortalité a augmenté progressivement dans les trois traitements jusqu'à atteindre 100 %. Le traitement D1 a présenté l'effet le plus rapide avec une mortalité de 60 % dès J1 et 100 % à J5. Le traitement D2 a atteint 100 % à J6, tandis que le traitement D3 a montré une action plus lente avec une mortalité de 40 % à J1 et une DL50 atteinte à J2. Chez les larves de Zophobas morio, les résultats ont montré une activité insecticide importante de l'huile essentielle. Le traitement D3 a enregistré 70 % de mortalité dès J1, suivi du traitement D2 avec 50 % et du traitement D1 avec 30 %. Les trois traitements ont atteint une mortalité totale de 100 % à J7. Concernant les adultes de Tenebrio molitor, la mortalité a augmenté progressivement jusqu'à atteindre 100 % à J5. Le traitement D1 a présenté la meilleure efficacité avec une DL50 atteinte entre J2 et J3, suivi par D2 puis D3. Après le traitement des insectes par Metarhizium anisopliae et Trichoderma sp., les observations ont montré une diminution progressive de l'activité locomotrice, un ralentissement des déplacements, une réduction de l'alimentation ainsi qu'un affaiblissement général des insectes traités. Les effets observés variaient selon les concentrations appliquées et la durée d'exposition. Les deux champignons ont exercé une influence sur le comportement et la vitalité des larves et des adultes, traduisant leur potentiel en tant qu'agents de lutte biologique. Pour les témoins, aucune mortalité ni modification notable du comportement n'a été enregistrée durant toute la période de l'essai. Les résultats obtenus démontrent que l'huile essentielle de Pinus halepensis possède une activité insecticide remarquable contre Tenebrio molitor et Zophobas morio. Les champignons Metarhizium anisopliae et Trichoderma sp. ont également montré des effets biologiques intéressants sur les insectes étudiés. Ces résultats suggèrent que ces agents biologiques pourraient constituer des alternatives prometteuses aux insecticides chimiques dans le cadre de programmes de lutte biologique durable.

Mots clés : Lutte biologique, Metarhizium anisopliae, Trichoderma sp., huile essentielle de pin d'Alep, Tenebrio molitor, Zophobas morio, mortalité, activité biologique .

Summary

Study on the evaluation of the biological efficacy of *Pinus halepensis* essential oil and entomopathogenic fungi against crop pests.

Our study was conducted within the framework of biological control. It aimed to evaluate under laboratory conditions the effect of the essential oil extracted from the leaves of Aleppo pine (Pinus halepensis) as well as the effect of two fungi, *Metarhizium anisopliae* and Trichoderma sp., against larvae and adults of *Tenebrio molitor* and larvae *of Zophobas morio*. The study demonstrated that the essential oil of *Pinus halepensis* is effective against the tested insects. Its efficacy varied according to the applied dose, exposure period, and developmental stage of the insect. The results revealed that mortality increased with increasing doses and longer exposure times. In *Tenebrio molitor* larvae, mortality increased progressively in all treatments until reaching 100%. Treatment D1 showed the fastest effect, recording 60% mortality from Day 1 (J1) and reaching 100% mortality on Day 5 (J5). Treatment D2 reached 100% mortality on Day 6 (J6), whereas treatment D3 showed a slower action, with 40% mortality on Day 1 and an LD50 reached on Day 2 (J2). *For Zophobas morio* larvae, the results indicated a significant insecticidal activity of the essential oil. Treatment D3 recorded 70% mortality on Day 1, followed by D2 with 50% and D1 with 30%. All treatments achieved 100% mortality by Day 7 (J7). Regarding Tenebrio molitor adults, mortality increased progressively until reaching 100% on Day 5 (J5). Treatment D1 exhibited the highest efficacy, with the LD50 reached between Day 2 and Day 3 (J2–J3), followed by D2 and then D3. Following treatment with Metarhizium anisopliae and Trichoderma sp., observations revealed a gradual decrease in locomotor activity, slower movement, reduced feeding activity, and general weakening of the treated insects. The observed effects varied according to fungal concentration and exposure duration. Both fungi influenced the behavior and vitality of larvae and adults, highlighting their potential as biological control agents. No mortality or significant behavioral changes were recorded in the control group throughout the experimental period. The obtained results demonstrate that the essential oil of Pinus halepensis possesses remarkable insecticidal activity against *Tenebrio molitor and Zophobas morio*. In addition, *Metarhizium anisopliae* and Trichoderma sp. showed promising biological effects on the tested insects. These findings suggest that these biological agents could represent effective alternatives to chemical insecticides within sustainable biological control programs.

Keywords: Biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Trichoderma sp.*, Aleppo pine essential oil, *Pinus halepensis*, *Tenebrio molitor*, *Zophobas morio*, mortality, biological activity.

الملخص

والفطريات الممرضة (*Pinus halepensis*) دراسة لتقييم الفعالية البيولوجية للزيت العطري لنبات الصنوبر الحلبي للحشرات ضد آفات المحاصيل

تندرج دراستنا ضمن إطار المكافحة البيولوجية، وتهدف إلى تقييم فعالية المستخلص الزيتي العطري لأوراق صنوبر حلب (*Pinus halepensis*)، بالإضافة إلى تأثير فطرين هما *Metarhizium anisopliae* و *Trichoderma* sp. ضد يرقات وحشرات *Tenebrio molitor* البالغة، ويرقات *Zophobas morio* تحت الظروف المخبرية.

أظهرت هذه الدراسة أن الزيت العطري لصنوبر حلب يتمتع بفعالية واضحة ضد الحشرات المدروسة، حيث تختلف هذه الفعالية حسب الجرعة المستعملة، مدة التعرض، وطور نمو الحشرة. وقد بينت النتائج أن ارتفاع الجرعة يؤدي إلى زيادة نسبة الوفيات، كما أن إطالة مدة التعرض تؤدي إلى ارتفاع معدل النفوق.

بالنسبة ليرقات*Tenebrio molitor* ، لوحظ ارتفاع تدريجي في نسبة الوفيات في جميع المعاملات إلى غاية الوصول إلى 100%. وقد أظهر العلاج D1 أسرع تأثير، حيث سجل نسبة وفيات بلغت 60% ابتداءً من اليوم الأول(J1) ، ووصلت إلى 100% في اليوم الخامس .(J5) أما العلاج D2 فقد حقق نسبة وفيات كاملة (100%) في اليوم السادس(J6) ، في حين أظهر العلاج D3 تأثيراً أبطأ، حيث سجل 40% من الوفيات في اليوم الأول، وتم بلوغ قيمة DL50 في اليوم الثاني.(J2)

أما بالنسبة ليرقات*Zophobas morio* ، فقد أظهرت النتائج نشاطاً حشرياً مهماً للزيت العطري. حيث سجل العلاج D3 نسبة وفيات بلغت 70% منذ اليوم الأول(J1) ، يليه العلاج D2 بنسبة 50%، ثم العلاج D1 بنسبة 30%. وقد وصلت جميع المعاملات إلى نسبة وفيات كاملة (100%) في اليوم السابع.(J7)

وفيما يخص الحشرات البالغة لـ*Tenebrio molitor* ، فقد ارتفعت نسبة الوفيات تدريجياً حتى بلغت 100% في اليوم الخامس .(J5) وسجل العلاج D1 أعلى فعالية، حيث تم بلوغ قيمة DL50 بين اليومين الثاني والثالث J2) و(J3، يليه العلاج D2 ثم D3.

بعد معالجة الحشرات بفطري *Metarhizium anisopliae* و*Trichoderma sp.*، أظهرت الملاحظات انخفاضاً تدريجياً في النشاط الحركي، وتباطؤاً في التنقل، وانخفاضاً في التغذية، إضافة إلى ضعف عام لدى الحشرات المعالجة. وقد اختلفت هذه التأثيرات باختلاف التراكيز المطبقة ومدة التعرض. كما أثّر الفطران على سلوك وحيوية اليرقات والحشرات البالغة، مما يعكس إمكانياتهما كعوامل فعالة في المكافحة البيولوجية.

أما بالنسبة لمجموعة الشاهد، فلم يتم تسجيل أي نسبة وفيات أو تغيرات سلوكية ملحوظة طوال فترة التجربة.

تؤكد النتائج المتحصل عليها أن الزيت العطري لصنوبر حلب يمتلك نشاطاً حشرياً متميزاً ضد *Tenebrio molitor* و *Zophobas morio*.كما أظهر الفطران *Metarhizium* anisopliae و *Trichoderma* sp. تأثيرات بيولوجية واعدة على الحشرات المدروسة. وتشير هذه النتائج إلى إمكانية اعتماد هذه العوامل البيولوجية كبدائل فعالة للمبيدات الكيميائية ضمن برامج المكافحة البيولوجية المستدامة.

الكلمات المفتاحية: المكافحة البيولوجية، *Metarhizium anisopliae*، *Trichoderma* sp.، الزيت العطري لصنوبر حلب، *Tenebrio molitor*، *Zophobas* morio، الوفيات، النشاط البيولوجي.

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
1	Dociostaurus maroccanus infecté par *Metarhizium anisopliae*	4
2	Étapes de l'infection de l'hôte par *Metarhizium anisopliae.*	6
3	Trois souches isolées différentes de *Trichoderma spp.*	7
4	Conidiophores, phialides et conidies de souches *de Trichoderma*	8
5	Stades de développement *de Tenebrio molitor.*	13
6	Morphologie de *Tenebrio molitor* . www.alamy.com	14
7	cycle de vie du ver de farine (site web)	15
8	Les stades de développement du superver, *Zophobas morio*, de l'œuf à l'adulte	19
9	Cycle de vie *du Zophobas morio* « superworms »	20
10	Les aiguilles et les cônes de pin d'Alep (A : cône femelle, B : cône mâle) (Kadik ,1983).	23
11	l'écorce du pin d'Alep (Boudy, 1952)	23
12	Aire de répartition du pin d'Alep et du pin Brutia (Quezel, 1986)	24
13	Aire de répartition du pin d'Alep en Algérie (Bentouati, 2006).	26
14	grands pins d'Alep poussant sur d'anciennes terrasses en bas de pente, et présentant une belle grume apte au bois de construction	28
15	pins d'Alep poussant en milieu difficile et présentant des troncs tortueux, de grosse branches mortes et des signes de casse de cime répétées, liées au vent ou à la neige.	28
16	Élevage de *Tenebrio molitor et Zophobas morio* au laboratoire	32
17	Les étapes d'extraction de pin d'Alep	35
18	Traitement des larves et des adultes d'huiles essentielles pin d'Alep contre l'insecte *Tenberio molitor*	36
19	Les doses de champignon *Metarizium anisophiae*	37

20	Traitement de champignons *Metarhizium anisoplie* contre les deux l'insectes *Tenberio molitor et zophobas morio*	39
21	Les doses de champignons *Trichoderma*	41
22	Traitement par de champignons *Trichoderma* contre les deux l'insectes *Tenberio molitor et zophobas morio*	43
23	Pourcentage de mortalité de chez *le Tenberio molitor*	48
24	Pourcentage de mortalité de *Zophobas morio*	49
25	Pourcentage de mortalité chez Les adults	50
26	pourcentage de mortalité de *Metarhizium anisophiae chez Tenberio molitor*	51
27	pourcentage de mortalité *de Metarhizium anisopliae chez zophobas morio*	52
28	pourcentage de mortalité de champignon *Trichoderma chez Tenberio molitor*	54
29	pourcentage de mortalité de *Trichoderma chez Zophobas morio*	55

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre de tableau	Page
1	La superficie occupée par le pin d'Alep dans quelques pays de la Méditerranée.(Bentouati, 2006).	25
2	Le matériel utilisé au laboratoire	33
3	Pourcentage de mortalité de chez le Ten Au début de l'expérience (T0), le nombre d'individus était de 10 dans les trois lots (D1, D2 et D3).	47
4	Pourcentage de mortalité de chez le Ten Au début de l'expérience (T0), le nombre d'individus était de 10 dans les trois lots (D1, D2 et D3).	49
5	Pourcentage de mortalité de Les *adults*	50

Table des matières

Chapitre I: Synthèse bibliographique

I.1. Le champignon entomopathogène Metarhizium anisopliae 4

I.1.1 Généralité 4

I.1.2 Description 5

I.1.3 Morphologie 5

I.1.4 Systématique 5

I.1.5 Lieu de l'utilisation 6

I.1.6 Étapes de l'invasion et facteurs de virulence 6

I.*2Trichoderma* 7

I.2.1 Généralité 7

I.2.2 L'importance du champignon 8

I.2.3 L'utilisation du champignon 8

I.2.4 Systématique 9

I.2.4.1 Taxonomy de Trichoderma 9

I.2.4.2 Taxonomie morphologique 9

I.2.5 Application 9

I.2.6 Profil enzymatique de *Trichoderma.* 10

I.2.7 Utilisation de *Trichoderma* dans la lutte biologique 10

I.2.8 Phase des champignopns entomopathogènes 11

I.2.8.1 Rôles des enzymes dans la virulence 12

I.2.9 champignons entomopathogènes comme agents de lutte biologique contre les insectes ravageurs 12

I.3 *Tenebrio molitor* 12

I.3.1 Introduction 12

I.3.2 Classification systématique et taxonomie 13

I.3.3 Description morphologique 13

I.3.4 Cycle de vie 14
I.3.5 Importance économique de l'insecte 16
I.3.5.1 Les dégâts causés par *Tenebrio molitor* 16
I.4 *Zophobas morio* 16
I.4.1 Introduction 16
I.4.2 Classification, position systématique, distribution et taxonomie 17
I.4.3 Identification, caractéristiques principales et biologie 18
I.4.4 Cycle de vie 20
I.5 Données sur le pin d'Alep (*Pinus halepensis Mill.*) 21
I.5.1 Introduction 21
I.5.2 Systématique du pin d'Alep. 21
I.5.3 Description botanique du pin d'Alep. 22
I.5.4 Aire de répartition du pin d'Alep. 24
I.5.4.1 Répartition géographique 24
I.5.4.1.1 Dans le monde 24
I.5.4.1.2 En Algérie 25
I.5.5 Les exigences écologiques du pin d'Alep. 26
I.5.6 Les exigences édaphiques 26
I.5.8 Étude du potentiel cosmétique des aiguilles de pin d'Alep selon leur provenance 27

CHAPITRE II : matériels et méthodes

II.1 Introduction 31
II.1.1 Matériel de travail 31
II.1.2 Le matériel fongique 31
II.1.2.1 Le champignon *Metarhizium* 31
II.1.2.2 *Trichoderma.* 31
II.1.3 Matériel animal 31
II.1.3.1 *Tenebrio molitor* 31
II.1.3.2 *Zophobas morio* 31
II.1.4 Élevage de *Tenebrio molitor* au laboratoire 32
II.1.5 Élevage de *Zophobas morio* au laboratoire 32
II.1.6 Matériel du laboratoire 33

II.2 Méthodes de travail 33
II.2.1 Principe d'extraction 33
II.2.1.1 Extraction par hydrodistillation ..... 33.
II.2.1.2 Protocole d'extraction 34
II.2.1.3 Résultat 34
II.3 Préparation des doses d'application 35
II.3.1 Huiles essentielles de pin d'Alep. 35
II.3.1.1 Préparation des doses d'huile essentielle de pin d'Alep… 35
II.3.1.2 Traitement des insectes par les huiles essentielles 35
II.3.1.2.1 Traitement de *Tenebrio molitor* 35
II.3.1.2.2 Traitement de *Zophobas morio* 36
II.3.2 Champignon *Metarhizium anisopliae* 37
II.3.2.1 Préparation des doses du champignon 37
II.3.2.2 Comptage des spores et détermination des concentrations 38
II.3.2.3 Traitement par le champignon entomopathogène 38
II.3.2.3.1 Traitement de *Tenebrio molitor* 38
II.3.2.3.2 Comptage de la mortalité 39
II.3.2.3.3 Traitement de *Zophobas morio* 39
II.3.2.3.4 Comptage de la mortalité 39
II.3.2.3.5 Calcul du pourcentage de mortalité journalière 40
II.3.2.3.6 Calcul de la DL50… ..... 40.
II.3.3 Champignon *Trichoderma* 40
II.3.3.1 Préparation des doses de *Trichoderma* 40
II.3.3.2 Comptage des spores et détermination des concentrations 41
II.3.3.3 Traitement *de Tenebrio molitor* 43
II.3.3.4 Traitement de *Zophobas morio* 43
II.3.3.5 Comptage de la mortalité 43

Chapitre III :Résultats

III.1.1. Effet de l'extrait d'huile essentielle (HE) 47
III.1.1.1. Effet de l'extrait d'huile essentielle contre les larves *de Tenebrio molitor* 47
III.1.1.2. Effet de l'extrait d'huile essentielle contre les larves de *Zophobas morio* 48

III.1.1.3. Effet de l'extrait d'huile essentielle contre les adultes *de Teberio molitor*.....50

III.1.2. Étude de l'effet de M sur les larves 51

III.1.2.1. Étude de l'effet de M contre les larves de *Tenebrio molitor*..... 51

III.1.2.2. Étude de l'effet de M contre les larves *de Zophobas morio.*..... 52

III.1.3. Étude de l'effet de *Trichoderma…* 54

III.1.3.1. Étude de l'effet *de Trichoderma contre Tenebrio molitor*.....54

III.1.3.2. Étude de l'effet de *Trichoderma contre Zophobas morio*..... 55

III.1.4. Calcul de la DL50 des huiles essentielles (HE) 56

III.1.4.1. Détermination de la DL50 de l'huile essentielle *chez Tenebrio molitor*..... 56

III.1.4.2. Détermination de la DL50 de l'huile essentielle *chez Zophobas morio…* 56

III.1.4.3. Détermination de la DL50 de l'huile essentielle chez les adultes de *Zophobas morio…* *57*

III.1.5. Discussion..... 58

III.1.6. Conclusion générale……-59

Introduction Générale :

Les insectes représentent l'un des groupes d'organismes les plus répandus dans l'environnement. Bien qu'ils jouent un rôle important dans l'équilibre écologique, certaines espèces deviennent de véritables ravageurs responsables de dégâts considérables sur les produits agricoles et les denrées stockées. La prolifération de ces insectes nuisibles entraîne d'importantes pertes économiques et une dégradation de la qualité des produits stockés. Face à l'utilisation intensive des pesticides chimiques et aux problèmes qu'ils engendrent, notamment la pollution de l'environnement, l'apparition de résistances chez les insectes et leurs effets néfastes sur la santé humaine, la recherche de méthodes alternatives de lutte est devenue indispensable (Zettler & Arthur, 2000).

Au cours des dernières années, les recherches scientifiques se sont orientées vers le développement de méthodes de lutte biologique, considérées comme des alternatives durables et écologiques. Cette stratégie repose sur l'utilisation d'organismes vivants ou de substances naturelles capables de réduire les populations d'insectes nuisibles tout en limitant les impacts négatifs sur l'environnement (Phillips & Throne, 2010).

La présente étude s'inscrit dans ce contexte et vise à évaluer l'efficacité biologique de plusieurs agents naturels, à savoir l'huile essentielle du pin d'Alep (Pinus halepensis), ainsi que les champignons entomopathogène telque le Metarhizium anisopliae et Trichoderma spp, contre deux insectes : Tenebrio molitor et Zophobas morio.

Le pin d'Alep (Pinus halepensis) est une espèce végétale riche en composés bioactifs, notamment les terpènes et les composés phénoliques, connus pour leurs propriétés insecticides et antimicrobiennes. Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles extraites de cette plante possèdent des effets toxiques et répulsifs contre différents insectes ravageurs, ce qui leur confère un intérêt particulier dans le domaine de la lutte biologique ref.

Le champignon entomopathogène Metarhizium anisopliae est reconnu pour sa capacité à infecter et tuer de nombreux insectes nuisibles. Son mécanisme d'action repose principalement sur l'adhésion des spores à la cuticule de l'insecte, suivie de leur germination et de la pénétration à travers l'exosquelette grâce à la production d'enzymes hydrolytiques telles que les protéases, les chitinases et les lipases. Après l'infection, le champignon se développe dans l'hémocoele de l'insecte, provoquant finalement sa mort.

Par ailleurs, le champignon Trichoderma spp est largement étudié pour ses propriétés biologiques importantes. Il est capable de produire différentes substances actives et enzymes qui lui confèrent une activité antagoniste contre plusieurs organismes nuisibles. Ce champignon occupe une place importante dans les études de lutte biologique grâce à son potentiel biologique et écologique.

Notre étude a été réalisées sur les insectes Tenebrio molitor et Zophobas morio, appartenant à l'ordre des Coléoptères et à la famille des Tenebrionidae. Ces deux espèces sont fréquemment utilisées comme modèles biologiques dans les études expérimentales en raison de leur facilité d'élevage en laboratoire, de leur cycle biologique relativement court et de leur sensibilité aux agents biologiques.

Ce travail a pour objectif d'étudier les effets biologiques de l'huile essentielle du pin d'Alep ainsi que des champignons Metarhizium anisopliae et Trichoderma spp sur les deux insectes

étudiés, à travers l'évaluation des taux de mortalité, l'étude des différentes concentrations appliquées et la compréhension des mécanismes d'action impliqués.

Les résultats obtenus pourraient contribuer au développement de nouvelles stratégies de lutte biologique plus efficaces et plus sûres, permettant de réduire l'utilisation des pesticides chimiques et leurs impacts négatifs sur l'environnement et la santé humaine.

Le présent travail est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre porte sur les données bibliographiques concernant les insectes étudiés ainsi que les agents biologiques utilisés. Le deuxième chapitre est consacré au matériel et aux méthodes adoptés dans cette étude. Enfin, le troisième chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Chapitre I :

Synthèse Bibliographique

I .1 Metarhizium anisopliae :

I .1.1 Généralité :

Metarhizium anisopliae est un champignon entomopathogène largement utilisé dans la lutte biologique contre les insectes nuisibles grâce à sa forte pathogénicité, sa production facile sur des substrats simples, sa longue conservation et sa bonne viabilité dans le sol. Plusieurs études ont confirmé son importance (*Guagliumi et al., 1974 ; Latch et Falloon, 1976 ; Müller-Kogler et Stein, 1976 ; Roberts, 1976*).[1]

L'efficacité de ce champignon dépend fortement des conditions environnementales, notamment des températures extrêmes et des rayons ultraviolets UV *(Zimmermann et Butin, 1973 ; Ignoffo et al., 1977*), qui influencent la survie et la persistance des spores dans la nature.[2]

Des recherches antérieures sur la mortalité thermique des conidies de *Metarhizium anisopliae* ont été réalisées par Vouk et Klas (1932), Glaser (1926), Johnpulle (1938) et Walstad et al. (1970). Ces études ont montré que la chaleur agit plus efficacement en présence d'eau ou de vapeur, tandis qu'en milieu naturel l'augmentation de la température s'accompagne souvent d'une dessiccation qui modifie le seuil de mortalité thermique.[3]

Concernant la lumière, plusieurs travaux ont démontré que la lumière du jour et les rayons UV inhibent la croissance mycélienne et la sporulation du champignon. La viabilité des conidies diminue rapidement après exposition à la lumière solaire directe, probablement à cause des UV (Clerk et Madelin, 1965 ; Roberts et Campbell, 1977). Toutefois, les études détaillées sur l'effet des différentes longueurs d'onde lumineuses sur les conidies de *Metarhizium anisopliae* restent limitées.[4]



Figure 1 : Dociostaurus maroccanus infecté par *Metarhizium anisopliae* (CHAOUCH, 2009)

I .1.2 Description :

Les conidies de *Metarhizium anisopliae* ont la forme de sporulation asexuée. *Metarhizium anisopliae* s.l. (Metschnikoff) Sorokin est un complexe de 9 espèces génétiquement distinctes, mais morphologiquement identiques (Bischoff et al., 2009 ; Chandler, 2017) .

I .1.3 Morphologie :

Les espèces du genre *Metarhizium* produisent des spores sexuées uniquement dans des cas exceptionnels. Ces champignons se développent sous leur forme mycélienne et se reproduisent par formation de « conidies » .

I.1.4 Systématique :

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

Leur Classification comme ces caractéristiques sont assez limitées elles ont compliqué la taxonomie (La classification de ce genre a été basée sur des caractères morphologiques des conidies et des cellules,) (Bidochka et Small et al., 2005).

Règne : *Fungi*

Embranchement : *Dikarya*

Sous-embranchement *:* *Ascomycota*

Classe : *Pezizomycotina*

Ordre : *Hypocreales*

Famille : *Clavicipitaceae*

Genre *:* *Metarhizium*

Espèce *:* *Metarhizium anisopliae*

I.1.5 Lieu de l'utilisation :

Le champignon entomopathogène est utilisé au Brésil, *Metarhizium anisopliae* notamment dans le Nord-Est, pour la lutte biologique contre la cicadelle écumeuse de la canne à sucre, *Mahanarva posticata (Homoptera : Cercopidae).* Diverses souches de *M. anisopliae* provenant de différentes régions du pays sont désormais disponibles pour ce type de lutte, et plusieurs de leurs caractéristiques ont également été étudiées.

I.1.6 Étapes de l'invasion et facteurs de virulence :

Le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* infecte les insectes par contact direct avec leur cuticule. Après le dépôt des conidies sur le corps de l'insecte, le champignon passe par plusieurs étapes successives qui lui permettent d'adhérer à la surface de l'hôte, de germer puis de pénétrer à l'intérieur du corps de l'insecte afin de provoquer l'infection.

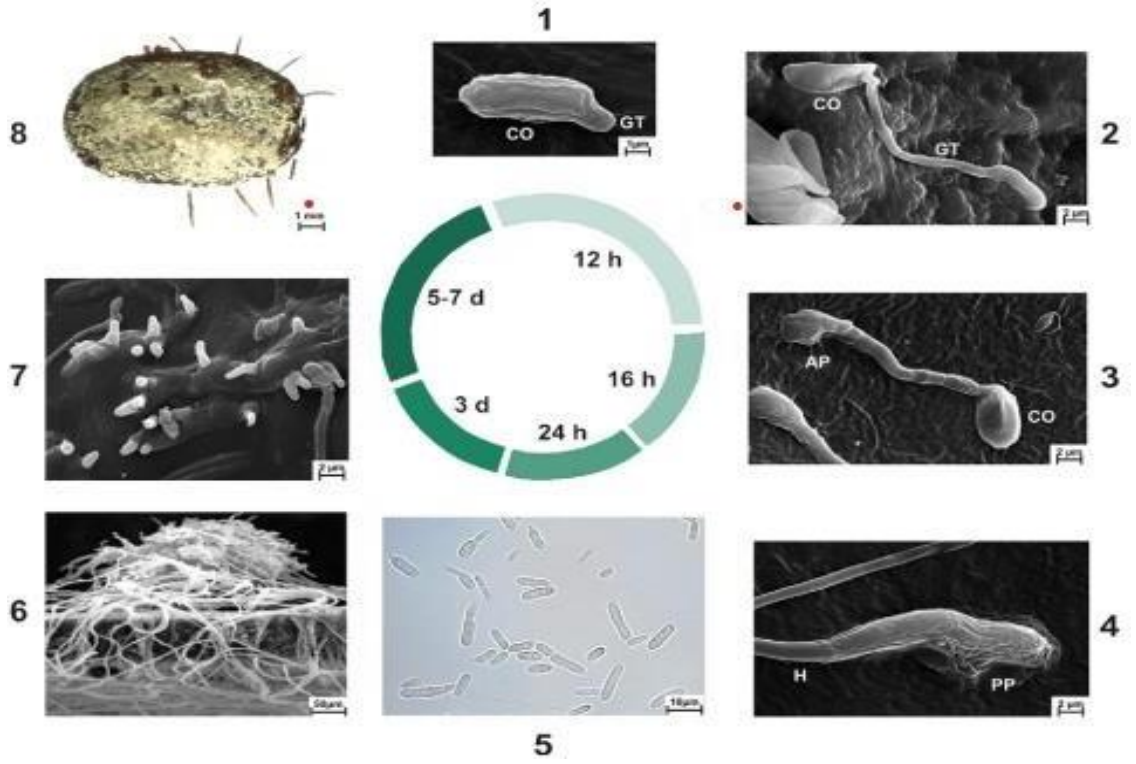


Figure 2 : Étapes de l'infection de l'hôte par Metarhizium anisopliae. Les étapes du processus d'infection sont illustrées en prenant une tique comme hôte. (1) Micrographie électronique à balayage (MEB) de l'adhérence des conidies à la cuticule de l'hôte ; (2) MEB de la germination des conidies ; (3) MEB de la différenciation du tube germinatif en appressoria ; (4) MEB de la pénétration de la cuticule ; (5) microscopie optique de la différenciation des hyphes en blastospores et en corps hyphés ; (6) MEB de la colonisation de l'hôte ; (7) MEB de l'extrusion à la surface du cadavre de l'hôte et (8) image des conidiophores et de la production de conidies sur le cadavre de la tique. CO = conidies ; GT = tube germinatif ; AP = appressorium ; H = hyphes ; h = heures ; j = jours ; MEB = microscopie électronique à balayage

I.2 Trichoderma :

I.2.1 Généralité :

Le genre *Trichoderma* doit une grande partie de ses capacités, parmi ses différentes souches, à ses champignons multifonctionnels présents dans une grande variété d'écosystèmes. On les trouve généralement dans les sols forestiers ou agricoles. Les souches de *Trichoderma* peuvent être identifiées par des caractéristiques morphologiques communes :

une pigmentation conidiale vert vif,

une croissance rapide et une ramification répétitive, Comme illustré dans la

figure 3.

Trichoderma est un genre de champignons de la famille des *Hypocreaceae,* un habitant fréquent de la rhizosphère.

Les difficultés rencontrées lors de l'identification des isolats de *Trichoderma* au niveau de l'espèce sont d'autant plus importantes que les différences morphologiques sont rares et difficiles à observer.

En 1969, Rifai a introduit le concept d'« agrégat d'espèces » et a classé les souches de *Trichoderma* en neuf agrégats sur la base de caractéristiques morphologiques (Rifai, 1969). Malheureusement, certains groupes d'espèces sont constitués de deux ou plusieurs morphologies qui étaient non différenciables. Dans des études ultérieures, Bissett (1991) a examiné les travaux de Rifai et a tenté d'intégrer les formes similaires au sein du concept d'espèce en se basant sur la morphologie, notamment les caractéristiques du système de ramification des conidiophores.

En conséquence, le genre *Trichoderma* a été classé en cinq sections : *Saturnisporum, Pachybasium Longibrahiatum, Trichoderma et Hypocréanum* , Comme illustré dans la figure 4.

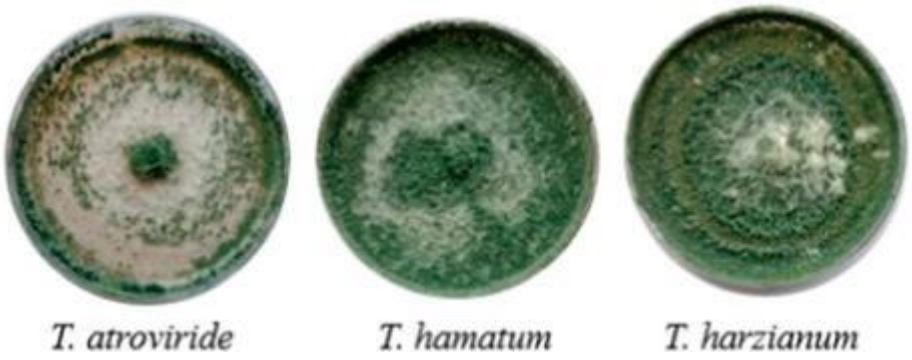


Figure 3 : Trois souches isolées différentes de *Trichoderma spp*.

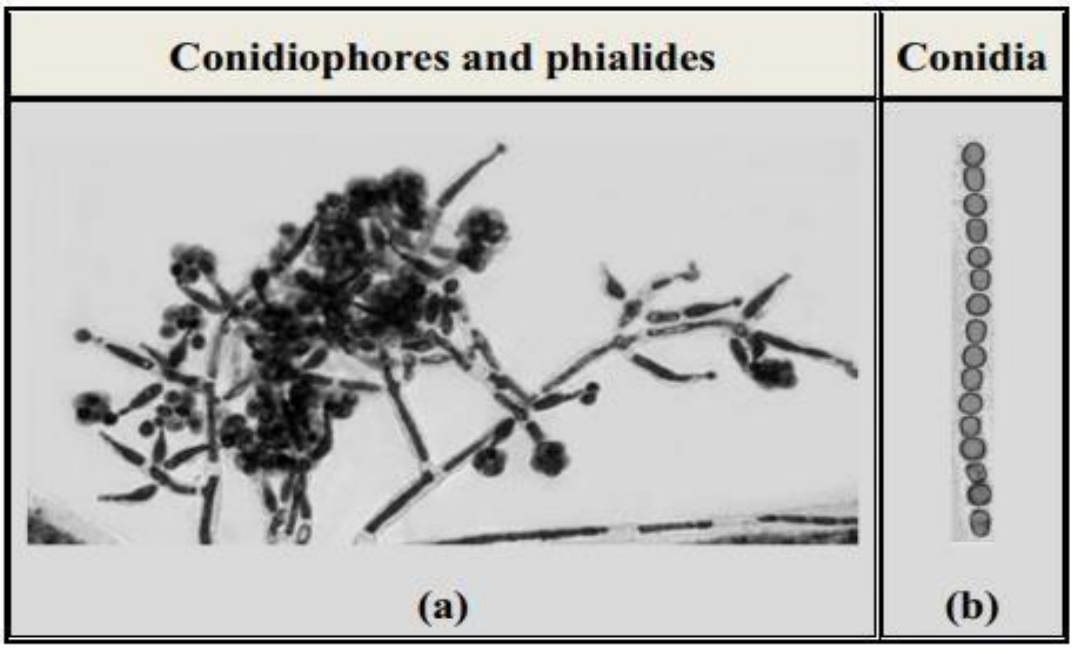


Figure 4 :*Conidiophores, phialides et conidies de souches de Trichoderma ; (a) Conidiophores et phialides de T. rufobrunneum, (b) Conidies vertes de T. rufobrunneum.(Adapté de Zhu et Zhuang (2015).)*

I.2.2 .L'importance de champignon :

La décomposition correspond à un processus biologique par lequel les matières organiques se dégradent et se transforment en éléments plus fins. Ces éléments peuvent ensuite être assimilés par d'autres organismes.

Les décomposeurs naturels, notamment certains champignons, jouent un rôle clé dans cette transformation. En recyclant la matière organique morte, ils libèrent et renvoient au sol des nutriments qui seront ensuite disponibles pour les plantes. Ces nutriments permettent aux plantes d'assurer leur croissance et d'exécuter la photosynthèse.

I.2.3 L'utilisation de champignon :

Les *Trichoderma spp.* constituent des décomposeurs naturels très efficaces : ils contribuent à accélérer la dégradation des matières organiques.

Utilisation de *Trichoderma spp.* en bioremédiationL'emploi excessif de pesticides et d'engrais synthétiques en agriculture a entraîné une pollution, touchant principalement les sols et les eaux.

Selon Ahlawat et al. (2010), après leur libération, les substances chimiques se dégradent à des vitesses variables en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques. Toutefois, cette dégradation n'est pas immédiate : certains composés peuvent être absorbés par les cultures, s'infiltrer dans la zone racinaire, atteindre les cours d'eau, se fixer aux particules du sol ou encore se volatiliser dans l'atmosphère. L'élimination de ces polluants peut être réalisée à l'aide de méthodes biologiques ou chimiques (Zin et al., 2019).

Dans ce contexte, la bioremédiation — aussi appelée lutte biologique — est définie par Atlas et Pramer (1990) comme « l'utilisation d'agents biologiques pour dépolluer les sols et les eaux contaminés par des substances dangereuses pour la santé humaine et/ou l'environnement ».

I.2.4 SYSTÉMATIQUE :

I.2.4.1 Taxonomy de *Trichoderma :*

Trichoderma correspond à un ensemble complexe de champignons.

Du fait de ses nombreuses applications commerciales, ainsi que de son importance agricole et médicale, il est apparu nécessaire de disposer d'un système de classification « naturel », capable d'être aussi prédictif.

Pour répondre à cet enjeu, plusieurs méthodes existent, en particulier des approches moléculaires telles que :

- le caryotypage électrophorétique .
- l'analyse des isoenzymes .
- le séquençage de l'espaceur transcrit interne *(ITS)* de *l'ADN* ribosomal .
- le *RAPD* (amplification aléatoire *d'ADN* polymorphe) .
- le *RFLP* (polymorphisme de longueur des fragments de restriction).

D'autres approches sont également utilisées, notamment biochimiques, physiologiques et morphologiques. Chaque méthode possède ses propres limites, mais aucune ne doit être considérée séparément : la classification repose donc sur l'intégration de plusieurs types de données.

Il est aussi important de noter que les caractères morphologiques ont contribué à établir la taxonomie actuelle, qui est aujourd'hui révisée et validée à l'aide de techniques moléculaires et chimiques, menant ainsi à une taxonomie polyphasique.

I.2.4.2 Taxonomie morphologique :

Les espèces de *Trichoderma* — un genre introduit par Persoon en 1794 et rapporté par Rifai — ont été initialement définies à partir de leurs caractéristiques morphologiques.

Ces caractères ont été décrits par Rifai, qui a révisé le genre *Trichoderma* et proposé neuf groupes d'espèces. Par la suite, Bissett a élevé certains de ces groupes au niveau de sections.

Cependant, les deux mycologues ont insisté sur le caractère préliminaire des résultats obtenus à cette étape.

I.2.5 Applications :

Le genre *Trichoderma* est largement répandu dans le monde entier et se rencontre dans

presque tous les sols et autres milieux naturels,en particulier ceux contenant de la matière organique. On trouve également *Trichoderma* sur les surfaces racinaires de diverses plantes, sur l'écorce en décomposition, surtout lorsqu'elle est endommagée par d'autres champignons.

Comme *Trichoderma* est un champignon cosmopolite, il est capable de se développer dans une grande variété de conditions environnementales et de substrats différents.

Cette caractéristique confère à ce genre la possibilité d'être utilisé dans de nombreuses situations d'intérêt biotechnologique.

I.2.6 Profil enzymatique de *Trichoderma :*

Un large éventail de micro-organismes peuvent attaquer la cellulose, mais *Trichoderma* possède probablement le système cellulolytique le plus étudié. *Trichoderma* produit de grandes quantités de cellulases et d'autres enzymes hydrolytiques. T. reesei produit de multiples enzymes cellulolytiques et

hémicellulolytiques. Les profils d'expression de 10 gènes d'hémicellulases de

T. reesei sur diverses sources de carbone ont été récemment étudiés par Margolles-Clark et al.32 *Trichoderma* peut être utilisé pour le recyclage des déchets cellulosiques tout en produisant des sous-produits utiles.

I.2.7 Utilisation de *Trichoderma* dans la lutte biologique :

De nombreuses avancées concernant la lutte biologique contre les pathogènes végétaux impliquant *Trichoderma* et *Gliocladium* ont déjà été rapportées.

Les espèces de *Trichoderma* ont notamment été intégrées dans des préparations commerciales destinées à lutter biologiquement contre les maladies fongiques des plantes, contribuant ainsi à réduire le recours à des produits chimiques polluants.

Par exemple, *T. harzianum* constitue l'agent actif de *TRICHODEX,* utilisé contre la pourriture post-récolte de la pomme. Il est également combiné à *T. polysporum* dans le produit BINABT, qui sert à contrôler la pourriture des plaies et la pourriture du bois.

De plus, la souche AG2 de *T. harzianum*, préparée par fusion de protoplastes, est employée contre un large éventail de maladies telluriques des plantes.

Concernant *Gliocladium, GlioGard* a pour agent actif T. virens et a été utilisé pour prévenir la fonte des semis, causée notamment par *Pythium et Rhizoctonia.*

Enfin, des espèces de *Trichoderma* non encore identifiées sont présentes dans deux produits utilisés en Nouvelle-Zélande pour lutter contre le dépérissement de la vigne ainsi que des arbres fruitiers à noyau

I.2.8. Phase des champignons entomopathogènes :

- **La phase d'adhésion :** Cette étape représente le premier contact entre le champignon et l'insecte. Les conidies se déposent sur la cuticule de l'hôte puis s'attachent fortement à sa surface. Cette adhésion est assurée grâce à des interactions hydrophobes entre les protéines présentes à la surface des spores, notamment les hydrophobines (Fang et al., 2007), et la couche lipidique de la cuticule de l'insecte. La dégradation des lipides a été mise en relation avec la croissance pré-pénétration de *Metarhizium anisopliae* sur la cuticule de l'hôte (Jarrold et al., 2007). Le champignon

produit également une protéine adhésive appelée MAD1 qui renforce la fixation des conidies et facilite le début de l'infection (Wang et St Leger, 2007).

- **La phase de germination :** Lorsque les conditions de température et d'humidité deviennent favorables, les conidies commencent à germer. Elles produisent alors un tube germinatif qui se développe en hyphes fongiques à la surface de la cuticule. Durant cette phase, le champignon utilise les substances nutritives présentes sur la surface de l'insecte afin d'assurer sa croissance et préparer la pénétration dans l'hôte. Les lipases présentes à la surface des conidies participent également à la dégradation de la couche lipidique de l'hôte et à la production des premières molécules nutritives nécessaires à la germination (Silva et al., 2005 ; Silva et al., 2009).

- **La phase de pénétration :** Après la germination, les hyphes tentent de traverser la cuticule de l'insecte. Pour cela, le champignon sécrète plusieurs enzymes hydrolytiques capables de dégrader les constituants principaux de la cuticule :

➢ **Les protéases** dégradent les protéines.
➢ **Les chitinases** hydrolysent la chitine.
➢ **Les lipases** dégradent les lipides.

Cette dégradation enzymatique affaiblit la cuticule et permet aux hyphes de pénétrer progressivement à l'intérieur du corps de l'insecte (Frazzon et al., 2000 ; Wang et al., 2002 ; Barreto et al., 2004 ; Da Silva et al., 2005 ; Arruda et al., 2005 ; Lubeck et al., 2008 ; Boldo et al., 2009).

I.2.8.1 Rôle des enzymes dans la virulence :

Les enzymes jouent un rôle fondamental dans le pouvoir pathogène de *Metarhizium anisopliae.* Parmi les enzymes les plus importantes figurent les protéases Pr1, notamment la protéase Pr1A, considérée comme un facteur majeur de virulence. Il a été rapporté qu'au moins 14 isoformes de protéases sont détectées durant la croissance chez les insectes (St. Leger et al., 1987). Le génome de *Metarhizium anisopliae* contient 11 gènes de subtilisine Pr1 (Bagga et al., 2004). Une forte production de la protéase Pr1A augmente la capacité du champignon à infecter et tuer les insectes (St. Leger et al., 1996b

I.2.9 Utilisation des champignons entomopathogènes comme agents de lutte biologique contre les insectes ravageurs :

De nombreux micro-organismes présents dans le sol et en interaction avec les plantes présentent un potentiel entomopathogène. Ils peuvent ainsi être utilisés comme agents de lutte biologique, appelés biopesticides, pour contrôler différents insectes ravageurs en agriculture (Sindhu et al., 2017).

Les bactéries peuvent agir de plusieurs façons : par la production de toxines (par exemple Bacillus thuringiensis), par la synthèse de métabolites secondaires insecticides (comme *Photorhabdus luminescens*), ou encore par parasitisme direct (tels que Bacillus cereus ou *Pseudomonas entomophila)* (*Sindhu et al., 2017).* D'autres organismes, tels que différents virus *(Sindhu et al., 2017 ; Singh et al., 2019), cyanobactéries (Poveda, 2020a),* protozoaires

(Sindhu *et al., 2017),* nématodes *(Sindhu et al., 2017 ; Singh et al., 2019) et champignons (Sindhu et al., 2017 ; Singh et al., 2019)* dotés d'une forte capacité entomopathogène, ont également été rapportés comme biopesticides dans les pratiques agricoles.

***Trichoderma :* un champignon mycoparasite particulièrement utile en agriculture**

Le genre fongique *Trichoderma* regroupe environ 100 espèces décrites, largement distribuées dans le monde. Elles se distinguent par une croissance rapide, une capacité à coloniser divers substrats et leur tolérance à différents contaminants ainsi qu'à diverses conditions environnementales *(Mishra et al., 2016 ; Hu et al., 2020).*

Son principal intérêt économique actuel réside dans son utilisation comme agent de biocontrôle en agriculture et comme producteur d'enzymes pour plusieurs secteurs industriels (Jangir et al., 2017). Par ailleurs, ces dernières années, son rôle s'est élargi à d'autres domaines : il est aussi étudié comme promoteur de la croissance des plantes et comme agent améliorant la tolérance aux stress abiotiques (Poveda et al., 2019a ; Poveda, 2020b), comme biofertilisant (Zhang et al., 2018), comme source de gènes exploités en biotechnologie (Poveda et al., 2019b) ou encore comme mycorémédiateur (Solanki et al., 2019).

I.3 Tenbrio molitor :

I .3.1 Introduction :

Le ténébrion meunier, Tenebrio molitor (Coleoptera : Tenebrionidae), est un ravageur mondialement répandu. Il se développe principalement dans les céréales stockées. Les adultes mâles et femelles de *T. molitor* produisent des phéromones sexuelles, capables d'influencer et de réguler les comportements de l'autre sexe…….

Le ténébrion meunier (T. molitor) est un ravageur des farines, des céréales et des denrées alimentaires, présent dans le monde entier. Cet insecte possède quatre stades de développement : œuf, larve, nymphe et adulte. Les femelles pondent environ 500 œufs ; ceux-ci éclosent après 3 à 9 jours et donnent naissance à des larves à 25 °C]. Le stade larvaire dure environ 1 à 8 mois et la larve est de couleur jaune-brun clair [30,31]. Le stade nymphal s'étend sur 5 à 28 jours à 18 °C], tandis que le stade adulte dure environ 2 à 3 mois [30]. La larve atteint généralement 2,0 à 3,5 cm (voire plus) [30,33], alors que l'adulte mesure environ 1 cm]. Ce dernier fait partie des coléoptères relativement grands [32].

Le ver de farine jaune, *Tenebrio molitor* (L.), fait l'objet d'un élevage en masse et est commercialisé aux États-Unis pour de nombreuses utilisations. En captivité, ses larves constituent l'un des aliments les plus courants pour les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les amphibiens, notamment parce qu'elles sont faciles à élever, récolter et distribuer (*Martin et al., 1976 ; Barker et al., 1998 ; Finke, 2002).*

Par ailleurs, *T. molitor* a été envisagé comme source de protéines pour l'alimentation du poisson-chat (Ng et al., 2001), pour la production de poulets *(Ramos-Elorduy et al., 2003 ; Klasing et al., 2000)* et même comme aliment destiné à la consommation humaine sous différentes formes (*Ramos-Elorduy, 1997 ; DeFoliart, 1999 ; Aguilar-Miranda et al., 2002*).

I .3.2 Classification systématique et Taxonomie :

Le Tenebrio molitor, occupe une place bien établie dans la classification systématique des insectes.

Le *Tenebrio molitor* s'inscrit donc dans la taxonomie des Insecta comme suit [4] :

Règne : *Animalia.*

Phylum : *Arthropoda.*

Classe : *Insecta.*

Ordre : *Coleoptera.*

Famille : *Tenebrionidae.*

Sous-famille : *Tenebrioninae,*

Genre : *Tenebrio.*

Espèce : *Tenebrio molitor (Linnaeus, 1758).*

I.3.3 Description morphologique :

Chez *Tenebrio molitor*, l'adulte se distingue par sa couleur brun-noir (Figure 6), qui lui vaut le nom de "Tenebrio", tandis que le juvénile arbore une teinte brun-orangé. La larve, surnommée "*ver de farine*", présente une forme vermiforme et une couleur marron-jaune. Les adultes mesurent en moyenne 1,5 cm, avec des tailles variant de 1,2 à 1,8 cm. Au terme de son développement, la larve peut dépasser 2,5 cm de longueur, bien que son corps reste plus fin que celui de l'adulte.



Ténébrion meunier venant de muer (blanc), près de son ancienne cuticule froissée ou exuvie et une autre larve de couleur sombre, avant la mue.



Ténébrion meunier au stade de nymphe.



Ténébrion meunier - spécimen naturalisé – Vue dorsale.

Figure 5 : Stades de développement de Tenebrio molitor.

Pendant la nymphose, la larve subit une transformation et forme une nymphe.

Sur le plan morphologique, l'adulte se distingue par un exosquelette brun-noir d'une taille comprise entre (1,2 et 1,8 cm) avec 1,5 cm en (moyenne), le juvénile est brun-orangé. Tandis que la larve de couleur marron-jaune, avec des nuances variant du brun-orange au marron-jaune, plus emblématique et souvent désignée sous le terme de ver de farine, présente une forme allongée et vermiforme pouvant atteindre environ 30 mm de longueur. À la fin de son développement, la larve peut être plus longue (jusqu'à dépasser 2,5 cm) que l'adulte, mais moins large. Elle change de forme au cours de la nymphose, en formant une nymphe (Figure7).

La morphologie de cette espèce est caractérisée par une adaptation remarquable à des milieux secs, grâce notamment à un exosquelette périodiquement renouvelé par le biais de mues successives, phénomène crucial pour sa croissance et sa survie dans les environnements de stockage de céréales et de farine. Ces caractéristiques, à la fois taxonomiques et morphologiques, illustrent l'aptitude de *T. molitor* à s'intégrer dans divers contextes écologiques et économiques, faisant de cette espèce un modèle incontournable en entomoculture et dans la valorisation des ressources organiques.



Figure 6 : Morphologie de Tenebrio molitor . www.alamy.com

I.3.4 Cycle de vie :

Cet insecte passe par plusieurs étapes de développement avant de devenir un coléoptère adulte. Le cycle complet dure environ de 3 à 6 mois selon la température, l'humidité et l'alimentation.

a) Œufs (Eggs) :

Le cycle commence lorsque la femelle pond de petits œufs dans le son, les céréales ou le substrat d'élevage.

Les œufs sont très petits, blanchâtres et difficiles à observer à l'œil nu.

b) Jeunes larves (Mini Worms) :

Après l'éclosion apparaissent de petites larves fines et claires.

c) Larve après la mue (Molted Worm) :

Lorsque la larve grandit, son enveloppe externe devient trop étroite. Elle réalise alors une « mue » .

d) Grandes larves (Large Worms) :

À ce stade, la larve devient plus grande, plus épaisse et très active.

e) Pupae (Nymphe) :

La larve cesse presque totalement de se nourrir et se transforme en nymphe.

f) Jeune coléoptère (Young Beetle) :

Après la métamorphose, un jeune coléoptère apparaît.

g) Coléoptère adulte (Beetle) :

Le coléoptère atteint son stade final de développement.

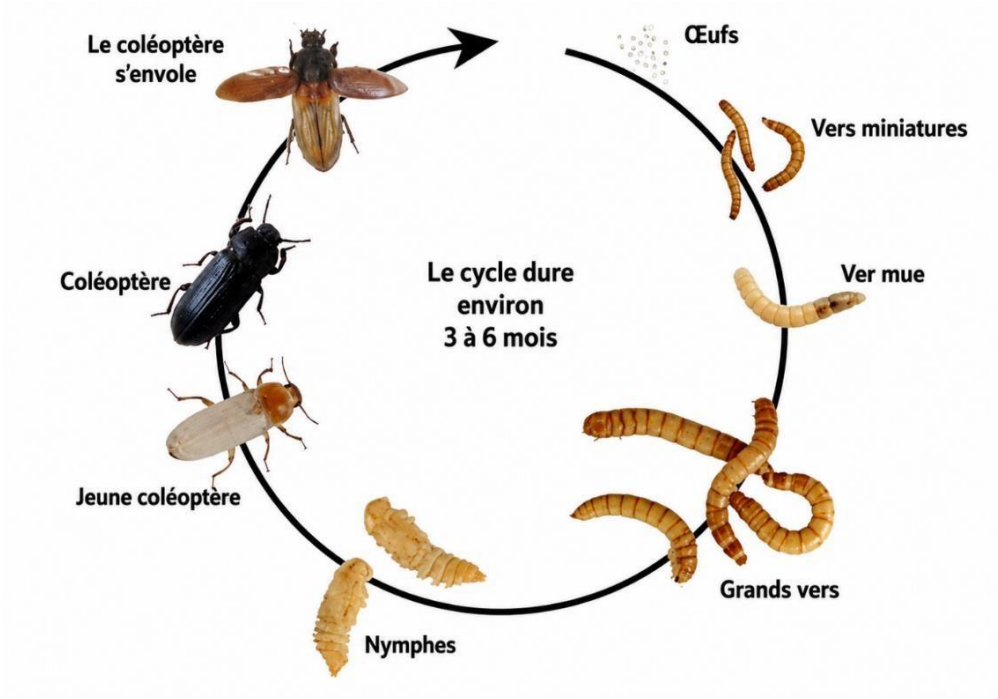


Figure 7 : cycle de vie du ver de farine (site web)

I.3.4 Importance économique de l'insecte :

I.3.4.1 Les dégats causes par teneberio molitor :

Ce sont d'abord les insectes nuisibles qui se manifestent par un affaiblissement général des plantes. Les larves provoquent notamment des racines rongées, un collet percé ainsi que un jaunissement de la feuille centrale. Ces atteintes perturbent le développement normal de la plante et entraînent une diminution de sa résistance.

Par ailleurs, ils sont également responsables de pertes économiques importantes lors du stockage des céréales. Ils occasionnent la majorité des dommages observés dans les réserves de denrées stockées et peuvent ainsi endommager les grains stockés (*Karahakane, 2015*). Les dégâts comprennent une perte de poids, une baisse de la qualité des grains, pouvant les rendre impropres à la consommation, et parfois une diminution du pouvoir germinatif.

Enfin, l'activité métabolique des insectes crée un environnement propice au développement de micro-organismes susceptibles de produire des toxines, notamment certains champignons aflatoxinogènes du genre Aspergillus (Waingo et al., 2013).

I .4 Zophobas morio :

I. 4 .1. Introduction :

Zophobas morio est un insecte remarquable appartenant à la famille des *Tenebrionidae*. Il est capable de creuser aussi bien dans la terre que dans le bois grâce à ses mandibules puissantes.

Ce coléoptère se distingue par de nombreux atouts morphologiques qui lui confèrent une excellente capacité de survie. Son corps est robuste et recouvert d'une carapace chitineuse sombre et luisante. Il possède également des antennes segmentées ainsi que des pattes solides, adaptées au fouissage.

Quant à ses larves, appelées plus couramment « superworms » (ou « vers de farine géants »), elles se caractérisent par leur grande taille et leur aptitude à se nourrir de différents substrats organiques (morts ou vivants). Cette alimentation contribue au processus de décomposition dans leur milieu naturel.

I.4.2 Classification et systématique :

Le Zophobas morio (souvent assimilé ou identifié à Zophobas atratus) est un insecte coléoptère de la famille des Tenebrionidae. Populairement connu sous le nom de super-ver ou ver morio, il est très utilisé en terrariophilie et en recherche biologique. Sa classification scientifique est la suivante :

Règne : *Animalia*

Embranchement : *Arthropoda*

Classe : *Insecta*

Ordre : *Coleoptera*

Sous-ordre *: Polyphaga*

Famille : *Tenebrionidae*

Genre : *Zophobas*

Espèce *: Zophobas morio (ou Zophobas atratus)*

La taxonomie et la classification de Zophobas morio (anciennement Tenebrio morio *Fabricius, 1778 ; Helops morio Fabricius, 1777*) ont suscité des controverses et des confusions (*Tschinkel, 1984 ; Ferrer, 2006, 2011*). Actuellement, *Z. morio* est considéré comme conspécifique avec Zophobas atratus (anciennement *Tenebrio atratus* Fabricius, 1775 ; *Zophobas rugipes Kirsch*, 1866). Ainsi, ces deux espèces seront traitées ensemble dans la présente étude.

Zophobas morio appartient à la grande famille des Ténébrionidés, regroupant de nombreuses espèces d'insectes ravageurs des denrées stockées, telles que T. molitor et Alphitobius diaperinus, mais aussi des espèces du genre Tribolium (par ex. Tribolium confusum Jacquelin du Val, et Tribolium castaneum Herbst). Bien qu'il soit classé parmi les ravageurs potentiels des denrées stockées, Z. morio n'a été associé qu'à un seul produit stocké, la farine de blé (Hagstrum et Subramanyam, 2009). Cela suggère que l'espèce aurait une importance limitée en tant que ravageur secondaire des denrées entreposées. Dans la nature, elle est notamment observée en association avec le guano de chauves-souris frugivores ainsi qu'avec la litière organique (*Tschinkel et Willson, 1971*). Son aire d'origine se situe dans les régions tropicales d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (*Marcuzzi, 1984 ; Tschinkel, 1984 ; Hagstrum et Subramanyam, 2009*). Toutefois, elle a aussi été introduite récemment dans d'autres régions d'Europe et d'Asie (*Yuan et al., 2012 ; Fursov et Cherney, 2018*).

I.4. 3 Identification, caractéristiques principales et biologie :

Œufs :

Les œufs de *Z. morio* sont ovales, à bords arrondis, de couleur blanche, et mesurent environ 1,7 mm de long pour 0,7 mm de large (Fig. 2A ; Fursov et Cherney, 2018). Une femelle peut pondre un très grand nombre d'œufs au cours de sa vie, pouvant atteindre jusqu'à 2 200. La quantité d'œufs produite est d'autant plus faible que l'âge maternel augmente, et augmente avec la densité des adultes (Tschinkel, 1993).

Larves :

Les larves sont jaunes, avec des extrémités antérieure et postérieure brun foncé (Fig. 2B *; Fursov et Cherney, 2018*). Elles possèdent un exosquelette cylindrique fortement sclérifié, qui se rétrécit progressivement de manière conique entre la base du septième et le neuvième segment abdominal. Leur longueur peut atteindre 55 mm (*Friederich et Volland, 2004).*

L'éclosion survient environ 8 jours à 25 °C (Kim et al., 2015). Le nombre ainsi que la durée des stades larvaires dépendent de la densité : les larves se développent différemment selon qu'elles sont maintenues isolées ou en groupe. Par exemple, l'isolement de larves nouvellement écloses prolonge nettement leur temps de développement par rapport aux larves des premiers stades élevées en groupe (Quennedey et al., 1995).

Si les larves sont maintenues isolées, elles se nymphosent après 11 à 18 stades larvaires, avec une nymphose la plus fréquente après 16 ou 17 mues (Quennedey et al., 1995 ; Kim et al., 2015).

L'une des particularités les plus marquantes de cette espèce est que les larves ne parviennent pas à se nymphoser en conditions de forte densité, même si les mues se poursuivent jusqu'à la mort (Tschinkel et Willson, 1971 ; Quennedey et al., 1995). Tschinkel et Willson (1971) ont notamment montré que le taux de nymphose diminue lorsque la densité larvaire augmente. Ce phénomène ne semble pas être causé par des phéromones, ni déclenché par des stimuli visuels ou auditifs, mais plutôt par une stimulation mécanique liée aux contacts entre larves (Tschinkel et Willson, 1971).

D'un point de vue appliqué, l'obligation de nymphoser en conditions isolées peut constituer une contrainte importante pour l'industrialisation de l'élevage de Z. morio et donc réduire son efficacité. L'inhibition de la nymphose due à la surpopulation a également été rapportée chez d'autres espèces de ténébrions, notamment Tribolium freemani Hinton (Coleoptera : Tenebrionidae) (Nakakita, 1982 ; Kotaki et al., 1993). Elle a été proposée comme mécanisme de défense contre le cannibalisme souvent observé entre larves et nymphes (Tschinkel et Willson, 1971 ; Ichikawa et Kurauchi, 2009).

Il a été suggéré que la variabilité du développement larvaire pourrait impliquer différentes hormones, telles que les ecdystéroïdes et les hormones juvéniles (Quennedey et al., 1995 ; Aribi et al., 1997).

Environ six jours après isolement à 25 °C, les larves s'immobilisent au stade de prénymphe et adoptent une posture en forme de C, marquant le début de la métamorphose. Les prénymphes

ne marchent pas, mais répondent aux stimuli tactiles par des mouvements du corps. Il faut ensuite environ sept jours pour qu'elles se transforment en nymphes (Quennedey et al., 1995).

Nymphe :

Les nymphes (Fig. 2C) sont généralement immobiles. Toutefois, lorsqu'elles sont stimulées tactilement, elles peuvent effectuer des rotations des segments abdominaux (Ichikawa et Kurauchi, 2009 ; Ichikawa et al., 2012b) ou présenter d'autres réponses physiques (Ichikawa et al., 2012a ; Ichikawa et Sakamoto, 2013). Ces réactions constituent un mécanisme de défense efficace contre les prédateurs et le cannibalisme larvaire.

Elles sont déclenchées par la stimulation de différents types de sensilles mécanoréceptrices situées à la surface du corps de la nymphe (Kurauchi et al., 2011).

La durée du stade nymphal est de 13 à 15 jours à 25 °C, et dépend notamment du poids de la nymphe (les nymphes de petite taille donnent des adultes plus rapidement) ainsi que de la température (l'émergence est plus rapide à 29 °C) (Quennedey et al., 1995).

Comme chez d'autres ténébrionidés, par exemple T. molitor (Bhattacharya et al., 1970) et A. diaperinus (Esquivel et al., 2012), il est possible de sexer facilement les individus à ce stade en observant deux pygopodes bien visibles chez les pupes femelles, situés au niveau du neuvième segment abdominal, près de l'urogomphe. Ces structures sont absentes chez les mâles (Fursov et Cherney, 2018).

Adultes :

Les adultes sont de grande taille (longueur du corps 38 à 57 mm), avec un corps allongé et des antennes filiformes (Fig. 2D). La surface des élytres présente neuf rangées de soies. Les adultes peuvent vivre jusqu'à 6 mois (Fursov et Cherney, 2018).

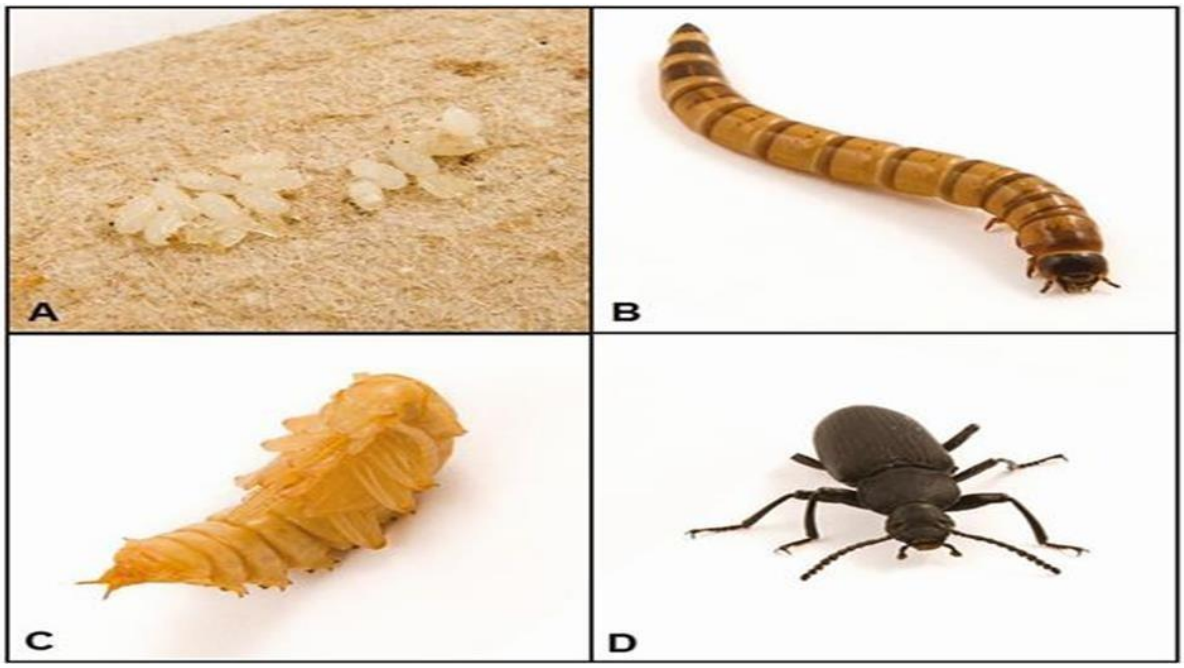


Figure 8: Les stades de développement du superver, Zophobas morio, de l'œuf à l'adulte : (A) œufs, (B) larve au stade avancé, (C) nymphe et (D) adulte.

I.4.4 Cycle de vie :



Figure 9 : Cycle de vie du Zophobas morio « superworms »

Œufs (Eggs) :

La femelle pond de petits œufs blancs.

Larve / Ver (Larva – Superworm) :

C'est le stade que l'on connaît comme le grand ver jaune/brun.

La larve grandit plusieurs fois et change de peau.

Pupe (Pupa) :

Elle cesse de se nourrir et reste immobile jusqu'à sa transformation.

Coléoptère / Scarabée (Beetle) :

Un scarabée noir apparaît, il s'accouple puis la femelle pond de nouveaux œufs, et le cycle recommence.

I.5 Données sur le pin d'Alep (Pinus halepensis, mill) :

I .5.1 Introduction :

Le pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.), appelé aussi *pin blanc*, est caractéristique du bassin méditerranéen où il couvre 3.5 millions d'hectares. En France, l'Inventaire Forestier National (IFN) lui attribue en 1992 une surface de 202 000 ha dans la région Provence - Alpes - Côte d'Azur (PACA) et une surface de 34 000 ha en Languedoc-Roussillon. Quasiment absent du Roussillon, il remonte par contre dans la vallée du Rhône jusqu'au niveau de Montélimar où on le rencontre encore assez fréquemment dans les partie basses du sud de la Drôme et de l'Ardèche. Il remonte de la même manière dans la vallée de la Durance jusque à Sisteron. Sa surface totale en France, tenant compte de l'accroissement observé depuis 10 ans, avoisine 250 000 ha. Le pin d'Alep est une espèce pionnière en expansion sur le pourtour méditerranéen français, en raison de la déprise rurale qui affecte ces régions. Sa surface a été multipliée par 6 en moins d'un siècle. Le pin d'Alep occupe actuellement 1.6 % de la surface forestière française, ce qui le place au 6ème rang des conifères les plus représentés en France, et au 2ème rang dans les régions méridionales méditerranéennes derrière le pin sylvestre. Il est l'espèce dominante de la basse Provence. Une première étude circonscrite à la Provence calcaire ouest (Brochiéro 1997) a permis de construire un modèle provisoire de croissance du pin d'Alep et une clé autécologique en fonction des facteurs descriptifs du milieu. Un test de cette clé autécologique dans les régions avoisinantes a montré qu'une extrapolation n'était pas toujours possible directement, les différences entre valeurs prédites et valeurs observées dépassant fréquemment une classe de fertilité dans certaines régions naturelles. Compte tenu de l'intérêt que suscite cette essence chez les forestiers méditerranéens publics ou privés, une campagne complémentaire de relevés, financée par la Direction de l'Espace Rural et de la Forêt du Ministère de l'Agriculture, a donc été réalisée sur toute la zone méditerranéenne française occupée par le pin d'Alep afin de compléter et d'étendre la clé autécologique.

I .5.2 Systématique du pin d'Alep :

Selon (Boudy, 1952) *le Pin d'Alep* " *Pinus halepensis Mill* " est l'essence caractéristique de l'étage bioclimatique méditerranéen semi- aride, il appartient à la famille des pinacées (Abiétacées), genre *Pinus*, sous genre *Pinus (Eupinus*), section (*Halepensoïdes*), et sous-groupe (*halepensis*).

Sa classification est la suivante :

- **Règne :** *Plantae*
- **Sous-règne :** *Tracheobionta*
- **Embranchement :** *Spermaphytes*
- **Sous-embranchement :** *Gymnospermes*
- **Classe :** *Pinopsida*
- **Ordre :** *Coniférales*
- **Famille :** *Pinaceae*
- **Sous-famille :** *Pinoideae*
- **Genre :** *Pinus*
- **Espèce :** *halepensis Miller, 1768 subsp. Halepensis*

Noms communs:

- **Français:** Pin blanc, Pin d'Alep, Pin de Jérusalem .
- **Arabe:** Sanawbar el halabi .
- **Espagnol:** Pi blanc, Pi bord, Pincarrasco, Pinoblanquillo .
- **Italien :** Pino di Aleppo .
- **Berbère:** Tayada.

I .5.3 Description botanique du pin d'Alep :

Le pin d'Alep est une espèce forestière caractéristique et significative du Midi méditerranéen. Il peut atteindre une vingtaine de mètres de hauteur, avec un tronc souvent penché et tortueux ; une cime irrégulière et peu dense

Les aiguilles se trouvent réparties en deux sur le rameau. Elles sont légères, flexibles, d'un vert pâle et mesurent entre 6 et 10 cm de long (Kadik, 1983).

Le fruit : est un cône, qui est ovoïde et mesure de 6 à 12 cm de longueur. La dispersion des graines se réalise dès le début de la troisième année. Les cônes secs demeurent ensuite sur l'arbre pendant plusieurs années (Kadik ,1983).

-L'écorce de l'arbre adulte est épaisse, crevassée, d'un rouge brun assez foncé (Boudy, 1952).

-Fleurs : les chatons mâles sont roussâtre jaune teintes de rouge ; les chatons femelles pédonculés sont rose violacé.

-Fructification : elle s'observe dès l'âge (de 10 - 12ans), mais les graines sont incapables de germer ; et ne sont suffisamment abondantes qu'à partir de l'âge de 18 à 20 ans (Dahmani, 2000).

-Bourgeons : ils sont ovoïdes, aigus à écailles libres frangées de blanc (Debazac, 1991), et souvent réfléchis au sommet. Le système racinaire de l'arbre, ainsi que sa nature sont dépendant de la nature du sol et de sa fertilité ; il est pivotant dans les sols profonds, superficiels sur les sols squelettiques.

Le bois du *pin d'Alep* est brun rougeâtre clair au niveau du bois de cœur est, l'aubier est blanc jaunâtre. C'est un bois léger et se dessèche rapidement. Sa densité varie de 0.352 à 0.866 (Nahal ,1962). Les canaux résinifères sont gros, bien apparents assez espacés et sécrétant une résine abondante. La longévité du *pin d'Alep* est estimée à 150 ans avec une moyenne de 100 à 120 ans (Kadik, 1983) ; (*Meddour, 1983*), cite des chiffres nettement ne dépassant pas les 150 ans (130 ans maximum).



Figure 10: Les aiguilles et les cônes de pin d'Alep (A : cône femelle, B : cône mâle) (Kadik ,1983).



Figure 11 : l'écorce du pin d'Alep (Boudy, 1952)

I.5.4 Aire de répartition du pin d'Alep :

I .5.4.1 Répartition géographique :

I .5.4.1.1 Dans le monde :

Le *pin d'Alep* est certainement l'espèce la plus répandue sur le pourtour méditerranéen, où son aire de répartition a été précisée par NAHAL [74], QUEZEL [91] et KADIK [80]. Ses forêts occupent au total plus de 3,5 millions d'hectares ([88], [73] et [91]). Cette espèce est surtout cantonnée dans les pays du Maghreb et en 44 Espagne où elle se trouve son optimum de croissance et de développement ([92]; [84], [71]). En Afrique du Nord, il couvre 1.260.000 hectares, dont 855.000 en Algérie, 340.000 en Tunisie, 65.000 au Maroc. En Europe, le pin d'Alep est surtout présent sur le littoral espagnol couvrant une superficie de 1.046.948 ha en peuplement purs et 497.709 ha en peuplements mixtes ou mélangés avec d'autres espèces, soit 15% de la surface boisée de ce pays. Il existe aussi à l'état spontané mais d'une façon très restreinte en Turquie, en Albanie et en Yougoslavie et très peu en proche orient : Palestine, Syrie, Jordanie et Liban (Tab.6et Fig.14)

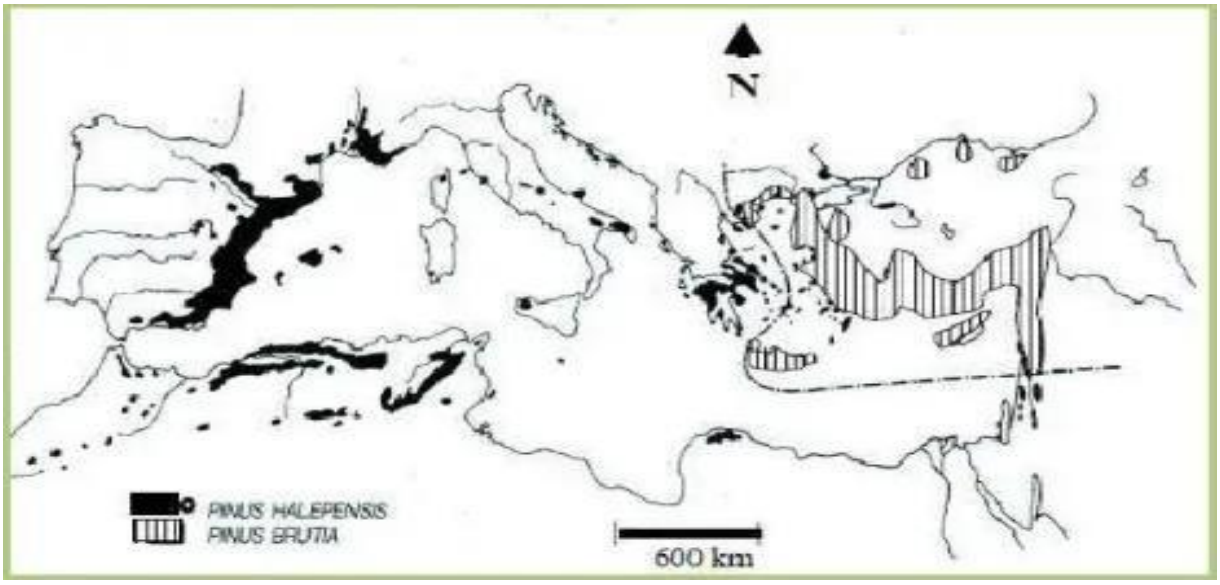


Figure 12 : Aire de répartition du pin d'Alep et du pin Brutia (Quezel, 1986)

Tableau 1: La superficie occupée par le pin d'Alep dans quelques pays de la Méditerranée. (Bentouati, 2006).

Pays	Superficie (ha)	source
Algérie	850000	Mezali (2003)
Maroc	65000	Bakhyi (2002)
Tunisie	170000 à 370000	Chahroun (1986), Ammari (2000)
France	202000	Couhert et duplat (1993)
Espagne	1046978	Montero (2000)
Italie	20000	Seigue (1985)
Grèce	330000	Seigue (1985)

Ⅰ.5.4.1.2 En Algérie :

En Algérie, le *Pin d'Alep (Pinus halepensis*) est une essence reconnue pour sa grande amplitude écologique. Il est largement présent, notamment sur presque tous les massifs littoraux telliens situés à l'ouest d'Alger, mais également sur les hauts plateaux et dans l'Atlas saharien (Kadik, 1987). (Figure 2).

Selon Letreuch (1982), sa répartition géographique se fait de la manière suivante :

- **À l'Est,** le Pin d'Alep se rencontre dans les monts de Tébessa et dans l'Aurès, où il existe de belles futaies.
- **Au Centre,** il est présent dans les forêts de l'Ouarsenis.
- **À l'Ouest,** on l'observe dans les forêts de Saïda, Mascara et Sidi Bel-Abbès.
- **Dans l'Atlas saharien,** on le trouve dans les forêts des monts d'Ouled Naïl (à Djelfa) ainsi que dans les djebels Amour, près d'Aflou.

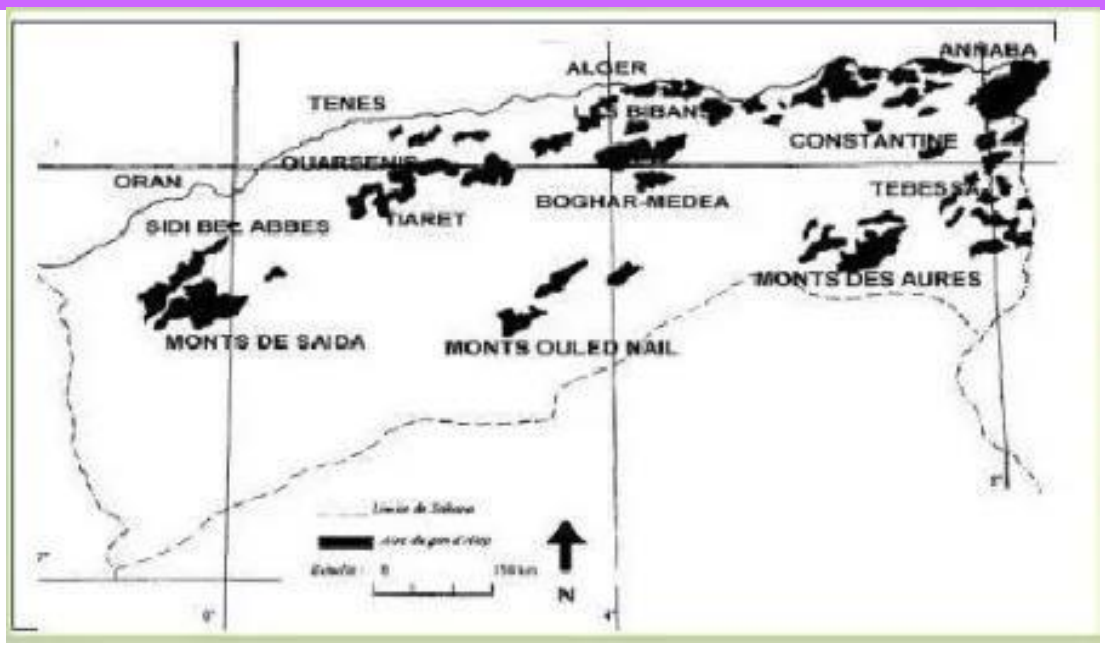


Figure 13 : Aire de répartition du pin d'Alep en Algérie (Bentouati, 2006).

I .5.5 Les exigences écologiques du pin d'Alep :

Altitude :

Le *Pin d'Alep* se développe essentiellement aux étages thermo et mésoméditerranéens c'est-à-dire entre 0 et 300 – 600 m en Méditerranée septentrionale (France) et entre 0 et 1200 – 1400 m en Méditerranée méridionale (Maroc et Algérie) (Quézel, 1980 ; Quézel et Médail, 2003). Il peut s'élever jusqu'à 2600 m dans le Haut Atlas central et même à 2800 m en individus épars (Quézel, 1986)

- Climat :

Selon Quézel (1980) et Nahal (1962), le Pin d'Alep apparaît dans des zones où les précipitations sont comprises entre 200 et moins de 1500 mm. Il présente son développement optimal entre 350 et 700 mm, c'est-à- dire dans les bioclimats semi-aride et subhumide.

I.5.6 Les exigences édaphiques :

Le *Pin d'Alep* peut végéter sur des substrats extrêmement variés, mais il est possible de mettre en évidence certaines préférences (Quézel, 1986). Il pousse essentiellement sur les substrats marneux et calcaro-marneux parce qu'ils sont des sols profonds et accessibles à son système racinaire (Braun-Blanquet, 1936 in Quézel et Médail, 2003). Mais il existe aussi sur les calcaires compacts fissurés et les terra rossa (Molinier, 1934 in Quézel et Médail, 2003) et les substrats non calcaires comme les schistes et les micaschistes comme le cas dans le littoral Algérois (Quézel, 1986). En revanche il ne tolère pas les substrats sablonneux, hlo-gypseux et limoneux ni les substrats où existent des nappes aquifères permanentes ; l'eau provoque l'asphyxie de son système racinaire (Quézel, 1986 ; Quézel et Médail, 2003).

I.5.7 Les enjeux sociétaux et économiques du pin d'Alep :

*** Le potentiel de production de bois**

Le *pin d'Alep* couvre actuellement environ 240 000 ha en France, en majorité (223 000 hectares) dans la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur, et surtout dans les départements des Bouches-du-Rhône et du Var. Il y présente donc un fort enjeu économique, écologique et social. C'est pourquoi la Métropole d'Aix-Marseille-Provence, où le pin d'Alep représente 70 % des peuplements, s'y est particulièrement intéressée. Elle a confié une étude sur sa valorisation à l'association Forêt Modèle de Provence2 , et a lancé en parallèle une étude "Gisement de Bois" sur l'ensemble de ses massifs forestiers. Ce dernier travail fait apparaitre (MTDA, 2020) : Un capital forestier de 6,6 millions de m3 de bois sur pied (dont 5,1 millions de m3 de pin d'Alep). Sur la production annuelle totale de bois de ces forêts (190 000 m3), 143 000 m3 /an sont exploitables en tenant compte des contraintes topographiques, environnementales, d'accessibilité et administratives, dont 24 % peuvent être valorisés en bois d'œuvre. Malheureusement cette ressource est aujourd'hui sous-exploitée, notamment en forêt privée : seuls 73 000 m3 font actuellement l'objet d'une exploitation forestière, soit 51% du potentiel.Une régénération naturelle et des peuplements jeunes en plein développement permettant un accroissement annuel de ce capital de 190 000 m3 de bois (intérêts produits par la forêt), soit 33 % de plus par an que le potentiel actuellement exploitable

Cependant, dans les peuplements aujourd'hui adultes, le pin d'Alep a été fréquemment cassé plusieurs fois par la neige lourde en hiver, tordu par les vents violents, ou a poussé en peuplements plutôt clairs. Il a souvent un tronc court, tortueux et fourchu, qui complique sa valorisation comme bois d'œuvre. (photo n°14) Si les peuplements bien gérés et bénéficiant d'une sylviculture adaptée sont capables de fournir de belles pièces droites (photo n°1), son utilisation en bois d'œuvre reste encore très minime (il est majoritairement utilisé dans les secteurs du bois énergie et de la papeterie). Mais on estime qu'à l'horizon 2040, 450 000 m3 par an pourraient être récoltés. Une ressource qui mérite d'être préparée à une valorisation optimale par une gestion adaptée.

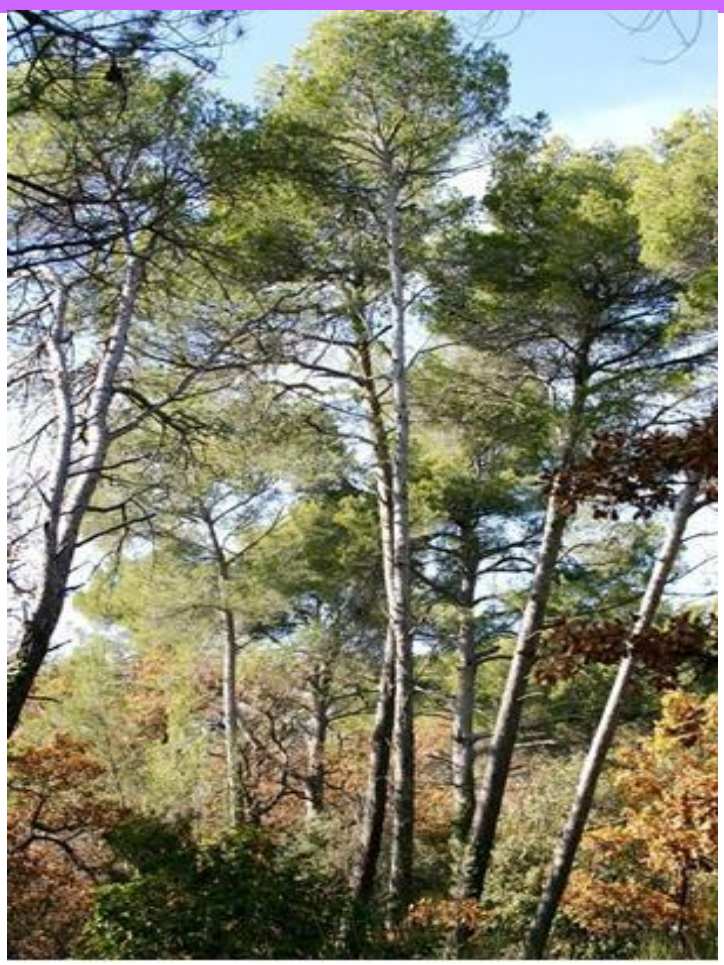


Figure 14 : grands pins d'Alep poussant sur d'anciennes terrasses en bas de pente, et présentant une belle grume apte au bois de construction.

*** Les usages traditionnels et potentiels autres que le bois**

Le pin d'Alep a aussi eu de multiples autres usages traditionnels ou plus modernes. (1) Pour l'alimentation : les graines comestibles sont depuis toujours consommées en Afrique du Nord, notamment en Tunisie, réduites en farine pour la préparation de crèmes sucrées ou salées, à l'occasion de certaines fêtes. 2 Une Forêt Modèle est un processus regroupant de nombreux partenaires (collectivités publiques, organismes de recherche, personnes privées, associations, entreprises, …), dont les intervenants s'engagent à définir et concrétiser, sur un territoire largement forestier, une vision commune de développement durable pour la conservation et la gestion des ressources naturelles et du paysage (cf.: https://www.foretmodeleprovence.fr/). Des quatre massifs de la zone concernée par la Forêt Modèle de Provence (les Maures, la Sainte-Baume, l'Étoile et le Garlaban, les deux derniers en totalité, et l'extrémité ouest de la Sainte-Baume) font partie de l'aire de la Métropole Aix-Marseille-Provence et possèdent de grandes surfaces de pin d'Alep.

Bonnard M., Parrot I., Plazanet N., Vennetier M. - 2024. Valoriser le Pin d'Alep de Provence sous toutes ses formes : du bois aux huiles essentielles et hydrolats d'aiguilles. Forêt Méditerranéenne, 45 219-228 Dans les maisons : les cônes très résineux étaient utilisés comme torches Pour l'industrie et la chimie : la résine avait de multiples emplois directs (calfeutrage, colle) et indirects (extraction d'essence de térébenthine, avec un excellent rendement, et autres composants actifs). Ses huiles essentielles montrent d'intéressantes

qualités antioxydantes utilisables dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques (*Djerrad et al., 2015*). En agriculture, les huiles essentielles de pin d'Alep ont fait leurs preuves en milieu contrôlé comme herbicide et fongicide (*Amri et al., 2012, 2013*), mais il resterait à prouver l'intérêt économique de leur usage en conditions réelles. En médecine : directement ou à partir d'extraits extraits obtenus par diverses méthodes, différentes parties du *pin d'Alep* étaient utilisées depuis longtemps en médecine traditionnelle pour leurs propriétés cicatrisantes, antiseptiques, astringentes, et pour traiter la tuberculose, les diarrhées, les rhumatismes, la toux, les maladies gastro-intestinales, l'hypertension et les hémorroïdes (El Omari et al., 2021). À l'aide de techniques modernes d'analyse, des dizaines de composants actifs ont pu être identifiés dans les extraits de son bois, de ses aiguilles, cônes, écorces ou bourgeons, et dans les huiles essentielles obtenues. La littérature dénombre en particulier plus de 40 composés dans les huiles essentielles des aiguilles de pin d'Alep obtenues par hydro-distillation . De nombreux articles publiés ces 20 dernières années, qu'il est impossible de tous citer ici, ont testé les activités in vivo ou in vitro pour ces extraits. Ils confirment leur potentiel pour certains des usages traditionnels, avec des propriétés antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires, cytotoxiques, antiparasitaires, antidiabétiques, anticancéreuses, coagulantes et *hépatoprotectives*. Par exemple des patchs imbibés d'extraits aqueux d'écorces se sont montrés plus efficaces que des crèmes habituellement utilisées pour limiter et cicatriser les brûlures (radiodermatites) liées à la radiothérapie de cancers de la peau. La valorisation du *pin d'Alep* ne saurait donc se focaliser uniquement sur la production de bois. Forêt Modèle de Provence a été créée, entre autres, pour structurer un réseau autour d'une gestion durable des espaces forestiers basés sur leur multifonctionnalité. En ce sens, il est utile de continuer la démarche d'une valorisation du *Pin d'Alep* complémentaire au bois d'œuvre, vers une diversification des produits et services de nos forêts.

Chapitre II:

Matériels et Méthodes

II .1 Introduction :

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire d'agronomie de la faculté des sciences du pôle universitaire d'Ouazra.

II .1.1 Matériel de travail :

II .1.2 Le matériel fongique :

Dans cette étude, on a utilisé deux souches de champignons entomopathogène : Metarhizium anisopliae et Trichoderma. Ces champignons ont été sélectionnés en raison de leur importance dans le domaine de la lutte biologique et de leur efficacité contre plusieurs organismes nuisibles.

II .1.2.1 Le Champignon *Metarhizium anisopliae* :

Metarhizium anisopliae est un champignon entomopathogène utilisé en lutte biologique contre de nombreux insectes ravageurs. Il infecte son hôte par contact direct et provoque sa mort après avoir pénétré à travers la cuticule.

II.1.2.2 Le Champignon *Trichoderma :*

Est un champignon saprophyte reconnu pour ses propriétés antagonistes contre de nombreux agents phytopathogènes.

II .1.3 Matériel animal :

II .1.3.1 *Tenebrio molitor :*

est un insecte coléoptère appartenant à la famille des Tenebrionidae, couramment utilisé dans les études biologiques et l'alimentation animale. Ses larves, appelées vers de farine, sont riches en protéines et faciles à élever en laboratoire.

II .1.3.2 *Zophobas morio :*

est également un coléoptère de la famille des Tenebrionidae. Ses larves, connues sous le nom de super vers, sont de grande taille, riches en nutriments et largement utilisées dans les recherches scientifiques ainsi que dans l'alimentation animale.

II .1.4 Élevage de *Tenebrio molitor* au laboratoire

L'élevage de *Tenebrio molitor* a été réalisé dans des bacs en plastique contenant du son de blé comme substrat alimentaire. Des morceaux de carotte ou de pomme de terre ont été ajoutés pour fournir l'humidité nécessaire. Les insectes ont été maintenus à une température de 25 à 27 °C avec une humidité relative de 60 à 70 %.

II .1.5 Élevage *de Zophobas morio* au laboratoire

L'élevage des larves de *Zophobas morio* a été effectué au laboratoire dans des boites en plastique contenant du son de blé comme aliment principal, sous des conditions contrôlées. Les élevages ont été conservés à une température de 26 à 28 °C avec une humidité relative d'environ 65 à 70 %.

L'aliment fourmis aux larves est composés de sons de blé et par des morceaux de légumes frais (carotte et pomme de terre) ont été ajoutés quotidiennement aux larves pour avoir de l'eau.



Figure 16 : Élevage de *Tenebrio molitor et Zophobas morio* au laboratoire

II.1.6 Matériel du laboratoire :

Au cours de cette étude, nous avons utilisé le matériel suivant :

Tableau 2 : Le matériel utilisé au laboratoire



Ⅱ .2 Méthodes de travail :

II.2.1 Principe d'extraction du pin d'Alep :

II.2.1.1 Extraction par hydrodistillation :

Cette extraction consiste a immerger la matiere vegetale dans un alambic rempli d'eau qui est porte e a e bullition. Les vapeurs sont condense es dans un re frige rant puis re cupe re es dans un Erlen Meyer et l'huile essentielle est se pare e par de cantation. Le dispositif d'extraction en verre est nomme Clevenger. 100 g d'aiguilles, matie re ve ge tale sont lave s puis introduits dans un ballon monocol d'une capacite de 6 litres remplit par 2 litres d'eau. Le ballon est raccorde a un appareil de type Clevenger. Une calotte chauffante sur laquelle repose le dispositif d'extraction est utilise e comme source de chaleur. La diffusion de la vapeur d'eau a travers la matie re ve ge tale permet d'en extraire les matie res volatiles et de les re cupe rer en haut du montage. Ces vapeurs sont condense es dans le re - frige rant a circulation d'eau et l'huile essentielle est re cupe re e par de cantation. Celle-ci, de couleur jaune pa le, est se

che e par addition de 1% de sulfate de sodium anhydre. Apre s filtration, l'huile essentielle est conserve e dans un flacon ambre , ferme herme tiquement et a basse tempe rature (4°C).

II.2.1.2 Protocol d'extraction :

1. Préparation de la matière végétale
2. Les aiguilles de pin d'Alep sont lavées soigneusement afin d'éliminer les impuretés, puis utilisées fraîches ou légèrement coupées.
3. Montage de l'appareil
4. 100 g de matière végétale sont introduits dans un ballon de 6 L contenant 2 L d'eau distillée. Le ballon est ensuite relié à un appareil de type Clevenger.
5. Hydrodistillation
6. Le système est chauffé à l'aide d'une calotte chauffante. Sous l'effet de la chaleur, la vapeur d'eau traverse la matière végétale et entraîne les composés volatils.
7. Condensation et récupération
8. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant à eau puis recueillies dans le dispositif de Clevenger. L'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité et est récupérée par décantation.
9. Séchage de l'huile essentielle
10. L'huile obtenue, de couleur jaune pâle, est séchée par addition de 1 % de sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer les traces d'eau.
11. Conservation
12. Après filtration, l'huile essentielle est conservée dans un flacon ambré, hermétiquement fermé, et stockée à basse température (4 °C)

II .2.1.3 Résultat

Cette méthode permet d'obtenir une huile essentielle riche en composés volatils à partir des aiguilles *de Pin d'Alep.*

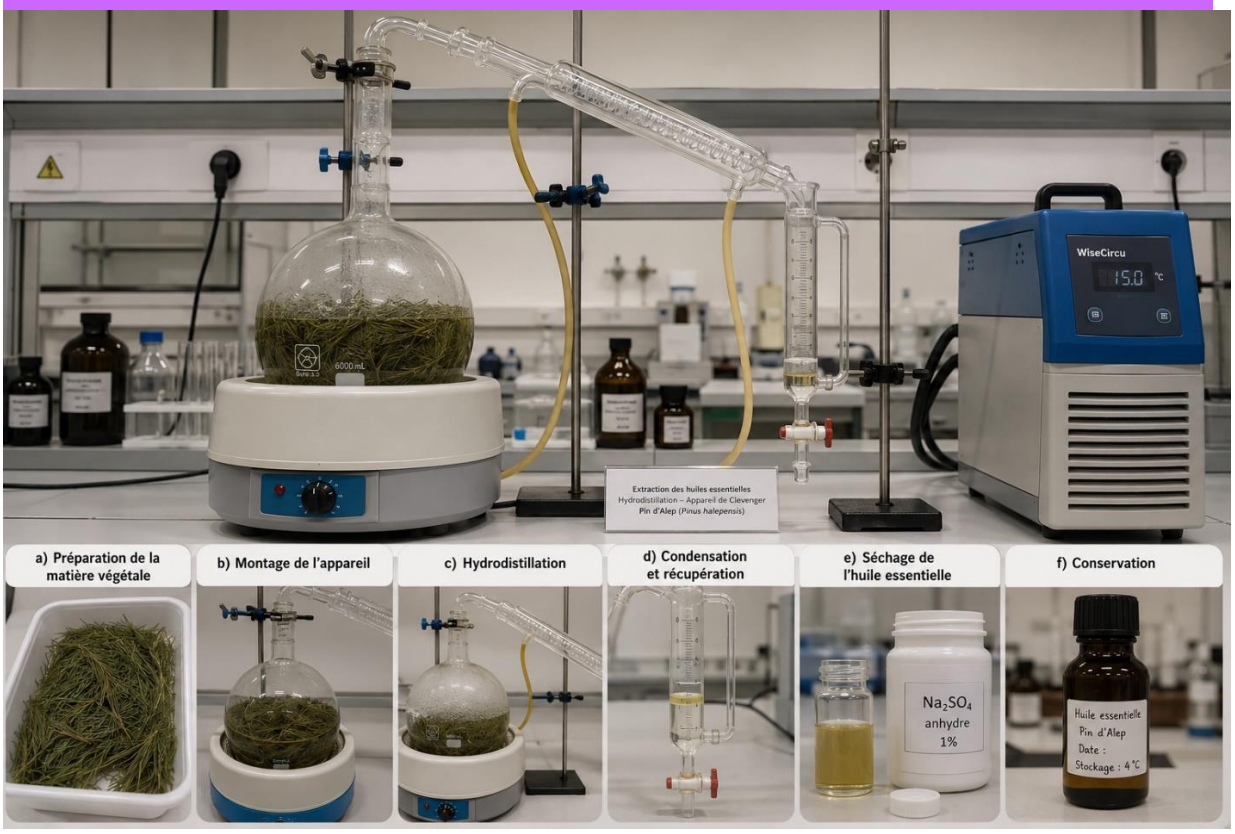


Figure 17 : Les étapes d'extraction de pin d'Alep

II .3 Préparation des doses d'application :

II .3.1 les huiles essentielles *Pin d'Alep :*

II.3.1.1 Préparation des doses de d'huile essentielle de *Pin d'Alep :*

Nous calculé trois doses à partir de la solution mère d'huile essentielle pour l'appliquer sur les ravageurs. Les déférentes concentrations des sont comme suit :

D1=7.5 ml+1.5 ml eau distillée+1 ml ethanol (75 %)

D2=5ml+4 ml eau distillée+1ml ethanol(50%)

D3=2.5ml+6.5 ml eau distillée+1 ml ethanol (25%)

II.3.1.2 Traitement des insectes par les huiles essentielles :

II.3.1.2.1 Le traitement *de Tenebrio molitor :*

A été réalisé par la méthode de pulvérisation à l'aide d'une seringue ou d'un pulvérisateur manuel.

Quatre boîtes ont été préparées au total : trois boîtes expérimentales et une boîte témoin. Chaque boîte contenait 10 insectes.

Les insectes des trois boîtes expérimentales ont été traités par pulvérisation avec une solution à base d'huile essentielle de *Pin d'Alep,* tandis que la boîte témoin n'a subi aucun traitement afin de servir de référence.

Après l'application, toutes les boîtes ont été placées dans les mêmes conditions de laboratoire. Les insectes ont ensuite été observés pendant plusieurs jours afin d'évaluer l'efficacité du traitement, notamment en enregistrant le taux de mortalité et les changements de comportement par rapport au témoin.

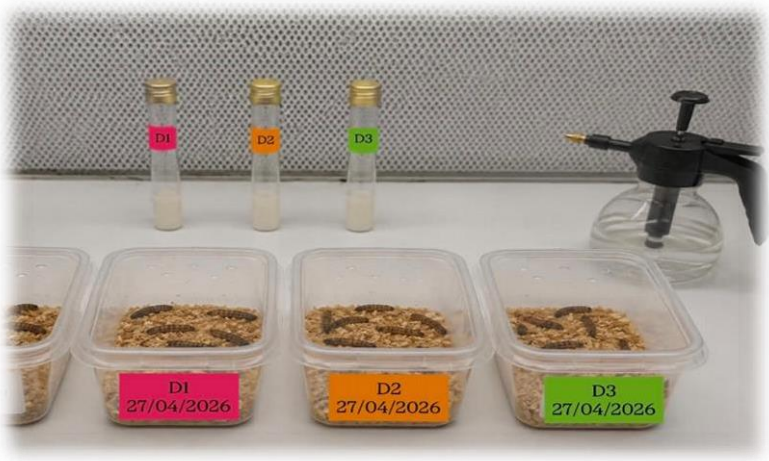
II.3.1.2.2 Le traitement de *Zophobas morio :*

A été réalisé selon la même méthode expérimentale de pulvérisation à l'aide d'un pulvérisateur manuel.

Quatre boîtes ont été préparées : trois boîtes expérimentales et une boîte témoin. Chaque boîte contenait 10 individus.

Les insectes des boîtes expérimentales ont été traités par pulvérisation avec une solution à base d'huile essentielle *de Pin d'Alep,* tandis que la boîte témoin est restée sans traitement afin de servir de référence.

Après l'application du traitement, toutes les boîtes ont été placées dans des conditions de laboratoire identiques (température, humidité et alimentation). Les insectes ont ensuite été observés pendant plusieurs jours afin d'évaluer l'effet de l'huile, en enregistrant notamment le taux de mortalité et les éventuelles modifications de comportement par rapport au témoin .



Figeur18 : Traitement des larves et des adultes d'huiles essentielles pin d'Alep contre l'insecte Tenberio molitor .

II .3.2 Champignons Metarhizium anisoplie :

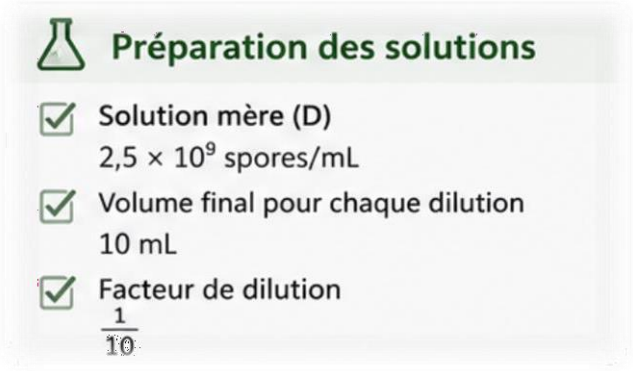
II.3.2.1 Préparation des doses de champignons :

On prélève 0,5g de poudre Metarhizium anisoplie et on le met dans un flacon contenant 10 ml d'eau distillée +tween pour assurer la libération maximale des spores. Cette suspension est agitée pendant 15 minutes.



Figure 19 : Les doses de champignon *Metarizium anisophiae*

II.3.2.2 Comptage des spores et détermination des concentrations :



Solution	Composition (pour 10 mL)
D1 (0,25%)	1 mL de D + 9 mL d'eau
D2 (0,75%)	3 mL de D + 7 mL d'eau
D3 (1,25%)	5 mL de D + 5 mL d'eau

Concentrations finales	
Solution	Concentration (spores/mL)
D (mère)	$2,5 \times 10^9$
D1 (0,25%)	$2,5 \times 10^8$
D2 (0,75%)	$7,5 \times 10^8$
D3 (1,25%)	$1,25 \times 10^9$

II .3.2.3 Traitement par le champignon entomopathogène :

II.3.2.3.1 Traitement de *Tenberio molitor :*

Les traitements ont été réalisés par pulvérisation sur des larves de *Tenebrio molitor* en utilisant trois doses différentes, ainsi qu'un témoin. Chaque boîte contenait 10 individus de *Tenebrio molitor*. Les traitements ont été répartis selon les différentes doses préparées afin d'évaluer l'efficacité du produit testé. Voici les détails des traitements :



Figure 20 : Traitement de *champignons Metarhizium* anisoplie contre les deux l'insectes *Tenberio molitor et zophobas morio.*

II .3.2.3.2 Compactage de mortalité :

Le comptage des sujets morts est fait chaque 24 heures des sujets morts jusqu'à la mortalité totale d II es insectes sur les taux de mortalité des insectes après chaque traitement (100% de mortalité).

II.3.2.3.3 Traitement *de Zophobas morio :*

Ces traitements ont été réalisés par pulvérisation sur *Zophobas morio*, répartis selon trois différentes doses appliquées.

Chaque boîte contenait 10 individus de *Zophobas morio* avec une quantité suffisante d'eau pour assurer une bonne pulvérisation. Les traitements comprenaient les trois doses testées ainsi qu'un lot témoin afin de comparer les effets des différentes concentrations utilisées.

II.3.2.3.4 Compactage de mortalité :

Le comptage des sujets morts est fait chaque 24 heures des sujets morts jusqu'à la mortalité totale des *Zophobas morio* sur les taux de mortalité des insectes après chaque traitement (100% de mortalité).

Il est à noter qu'après les traitements, toutes les boîtes ont été placées dans une chambre d'élevage conditionnée afin d'assurer des conditions favorables au développement des insectes, notamment la température, l'humidité et la lumière.

II.3.2.3.5 Calcul du pourcentage de mortalité journalière :

Toutes les 24 heures, on calcule le pourcentage de mortalité *deTenberio molitor et le zophobas morio* témoins et traités selon la formule suivante :

$$\text{Mortalieté enrigistree} = \frac{\text{Nombre d'individus mort}}{\text{Nombre total de presonnes}} 100$$

II .3.2.3.6 Calcule de la DL50 :

Pour calculer la dose létale qui provoquée 50% de mortalité de la population, on utilisé la méthode de Karber et Behrens (méthode numirique)

$$DL50 = DL\ 100 - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

a : difference entre deux doses successive

b : moyenne des morts entre deux doses successive

n : nombre moyen d'animaux par lot

II.3.3 Champignon *Trichoderma :*

II.3.3.1 Préparation des doses de *Trichoderma :*

Nous avons pris Des fragments circulaires des colonies de *Trichoderma* ont été prélevés à partir des boîtes de Pétri contenant les champignons, puis transférés dans de nouvelles boîtes de Pétri stériles contenant le milieu de culture approprié.

Les boîtes ont ensuite été incubées dans l'étuve à 25 °C pendant une semaine. Après incubation, une bonne croissance fongique a été observée, permettant d'obtenir des cultures viables de *Trichoderma* prêtes à être utilisées pour la réalisation des traitements expérimentaux.

La préparation a été réalisée à partir de cultures de *Trichoderma* développées sur boîtes de Pétri. Des disques mycéliens provenant de colonies fongiques bien développées ont été prélevés de manière aseptique à l'aide d'un outil stérile, puis transférés dans un tube à essai contenant 20 mL d'eau distillée stérile.

La suspension obtenue a été soigneusement agitée afin d'assurer une homogénéisation des spores. Ce mélange a été considéré comme la solution mère, utilisée par la suite pour la préparation des différentes dilutions destinées aux traitements expérimentaux.



Figure 21 : Les doses de champignons *Trichoderma*

II .3.3.2Comptage des spores et détermination des concentrations :

Détermination de la concentration Sporale :

La concentration des spores a été déterminée

à l'aide d'une cellule de comptage de Malassez après homogénéisation de la suspension sporale. Le comptage a été réalisé au microscope optique, puis la concentration a été calculée selon la formule suivante :

$$C = \frac{N}{n} \times 10^4 \times FD$$

AVEC :

C : concentration des spores (spores/mL) .

N : nombre total de spores comptées.

n : nombre de carrés observés .

10^4 : facteur de conversion lié au volume de la cellule de comptage .

FD : facteur de dilution.

Calcul du facteur de dilution :

Le facteur de dilution est déterminé selon la relation suivante :

$$FD = \frac{Vf}{Vp}$$

Où :

Vf : volume final après dilution (volume prélevé + volume du diluant) .

Vp : volume prélevé de la suspension mère.

Définition des paramètres :

Volume prélevé (Vp) : volume de la suspension mère utilisé pour réaliser la dilution.

Volume final (Vf) : volume total obtenu après addition du diluant au volume prélevé.

Calcul de la concentration finale :

La concentration finale de la suspension sporale est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\mathrm{C} = n \times \frac{1}{V} \times \frac{1}{D}$$

Avec :

C : concentration finale des spores (spores/mL) .

n : nombre moyen de spores comptées .

V : volume de la cellule de comptage (0,005 mL) .

D : facteur de dilution appliqué.

Relation de conversion :

$$1mm^3 = 10^{-3}mL$$

II.3.3.3 Traitement de *Tenberio molitor* :

Les traitements ont été réalisés par pulvérisation sur des larves de *Tenebrio molitor* en utilisant trois doses différentes, ainsi qu'un témoin. Chaque boîte contenait 10 individus de *Tenebrio molitor*. Les traitements ont été répartis selon les différentes doses préparées afin d'évaluer l'efficacité du produit testé . Voici les détails des traitements :





Figure 22 : Traitement par de champignons *Trichoderma* contre les deux l'insectes *Tenberio molitor* et *zophobas morio*.

II .3.3.4 Traitement de *Zophobas morio :*

Ces traitements ont été réalisés par pulvérisation sur *Zophobas morio,* répartis selon trois différentes doses appliquées.

Chaque boîte contenait 10 individus de *Zophobas morio* avec une quantité suffisante d'eau pour assurer une bonne pulvérisation. Les traitements comprenaient les trois doses testées ainsi qu'un lot témoin afin de comparer les effets des différentes concentrations utilisées.

II.3.3.5 Compactage de mortalité :

Le comptage des sujets morts est fait chaque 24 heures des sujets morts jusqu'à la mortalité totale des pucreon sur les taux de mortalité des insectes après chaque traitement (100% de mortalité).

Il est à noter qu'après les traitements, toutes les boîtes ont été placées dans une chambre d'élevage conditionnée afin d'assurer des conditions favorables au développement des insectes, notamment la température, l'humidité et la lumière.

II.3.3.6 Calcul du pourcentage de mortalité journalière :

Toutes les 24 heures, on calcule le pourcentage de mortalité *deTenberio molitor* et le *zophobas morio* témoins et traités selon la formule suivante :

$$\text{Mortalieté enrigistree} = \frac{\text{Nombre d'individus mort}}{\text{Nmbre total de presonnes}} \; 100$$

II .3.3.7 Calcule de la DL50 :

Pour calculer la dose létale qui provoquée 50% de mortalité de la population, on utilisé la méthode de Karber et Behrens (méthode numirique)

$$DL50 = DL\ 100 - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

a : difference entre deux doses successive

b : moyenne des morts entre deux doses successive

n : nombre moyen d'animaux par lot

Chapitre III :

Résultats et Discussions

III .1 Résultats :

III .1.1. Effet de l'extrait d'huile essentielle

Sur les larves :

III.1.1.1 Effet de l'extrait d'huile essentielle contre les larves de *Tenberio molito* :

D'après le tableau et la figure correspondants, la mortalité des insectes a augmenté progressivement au cours du temps dans tous les lots traités jusqu'à atteindre 100 %. La première mortalité a été observée 24 heures après le traitement, avec un taux de 60 % pour les lots D1 et D2 et de 40 % pour le lot D3. À J2, la mortalité a atteint 50 % chez les insectes traités par D3. Par la suite, le taux de mortalité a continué à augmenter pour atteindre 100 % à J5 pour le lot D1, à J6 pour le lot D2 et à J7 pour le lot D3. Cette évolution montre que le traitement D1 a présenté l'effet le plus rapide, suivi de D2 puis de D3.

Tableau 3 : Pourcentage de mortalité de chez le Ten Au début de l'expérience (T0), le nombre d'individus était de 10 dans les trois lots (D1, D2 et D3).

Temps	Témoin	Extrait		
		D1 (75%)	D2 (50%)	D3 (25%)
J0	0%	0%	0%	0%
J1	0%	60%	60%	40%
J2	0%	70%	60%	50%
J3	0%	80%	70%	60%
J4	0%	90%	80%	70%
J5	0%	100%	90%	80%
J6	0%	100%	100%	90%
J7	0%	100%	100%	100%

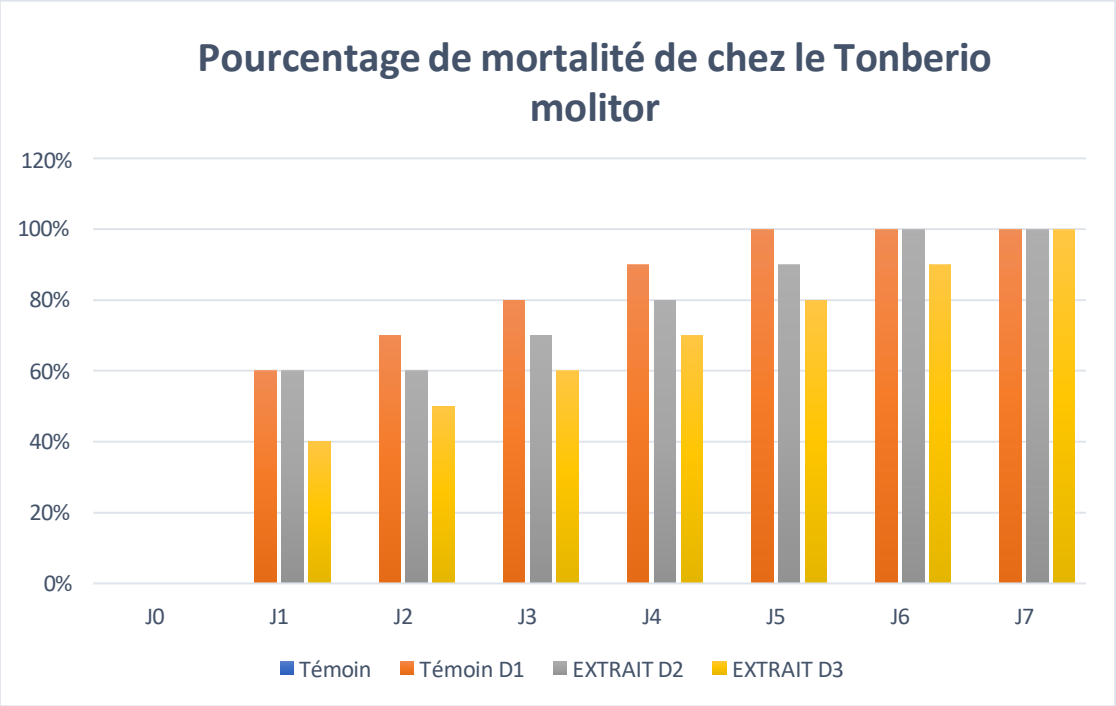


Figure 23: Pourcentage de mortalité de chez le *Tenberio molitor*

III .1.1.2 Effet de l'extrait d'huile essentielle contre *Zophobas morio* :

D'après le tableau et la figure correspondants, la mortalité des insectes a augmenté progressivement avec le temps dans tous les lots traités jusqu'à atteindre 100 %. La première mortalité a été enregistrée 24 heures après le traitement, avec un taux de 60 % pour les lots D1 et D2 et de 40 % pour le lot D3. À J2, la mortalité a atteint 50 % chez les insectes traités par D3. Par la suite, le taux de mortalité a continué à augmenter pour atteindre 100 % à J5 pour le lot D1, à J6 pour le lot D2 et à J7 pour le lot D3. Ces résultats montrent que le lot D1 a présenté l'effet le plus rapide, suivi du lot D2, tandis que le lot D3 a montré une action plus lente.

Tableau 4 : Pourcentage de mortalité de chez le Ten Au début de l'expérience (T0), le nombre d'individus était de 10 dans les trois lots (D1, D2 et D3).

Temps	Témoin	Extrait		
		D1	D2	D3
T0	0%	0%	0%	0%
T1	0%	30%	50%	70%
T2	0%	40%	50%	80%
T3	0%	40%	50%	80%
T4	0%	70%	60%	80%
T5	0%	80%	80%	80%
T6	0%	90%	90%	90%
T7	0%	100%	100%	100%

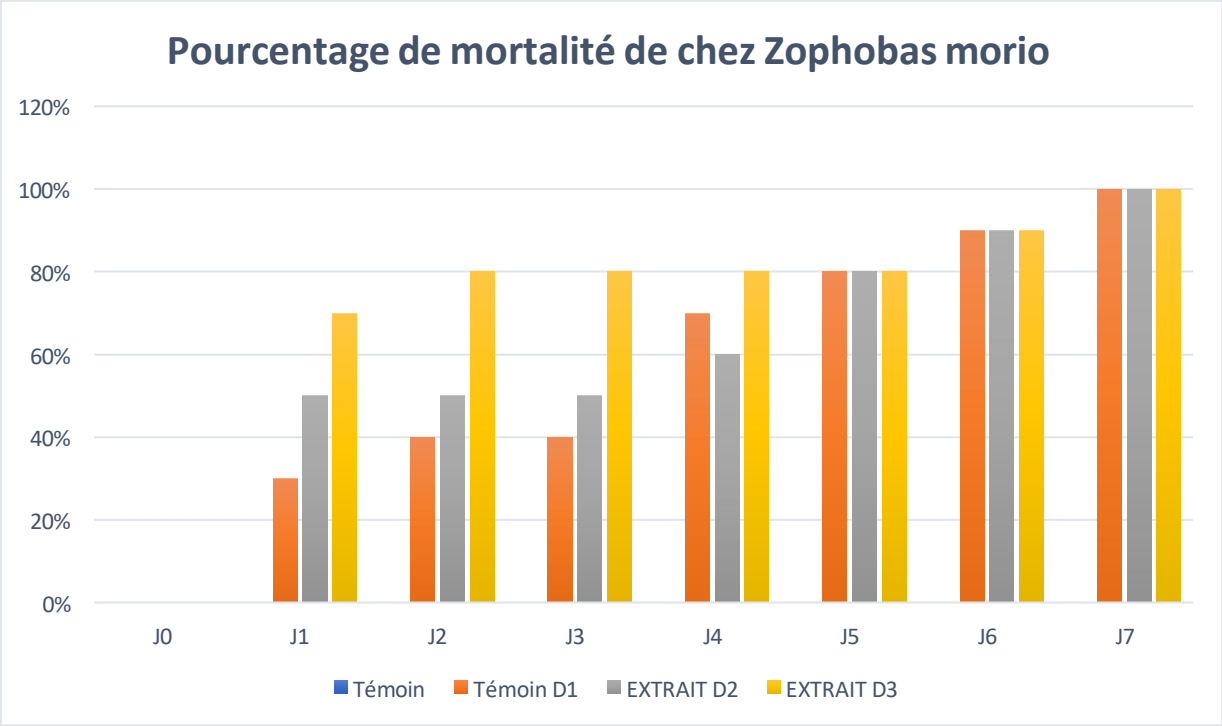


Figure 24 : Pourcentage de mortalité de *Zophobas morio*

Sur l 'adults :

III.1.1.3 Effet de l'extrait d'huile essentielle contre les adults :

Chaque lot contenait également 10 individus au départ.

La mortalité augmente progressivement jusqu'à atteindre 100 % au J5. • Pour le lot D1, la mortalité atteint 60 % au J3 puis 100 % au J5. La DL50 est comprise entre J2 et J3. • Pour le lot D2, la mortalité atteint 50 % au J3 puis 100 % au J5. La DL50 est atteinte au J3. • Pour le lot D3, la mortalité reste faible au début puis augmente fortement pour atteindre 90 % au J4 et 100 % au J5. La DL50 est comprise entre J3 et J4. Ces résultats indiquent que le traitement D1 agit plus rapidement sur les adultes, suivi de D2, tandis que D3 présente un effet plus lent

Tableau 5 : Pourcentage de mortalité de Les adults

Temps	Témoin	Extrait		
		D1	D2	D3
T0	0%	0%	0%	0%
T1	0%	10%	10%	0%
T2	0%	30%	20%	10%
T3	0%	60%	50%	40%
T4	0%	90%	90%	90%
T5	0%	100%	100%	100%

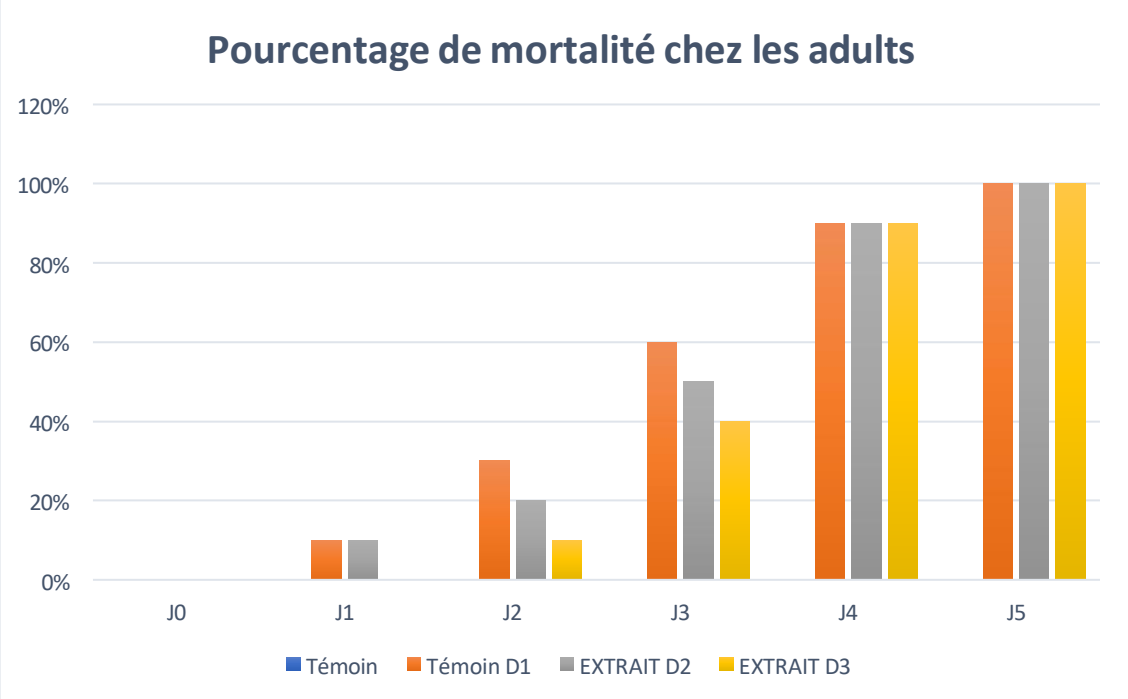


Figure 25 : Pourcentage de mortalité chez *Les adults*

III.1.2 Etude de l'effet de *Metarhizium anisoplie* sur les larves :

III .1.2.1 Etude de l'effet de *Metarhizium anisoplie* contre larves de *Tenberio molitor* :

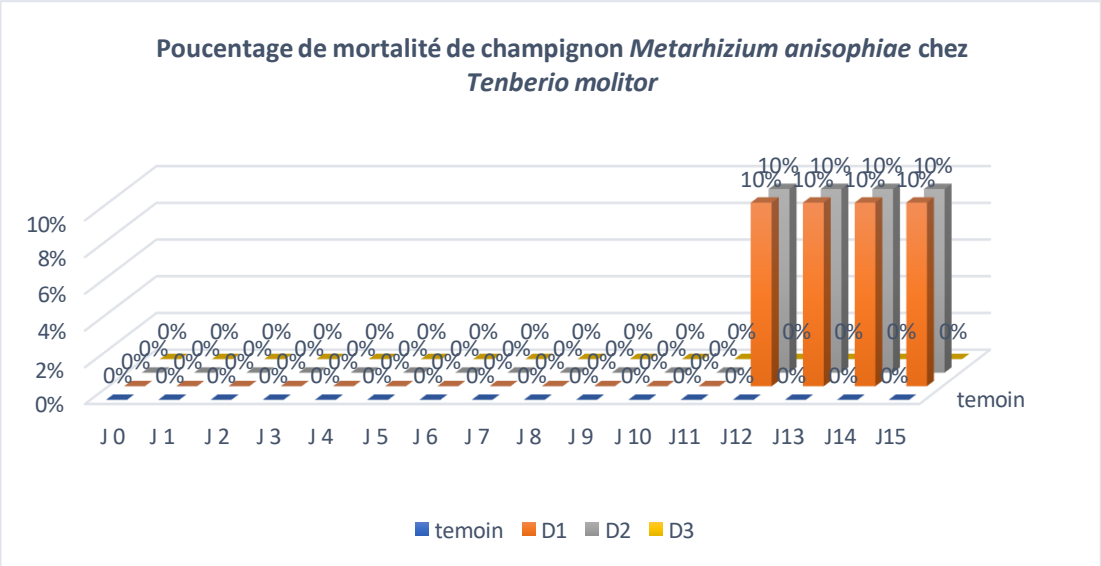


Figure 26 :pourcentage de mortalité de *Metarhizium anisophiae* chez *Tenberio molitor*

L'application du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur les larves de *Tenebrio molitor* a montré un effet biologique progressif et retardé.

Trois doses ont été testées, avec 10 insectes par boîte de Pétri. Les observations ont été réalisées quotidiennement afin de suivre l'apparition de la mortalité après le traitement.

Les premiers cas de mortalité ont été enregistrés environ 12 jours après l'application du traitement, ce qui indique une action lente du champignon. Cette mortalité tardive s'explique par le mode d'action de *Metarhizium anisopliae*, qui nécessite plusieurs étapes avant de provoquer la mort de l'insecte : adhésion des spores à la cuticule, germination, pénétration dans l'organisme de l'hôte puis colonisation interne.

La mortalité a été observée uniquement dans les doses 1 et 2, tandis qu'aucune mortalité n'a été enregistrée dans la dose 3. Cela peut indiquer que la concentration utilisée dans la troisième dose était insuffisante pour provoquer une infection efficace, ou que les conditions

expérimentales n'ont pas favorisé le développement du champignon chez les insectes traités avec cette dose.

Ces résultats montrent que *Metarhizium anisopliae* possède une activité entomopathogène contre *Tenebrio molitor,* mais avec une efficacité dépendante de la dose appliquée et du temps d'exposition.

III .1.2.2 Effet *de Metarhizium anisopliae contre Zophobas morio* :

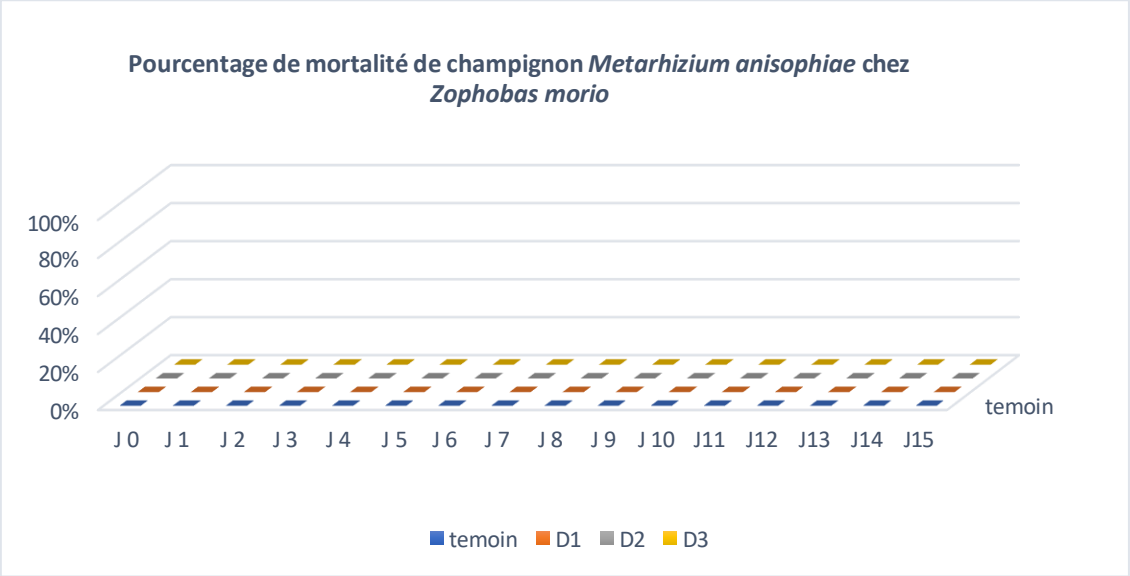


Figure 27 : pourcentage de mortalité de *Metarhizium anisopliae chez zophobas morio*

L'application du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur les larves de Zophobas morio n'a provoqué aucune mortalité durant toute la période d'observation, et ce pour les trois doses testées.

Cependant, une diminution de l'activité et de la mobilité des insectes traités a été observée après le traitement. Les larves présentaient un ralentissement des déplacements ainsi qu'une réduction de leur activité par rapport au lot témoin.

Cette diminution de la mobilité peut indiquer un effet physiologique ou comportemental du champignon sur les insectes, même en absence de mortalité directe. L'absence de mortalité

pourrait être liée à une résistance de *Zophobas* morio au champignon, à une concentration insuffisante des spores, ou encore à des conditions expérimentales peu favorables au développement de *Metarhizium anisopliae.*

Ces résultats suggèrent que *Metarhizium anisopliae* exerce un effet sublétal sur Zophobas morio, caractérisé principalement par une réduction de l'activité locomotrice sans provoquer la mort des insectes.

L'application du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur les larves de *Zophobas* morio n'a provoqué aucune mortalité durant toute la période d'observation, et ce pour les trois doses testées.

Cependant, une diminution de l'activité et de la mobilité des insectes traités a été observée après le traitement. Les larves présentaient un ralentissement des déplacements ainsi qu'une réduction de leur activité par rapport au lot témoin.

Cette diminution de la mobilité peut indiquer un effet physiologique ou comportemental du champignon sur les insectes, même en absence de mortalité directe. L'absence de mortalité pourrait être liée à une résistance de *Zophobas* morio au champignon, à une concentration insuffisante des spores, ou encore à des conditions expérimentales peu favorables au développement de *Metarhizium anisopliae*.

Ces résultats suggèrent que *Metarhizium anisopliae* exerce un effet sublétal sur *Zophobas* morio, caractérisé principalement par une réduction de l'activité locomotrice sans provoquer la mort des insectes.

III.1.3 Etude de l'effet de *Trichoderma* :

III.1.3.1 Etude de l'effet de *Trichoderma contre Tenberio molitor :*

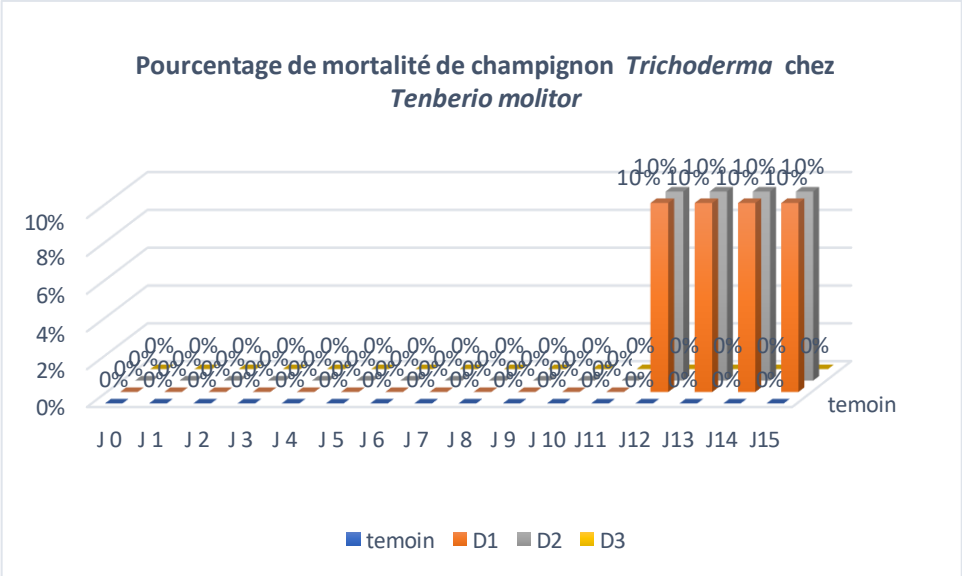


Figure28 :pourcentage de mortalité de champignon *Trichoderma* chez *Tenberio molitor*

L'application du champignon *Trichoderma* sur les larves de *Tenebrio molitor* a mis en évidence un effet biologique progressif au cours de la période d'observation.

Trois doses différentes ont été testées, avec 10 insectes placés dans chaque boîte de Pétri. Un suivi quotidien a été réalisé afin d'évaluer l'évolution de la mortalité après le traitement.

Les premières mortalités ont été observées environ 12 jours après l'application, montrant que l'action du champignon est relativement lente. Ce délai peut être expliqué par le processus d'interaction entre le champignon et l'insecte, comprenant l'adhésion des spores à la surface du corps, leur germination puis le développement progressif du champignon au niveau de l'hôte.

La mortalité a été enregistrée uniquement dans les traitements D1 et D2, alors qu'aucun insecte mort n'a été observé dans le traitement D3. Cette absence d'effet dans D3 pourrait être liée à une faible concentration du champignon ou à des conditions expérimentales défavorables au développement et à l'activité de *Trichoderma*.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus suggèrent que Trichoderma possède une certaine activité biologique contre *Tenebrio molitor*, mais que son efficacité reste influencée par la dose appliquée ainsi que par la durée d'exposition des insectes au traitemen

III .1.3.2 Etude de l'effet de *Trichoderma* contre *Zophobas morio* :

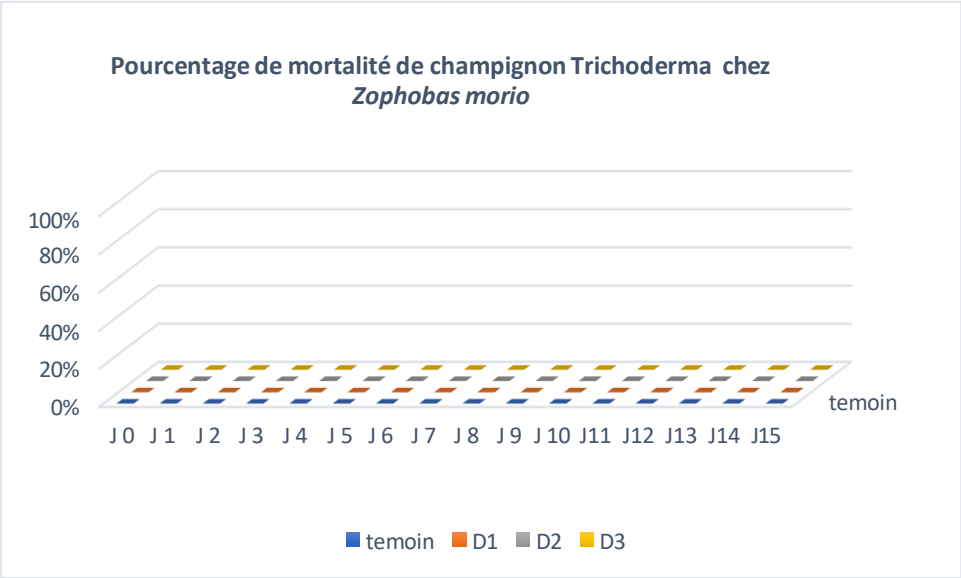


Figure29 : pourcentage de mortalité de *Trichoderma* chez *Zophobas morio*

Le traitement des larves de *Zophobas morio* par le champignon *Trichoderma* n'a entraîné aucune mortalité pendant toute la durée de l'expérience, quelle que soit la dose appliquée.

Malgré l'absence de mortalité, des changements comportementaux ont été observés chez les insectes traités. Les larves présentaient une diminution de leur activité générale ainsi qu'un ralentissement notable des mouvements comparativement au lot témoin.

Cette baisse de mobilité pourrait traduire un effet indirect du champignon sur l'état physiologique des insectes. En effet, même sans provoquer la mort, *Trichoderma* semble avoir influencé le comportement et l'activité locomotrice des larves traitées.

L'absence de mortalité peut être expliquée par plusieurs facteurs, notamment une tolérance de *Zophobas* morio au champignon, une faible concentration en spores utilisées ou encore des conditions expérimentales non favorables au développement du champignon.

Ainsi, les résultats obtenus indiquent que *Trichoderma* exerce principalement un effet sublétal sur *Zophobas* morio, se manifestant par une réduction de l'activité et de la mobilité des larves sans entraîner leur mort.

III .1.4. Calcule de la DL50 des huiles essentielles :

III.1.4.1 Traitement de *Tenberio molitor* par l'HE :

- **DL100** = concentration provoquant 100 % de mortalité (75 %),
- **a** = intervalle entre deux concentrations successives (25),
- **b** = moyenne du nombre d'insectes morts entre deux concentrations,
- **n** = nombre total d'insectes testés (10 individus).

Nombre d'insectes morts :

- D1 = 60 % = 6 individus
- D2 = 60 % = 6 individus
- D3 = 40 % = 4 individus

DL50 de *Tenebrio molitor* = 47,5 %

III.1.4.2 Traitement *de Zophobas morio* par l'HE :

Nombre d'insectes morts :

- D1 = 30 % = 3 individus
- D2 = 50 % = 5 individus
- D3 = 70 % = 7 individus

DL50 de *Zophobas morio* = 50 %

III.1.4.3 Traitement *Les adults* par l'HE :

Nombre d'insectes morts :

- D1 = 60 % = 6 individus
- D2 = 50 % = 5 individus
- D3 = 40 % = 4 individus

DL50 des adultes = 50 %

III.1.5 Discussion :

L'extrait d'huile essentielle du du *pin d'Alep (Pinus halepensis)* a été étudié afin d'évaluer son efficacité contre les larves et les adultes de *Tenebrio molitor* ainsi que contre les larves de *Zophobas morio.*

Nos résultats sont comparables à ceux rapportés dans plusieurs études ayant évalué l'efficacité de l'huile essentielle de Pinus halepensis ainsi que celle des champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae et Beauveria bassiana* contre différents insectes ravageurs.

Dans l'étude réalisée sur *Tribolium castaneum* et *Aphis fabae*, l'huile essentielle de Pinus halepensis a montré une forte activité insecticide. Une mortalité totale de 100 % a été obtenue dès le 3ème jour chez *Aphis fabae*, tandis que chez *Tribolium castaneum*, la mortalité a atteint 100 % au 7ème jour. Les auteurs ont également signalé une augmentation progressive de la mortalité en fonction du temps d'exposition et des doses appliquées.

Les résultats obtenus dans notre étude confirment cette tendance. Chez les larves de *Tenebrio molitor*, une mortalité de 60 % a été observée dès J1 pour les traitements D1 et D2, avec une mortalité totale atteignant 100 % respectivement à J5 et J6. Le traitement D3 a montré une action plus lente avec une DL50 atteinte à J2. Chez les larves de *Zophobas morio*, le traitement D3 s'est révélé le plus efficace avec une mortalité de 70 % dès J1 et une DL50 atteinte avant J1, tandis que les traitements D1 et D2 ont présenté une action plus progressive. Chez les *adultes* de *Tenebrio molitor*, la mortalité a augmenté progressivement jusqu'à atteindre 100 % à J5 pour l'ensemble des traitements.

Concernant les champignons entomopathogènes, *Metarhizium anisopliae* a également montré une activité biologique importante contre les insectes ravageurs. Les travaux antérieurs ont rapporté une mortalité atteignant 100 % au 7ème jour chez *Tribolium castaneum* et au 3ème jour chez *Aphis fabae*. De même, Beauveria bassiana a présenté une efficacité élevée contre plusieurs espèces d'insectes avec des taux de mortalité atteignant 100 %. Selon Kaidi (2004), la mortalité totale de Locusta migratoria a été enregistrée entre le 8ème et le 12ème jour selon la concentration appliquée.

Dans notre étude, les résultats obtenus avec *Metarhizium anisopliae* et *Trichoderma sp*. ont également montré une augmentation progressive de la mortalité au cours du temps. Cependant, *Metarhizium anisopliae* a présenté une efficacité plus importante que *Trichoderma sp*., ce qui peut être expliqué par son caractère entomopathogène reconnu et sa capacité à pénétrer la cuticule de l'insecte, à coloniser ses tissus internes et à provoquer sa mort.

L'ensemble de ces résultats met en évidence l'existence d'un effet dépendant de la dose et du temps d'exposition. Plus la concentration appliquée est élevée et plus la durée d'exposition est longue, plus la mortalité des insectes augmente. Cette observation est en accord avec

La littérature scientifique concernant les huiles essentielles et les champignons entomopathogènes utilisés dans la lutte biologique.

Ainsi, les résultats obtenus confirment que l'huile essentielle de Pinus halepensis, *Metarhizium anisopliae* et *Trichoderma sp*. constituent des agents biologiques prometteurs pour la lutte contre les insectes nuisibles. Néanmoins, *Metarhizium anisopliae* et l'huile essentielle de *Pinus* halepensis apparaissent comme les traitements les plus performants en raison de leur efficacité élevée et de leur rapidité d'action.

.

III.1.6 Conclusion générale :

Cette étude a été réalisée dans le but d'évaluer l'efficacité biologique de deux champignons, *Metarhizium anisopliae et Trichoderma*, ainsi que de l'huile essentielle de *Pinus halepensis* contre *Tenebrio molitor et Zophobas morio.*

Les résultats obtenus avec *Metarhizium anisopliae* ont montré une activité entomopathogène progressive contre les larves de *Tenebrio molitor*. Les premiers cas de mortalité ont été observés environ 12 jours après le traitement, traduisant une action lente du champignon. La mortalité a été enregistrée uniquement dans les doses D1 et D2, tandis qu'aucune mortalité n'a été observée dans la dose D3. Cela montre que l'efficacité du champignon dépend fortement de la concentration appliquée et du temps d'exposition. Chez *Zophobas morio*, aucune mortalité n'a été observée dans les trois doses testées, mais une diminution importante de l'activité et de la mobilité des larves a été constatée, indiquant un effet sublétal du champignon.

Concernant *Trichoderma*, les résultats ont révélé une activité biologique moins importante. Chez *Tenebrio molitor*, le champignon a provoqué une mortalité progressive mais retardée, tandis que chez *Zophobas* morio aucune mortalité n'a été observée. Cependant, une réduction de l'activité locomotrice et des déplacements des larves traitées a été remarquée, ce qui montre que Trichoderma peut influencer le comportement des insectes sans provoquer directement leur mort.

Les essais réalisés avec l'huile essentielle de Pinus halepensis ont montré des résultats très intéressants contre les larves et les adultes des insectes étudiés. Chez les larves de *Tenebrio molitor*, la mortalité a augmenté progressivement dans les trois traitements jusqu'à atteindre 100 %. Dans le lot D1, la mortalité est passée de 0 % à J0 à 60 % à J1 puis à 100 % à J5. Dans le lot D2, elle a atteint 60 % à J1 et 100 % à J6. Le lot D3 a montré une action plus lente avec 40 % de mortalité à J1, 50 % à J2 et 100 % à J7. Les valeurs de DL50 ont montré que D1 et D2 ont atteint la DL50 entre J0 et J1, alors que D3 l'a atteinte à J2.

Chez les larves de *Zophobas morio, l'huile essentielle* a également montré une activité insecticide importante. Le traitement D1 a provoqué une mortalité de 30 % à J1 puis 100 % à J7. Le traitement D2 a atteint 50 % de mortalité dès J1 avant d'atteindre progressivement 100 % à J7. Le traitement D3 a présenté l'effet le plus rapide avec 70 % de mortalité dès J1 et 100 % à J7. La DL50 a été atteinte entre J3 et J4 pour D1, à J1 pour D2 et avant J1 pour D3.

Concernant les adultes de *Tenebrio molitor, l'huile essentielle* a provoqué une augmentation progressive de la mortalité jusqu'à atteindre 100 % à J5 dans les trois lots. Le traitement D1 a montré l'effet le plus rapide avec 60 % de mortalité à J3 et une DL50 comprise entre J2 et J3. Le traitement D2 a atteint 50 % à J3 avec une DL50 atteinte à J3. Le traitement D3 a présenté une action plus lente au début avant d'atteindre 90 % de mortalité à J4 puis 100 % à J5.

Les valeurs globales de DL50 obtenues dans cette étude sont de 47,5 % pour les larves de *Tenebrio molitor*, de 50 % pour les larves *de Zophobas morio* et de 50 % pour les adultes de *Tenebrio molitor*. Ces résultats confirment l'activité insecticide de l'huile essentielle de Pinus

halepensis et mettent en évidence sa capacité à provoquer une mortalité importante chez les différents stades étudiés.

L'ensemble des résultats montre que l'huile essentielle de Pinus halepensis possède une activité insecticide importante et dépendante de la dose appliquée. Les traitements les plus concentrés ont généralement présenté les effets les plus rapides et les plus efficaces. Cette activité pourrait être liée à la présence de composés bioactifs capables d'agir sur le système nerveux et les fonctions physiologiques des insectes.

D'une manière générale, cette étude met en évidence le potentiel des huiles essentielles et des champignons utilisés comme agents biologiques dans la lutte contre les insectes nuisibles. Ces substances naturelles représentent une alternative écologique aux insecticides chimiques grâce à leur efficacité biologique et à leur impact environnemental réduit.

Enfin, il serait intéressant de poursuivre ces travaux en étudiant d'autres concentrations, différentes méthodes d'application ainsi que des durées d'exposition plus longues afin d'améliorer l'efficacité des traitements et de mieux comprendre leurs mécanismes d'action sur les insectes étudiés. Il serait également pertinent d'évaluer l'innocuité de ces traitements sur les organismes non cibles et sur l'environnement, afin de confirmer leur sécurité d'utilisation et de favoriser leur intégration dans des programmes de lutte biologique durable.

Référence Bibliographique :

Aguilar-Miranda, E. D., López, M. G., Escamilla-Santana, C., & Barba de la Rosa, A. P. (2002). Characteristics of maize flour tortilla supplemented with ground Tenebrio molitor larvae. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(1), 192–195.

Ahlawat, O. P., Gupta, P., Kumar, S., Tiwari, M., & Raj, D. (2010). Bioremediation of fungicides by spent mushroom substrate and its associated microflora. Indian Journal of Microbiology, 50(4), 390–395.

Amri, I., Gargouri, S., Hamrouni, L., Hanana, M., Fezzani, T., & Jamoussi, B. (2012). Chemical composition, phytotoxic and antifungal activities of Pinus pinea essential oil. Journal of Pest Science, 85(2), 199–207.

Amri, I., Hamrouni, L., Hanana, M., Gargouri, S., Fezzani, T., & Jamoussi, B. (2013). Chemical composition, physico-chemical properties, antifungal and herbicidal activities of Pinus halepensis Miller essential oils. Biological Agriculture & Horticulture, 29(2), 91–106.

Aribi, N., Quennedey, A., Delachambre, J., & Delbecque, J. P. (1997). Dynamics of ecdysteroids during the postembryonic development of Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae). European Journal of Entomology, 94(1), 89–98.

Atlas, R. M., & Pramer, D. (1990). Focus on bioremediation. ASM News, 56(2), 74.

Bagga, S., Hu, G., Screen, S. E., & Leger, R. J. S. (2004). Reconstructing the diversification of subtilisins in the pathogenic fungus Metarhizium anisopliae. Gene, 324, 159–169.

Barker, D., Fitzpatrick, M. P., & Dierenfeld, E. S. (1998). Nutrient composition of selected whole invertebrates. Zoo Biology, 17(2), 123–134.

Barreto, C. C., Ulhoa, C. J., Alvares, V. S., & Emmerich, D. S. (2004). Heterologous expression of Metarhizium anisopliae protease cloned in Aspergillus nidulans. FEMS Microbiology Letters, 232(2), 209–214.

Bentouati, A. (2006). La durée de vie du pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) dans le massif des Aurès (Algérie). Forêt Méditerranéenne, 27(4), 345–352.

Bhattacharya, A. K., Bhaskaran, G., & Riddiford, L. M. (1970). Pupation in Tenebrio molitor: effects of juvenile hormone on development, cuticle and mRNA. Biological Bulletin, 139(2), 303–315.

Bidochka, M. J., & Small, C. (2005). Phylogeography of Metarhizium, an insect pathogenic fungus. In C. Viegas (Ed.), The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem (3rd ed.). CRC Press.

Bischoff, J. F., Rehner, S. A., & Humber, R. A. (2009). A multilocus phylogeny of the Metarhizium anisopliae lineage. Mycologia, 101(4), 512–530.

Boldo, J. T., Junges, A., do Amaral, K. B., Staats, C. C., Vainstein, M. H., & Schrank, A. (2009). Endochitinase CHI2 of the biocontrol fungus Metarhizium anisopliae affects its

virulence toward the cotton stainer bug Dysdercus peruvianus. Current Genetics, 55(5), 551–560.

Bonnard, M., Parrot, I., Plazanet, N., & Vennetier, M. (2024). Valoriser le Pin d'Alep de Provence sous toutes ses formes : du bois aux huiles essentielles et hydrolats d'aiguilles. Forêt Méditerranéenne, 45, 219–228.

Boudy, P. (1952). Économie forestière Nord-Africaine. Larose.

Braun-Blanquet, J. (1936). La chênaie d'yeuse méditerranéenne (Quercion ilicis) [Mémoire]. SIGMA.

Chandler, D. (2017). Basic and applied research on entomopathogenic fungi. In L. Lacey (Ed.), Microbial control of insect and mite pests (pp. 69–89). Academic Press.

Da Silva, W. O. B., Santi, L., Schrank, A., & Vainstein, M. H. (2005). Metarhizium anisopliae lipolytic activity plays a pivotal role in adhesion and penetration to Boophilus microplus tick cuticle. Research in Microbiology, 156(8), 895–900.

Dahmani, M. (2000). La biodiversité végétale en Algérie. Bilan et perspectives. USTHB.

Debazac, E. F. (1991). Pinacées et Cupressacées. Revue Forestière Française, hors-série 2, 11–29.

DeFoliart, G. R. (1999). Insects as food: why the western attitude is important. Annual Review of Entomology, 44(1), 21–50.

Djerrad, Z., Kadik, L., & Djouahri, A. (2015). Chemical variability and antioxidant activities among Pinus halepensis Mill. essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. Industrial Crops and Products, 74, 440–449.

El Omari, R., Lahmar, A., Abdellaoui, R., Bouhrim, M., Bencheikh, N., Mechchate, H., Noman, O. M., Al-zharani, M., Al-sayed, E., & Elachouri, M. (2021). Pinus halepensis Miller: a literature review of its ethnobotanical uses, phytochemistry, and pharmacological activities. Plants, 10(11), 2458.

Esquivel, J. F., Young, O. P., & Esquivel, M. V. (2012). Sexing live pupae of Alphitobius diaperinus (Coleoptera: Tenebrionidae) in stored product research. Florida Entomologist, 95(3), 796–799.

Fang, W., & Bidochka, M. J. (2007). Expression of genes involved in germination, conidiogenesis and virulence in Metarhizium anisopliae using quantitative real-time RT-PCR. Mycological Research, 111(7), 890–900.

Ferrer, J. (2006). Una nueva especie de Zophobas Blanchard, 1845 (Coleoptera: Tenebrionidae) de Colombia. Elytron, 20, 105–109.

Ferrer, J. (2011). Nota sobre el género Zophobas (Coleoptera: Tenebrionidae). Elytron, 24–25, 37–43.

Finke, M. D. (2002). Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. Zoo Biology, 21(3), 269–285.

Frazzon, A. P. G., Vaz Junior, I. D. S., Masuda, A., Schrank, A., & Vainstein, M. H. (2000). In vitro assessment of Metarhizium anisopliae isolates to control the cattle tick Boophilus microplus. Veterinary Parasitology, 94(1–2), 117–125.

Friederich, U., & Volland, W. (2004). Futtertiere — Zucht und Fütterung. Verlag Eugen Ulmer Stuttgart.

Fursov, V., & Cherney, L. (2018). New data on the distribution of Zophobas morio (Coleoptera, Tenebrionidae) in Ukraine and its taxonomic position. Vestnik Zoologii, 52(3), 253–256.

Guagliumi, P., Jahnke, R., Matos Ferreira, L. G. B., Alves Menezes, M., & Silveira Neto, S. (1974). Pragas da cana de açúcar — Nordeste do Brasil. Instituto do Açúcar e do Álcool.

Hagstrum, D. W., & Subramanyam, B. (2009). A review of stored-product entomology research at the USDA-ARS Center for Grain and Animal Health Research. Journal of Stored Products Research, 45(2), 69–81.

Hu, X., Xiao, G., Zheng, P., Shang, Y., Su, Y., Zhang, X., Sun, X., Zhan, S., St. Leger, R. J., & Wang, C. (2014). Trajectory and genomic determinants of fungal-pathogen speciation and host adaptation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(47), 16796–16801.

Ichikawa, T., & Kurauchi, T. (2009). Larval cannibalism and pupal defense against cannibalism in two species of tenebrionid beetles. Zoological Science, 26(8), 525–529.

Ichikawa, T., Kurauchi, T., & Mori, A. (2012a). Pupal vibrational communication in Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae). Physiology & Behavior, 107(1), 108–112.

Ichikawa, T., Mori, A., & Kurauchi, T. (2012b). Mechanosensory detection of tactile signals by the pupal defense response in Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Ethology, 30(2), 355–362.

Ichikawa, T., & Sakamoto, H. (2013). Abdominal rotational movement of pupae of a tenebrionid beetle Zophobas atratus after vibrational stimulation. Physiological Entomology, 38(1), 69–75.

Ignoffo, C. M., Garcia, C., & Hostetter, D. L. (1977). Effects of temperature on growth of Nomuraea rileyi from soybean insects. Environmental Entomology, 6(2), 261–264.

Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M., & Strasser, H. (2001). Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In T. M. Butt, C. Jackson & N. Magan (Eds.), Fungi as biocontrol agents (pp. 23–69). CABI Publishing.

Jangir, M., Pathak, R., Sharma, S., & Sharma, S. (2017). Biocontrol mechanisms of Bacillus sp., isolated from tomato rhizosphere against Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. Biological Control, 123, 60–70.

Jarrold, S. L., Moore, D., Potter, U., & Charnley, A. K. (2007). The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. Mycological Research, 111(8), 949–959.

Kadik, L. (1983). Contribution à l'étude du pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) en Algérie : écologie, dendrométrie, morphologie [Thèse d'État]. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène.

Kadik, L. (1987). Le pin d'Alep en Algérie : phytoécologie, croissance, production. Office National des Publications Universitaires.

Karahakane, T. (2015). Les insectes ravageurs des denrées stockées : biologie et méthodes de lutte. Phytoma — La Défense des végétaux, 682, 30–35.

Kim, S.-Y., Kim, H.-G., Lee, S.-M., Yoon, Y.-I., Kim, S.-H., & Jo, Y.-H. (2015). Rearing conditions of Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae) at different temperatures, humidity levels, and densities. Journal of Asia-Pacific Entomology, 18(3), 535–541.

Klasing, K. C., Bhargava, M. K., & Cuong, V. T. (2000). The nutritional composition of mealworms as a food source for breeding songbirds: A comparison with crickets. Zoo Biology, 19(6), 498–502.

Kotaki, T., Nakakita, H., Kuwahara, Y., Moriya, S., & Shinoda, T. (1993). Inhibition of adult emergence by larval crowding in Tribolium freemani Hinton (Coleoptera: Tenebrionidae). Applied Entomology and Zoology, 28(3), 403–410.

Kurauchi, T., Mori, A., & Ichikawa, T. (2011). Mechanosensory neurons on the pupal surface of Zophobas atratus (Coleoptera: Tenebrionidae). Zoological Science, 28(2), 152–157.

Latch, G. C. M., & Falloon, R. E. (1976). Studies on the use of Metarhizium anisopliae to control Osteocephalotes host (Coleoptera: Cerambycidae). Entomophaga, 21(4), 351–360.

Letreuch-Belarouci, M. N., Letreuch-Belarouci, A., Letreuch-Belarouci, N., & Hamel, T. (2009). Conservation of Pinus halepensis Mill. genetic diversity in Algerian forest stands. African Journal of Biotechnology, 8(14), 3256–3264.

Lubeck, I., Arruda, W., Borges, B. K., da Silva, W. O., Vainstein, M. H., Thomaz-Soccol, V., & Schrank, A. (2008). Induction of protein secretion in Metarhizium anisopliae by tick cuticle. Brazilian Archives of Biology and Technology, 51(5), 911–920.

Marcuzzi, G. (1984). A catalogue of tenebrionid beetles (Coleoptera: Heteromera) of the West Indies. Folia Entomologica Hungarica, 45(2), 69–108.

Martin, R. D., Zucker, E. L., & Kaplan, J. R. (1976). Nutritional value of insects for human consumption. In R. I. Sailer (Ed.), Insects: Proceedings of a Symposium. Smithsonian Institution.

Meddour, R. (1983). Les peuplements forestiers du littoral algérien [Thèse de Magistère]. Université d'Alger.

Mishra, J., Tewari, S., Singh, S., & Arora, N. K. (2016). Biopesticides: where we stand? In N. K. Arora (Ed.), Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets (pp. 37–75). Springer.

Molinier, R. (1934). Études phytosociologiques et écologiques en Provence occidentale. Annales du Musée d'Histoire Naturelle de Marseille, 27(1), 1–274.

Müller-Kogler, E., & Stein, W. (1976). Kulturverfahren für insektenpathogene Pilze und Keimprüfung der Konidien. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz, 83, 243–263.

Nahal, I. (1962). Le pin d'Alep (Pinus halepensis Mill.) : étude botanique, écologique, sylvicole et économique. Annales de l'École Nationale des Eaux et Forêts, 19(2), 533–627.

Nakakita, H. (1982). Inhibition of pupation of Tribolium freemani Hinton (Coleoptera: Tenebrionidae) by larvae of the same species. Applied Entomology and Zoology, 17(2), 205–215.

Ng, W. K., Liew, F. L., Ang, L. P., & Wong, K. W. (2001). Potential of mealworm (Tenebrio molitor) as an alternative protein source in practical diets for African catfish, Clarias gariepinus. Aquaculture Research, 32(1), 273–280.

Phillips, T. W., & Throne, J. E. (2010). Biorational approaches to managing stored-product insects. Annual Review of Entomology, 55(1), 375–397.

Poveda, J. (2020a). Cyanobacteria in plant health: biological alternatives to the use of chemical fertilizers and pesticides. Agronomy, 10(7), 1008.

Poveda, J. (2020b). Trichoderma as biocontrol agent against pests: new uses for a mycoparasite. Biological Control, 144, 104204.

Poveda, J., Abril-Urias, P., & Escobar, C. (2019a). Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: Trichoderma, mycorrhizal and endophytic fungi. Frontiers in Microbiology, 11, 992.

Poveda, J., Eugui, D., & Velasco, P. (2019b). Natural control of plant pathogens through glucosinolates: an effective strategy against fungi and oomycetes. Phytochemistry Reviews, 19, 1045–1059.

Quennedey, A., Aribi, N., Everaerts, C., & Delbecque, J. P. (1995). Postembryonic development of Zophobas atratus Fab. (Coleoptera: Tenebrionidae) under crowded or isolated conditions and effects of juvenile hormone analogue applications. Journal of Insect Physiology, 41(2), 143–152.

Quézel, P. (1980). Biogéographie et écologie des conifères sur le pourtour méditerranéen. In R. Pesson (Ed.), Actualités d'écologie forestière. Gauthier-Villars.

Quézel, P. (1986). Les pins du groupe halepensis : écologie, végétation, écophysiologie. In G. Debazac (Ed.), Options Méditerranéennes, Série Séminaires (Vol. 1, pp. 11–23). CIHEAM.

Quézel, P., & Médail, F. (2003). Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. Elsevier Masson.

Ramos-Elorduy, J. (1997). Insects: a sustainable source of food? Ecology of Food and Nutrition, 36(2–4), 247–276.

Ramos-Elorduy, J., González, E. A., Hernández, A. R., & Pino, J. M. (2003). Nutritional content and energetic value of some edible insects of México. Revista de Biologia Tropical, 51(2), 501–509.

Rifai, M. A. (1969). A revision of the genus Trichoderma. Mycological Papers, 116, 1–56.

Roberts, D. W. (1976). Ecology of Beauveria and Metarhizium. In P. A. Batista & A. R. Bezerra (Eds.), Proceedings of the 1st international colloquium on invertebrate pathology (pp. 47–52).

Silva, W. O. B., Santi, L., Berger, M., Pinto, A. F. M., Guimarães, J. A., Schrank, A., & Vainstein, M. H. (2009). Characterization of a spore surface lipase from the biocontrol agent Metarhizium anisopliae. Process Biochemistry, 44(8), 829–834.

Sindhu, S. S., Sehrawat, A., Sharma, R., Dahiya, A., & Khandelwal, A. (2017). Biopesticides: use of rhizosphere bacteria for biological control of plant pathogens. Defense Life Science Journal, 2(2), 136–154.

Singh, S., Singh, H. B., Prabha, R., & Saxena, A. K. (2019). Emerging options for the management of plant diseases through novel biocontrol agents. Journal of Plant Pathology, 101, 869–878.

Solanki, M. K., Wang, Z., Wang, F. Y., Li, C. N., Xing, Y. X., & Yang, L. T. (2019). Intercropping in sugarcane cultivation influenced the soil microbiome and disease severity caused by Fusarium sacchari on sugarcane plants. Journal of Sugarcane Research, 9(1), 42–59.

St. Leger, R. J., Cooper, R. M., & Charnley, A. K. (1987). Production of cuticle-degrading enzymes by the entomopathogen Metarhizium anisopliae during infection of cuticles from Calliphora vomitoria and Manduca sexta. Journal of General Microbiology, 133(5), 1371–1382.

St. Leger, R. J., Joshi, L., Bidochka, M. J., & Roberts, D. W. (1996). Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. Proceedings of the National Academy of Sciences, 93(13), 6349–6354.

Tschinkel, W. R. (1984). Zophobas atratus (F.) and Z. rugipes Kirsch (Coleoptera: Tenebrionidae): sibling species with different mating systems. Annals of the Entomological Society of America, 77(5), 534–542.

Tschinkel, W. R. (1993). Sociometry and sociogenesis of colonies of the fire ant Solenopsis invicta during one annual cycle. Ecological Monographs, 63(4), 425–457.

Tschinkel, W. R., & Willson, C. D. (1971). Inhibition of pupation due to crowding in some tenebrionid beetles. Journal of Experimental Zoology, 176(4), 137–145.

Waingo, A., Boudreau, L. M., & Hunt, N. J. (2013). Stored grain insect pest management under current climate variability. Journal of Stored Products Research, 55, 82–93.

Wang, C., Fan, M., Li, Z., & Butt, T. M. (2002). Molecular monitoring and evaluation of the application of the insect-pathogenic fungus Beauveria bassiana in southeast China. Journal of Applied Microbiology, 92(3), 441–450.

Wang, C., & St Leger, R. J. (2007). The MAD1 adhesin of Metarhizium anisopliae links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. Eukaryotic Cell, 6(5), 808–816.

Yuan, M. L., Zhang, Q. L., Zhang, L., Guo, Z. L., Liu, Y. J., Shen, Y. H., & Zhu, C. D. (2012). High-level diversity of the complete mitochondrial genome of the Yellow Mealworm beetle Tenebrio molitor (Coleoptera: Tenebrionidae). Gene, 492(1), 308–316.

Zettler, J. L., & Arthur, F. H. (2000). Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. Crop Protection, 19(8–10), 577–582.

Zhang, F., Zhu, Z., An, X., Li, F., Qi, J., & Guo, J. (2018). Advanced biocontrol agents — Trichoderma asperellum and T. harzianum — exhibited promising biocontrol potential against Sclerotinia stem rot of oilseed rape. European Journal of Plant Pathology, 152, 729–741.

Zimmermann, G., & Butin, H. (1973). Untersuchungen über Hitzewiderstand und Feuchteansprüche holzbesiedelnder Schimmelpilze. Flora, 162(5), 393–419.

Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of Trichoderma spp. for agriculture applications. Annals of Agricultural Sciences, 65(2), 168–178.