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 des sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En Sciences Agronomique

Spécialité : Phytopathologie

Thème

Effets biologiques des extraits des plantes et des champignons entomopathogènes contre les insectes et les ravageurs des denrées stockés

Présenté par :

Melle BELKACEM Rabia

Soutenue le : 25/06/2024

Devant le jury composé de :

Mme. CHAOUATI Karima	MAA	U. Médéa	Présidente
Mr. KIRDI Bilel	MAA	U. Médéa	Examinateur
Dr. CHAOUCH Abderrezak	MCA	U. Médéa	Encadreur

Année universitaire 2023/2024

Dédicaces

Je dédie cet humble travail aux personnes les plus précieuses de ma vie

❖A mes chers parents, que Dieu les protège pour moi

❖Frère et sœur et mon cher frère et de mon âme et mon neveu wasim

❖Toute ma famille et surtout monfianc

Mes amies et collègues groupe phytopathologie

❖Tous ceux qui me connaissent il me rappelle de bonnes choses.

RABIA



Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a accordé tout au long de ces années afin que je puisse terminer mon parcours. Je commence par exprimer ma gratitude à mon encadreur Dr. CHAOUCH Abderrezak sans lui le travail n'aurait pas abouti. Un grand merci aux membres de jury composé de Madame Chaouti karima qui préside mon jury et Monsieur Kirdi bilal qui examine ce travail. Je remercie également tous les enseignants qui m'ont aidé en particulier Mlle. Slifi Malika. qui m'ont conseillés et soutenus lors de ce travail.

Enfin, un grand merci pour tous ceux du département de SNV enseignants étudiants et qui de près ou de loin ont participé à ce travail pour leurs encouragements.



RABIA

Résumé

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 et l'effet d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* contre le *Tribolium castaneum* et le l'*Aphis fabae*. Cette étude, a montré que l'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep est très efficace contre les deux insectes (*Tribolium* et puceron), cette efficacité varie en fonction de la dose utilisée, le temps et de l'insecte. On constate que plus qu'on augmente la dose, le taux de mortalité augmente pour les deux insectes et plus que temps passe, la mortalité devient plus importante. L'étude a révélé que la mortalité chez le *Trifolium* commence après j1 par D1 (5.2 ml soit 100%), D2 (3.2 ml soit 75%) et D3 (2.6 ml soit 50%) du l'extrait d'huile essentielle respectivement de 29% et 7,5% et 25%, pour atteindre les 100% au j7. L'étude a révélé, que la mortalité chez le puceron a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1 et D2 et D3 du l'extrait d'huile essentielle respectivement de 29 % et 7,5 % et 25 %, elle atteint 100% au j3 pour les trois doses D1 et D2 et D3.

Après le traitement de *Tribolium* par *M. anisoplie* la 1ère mortalité a commencé le j1 pour les trois doses D1 (6,25 X 10^7 sp/ml) D2 (6,25 X 10^6 sp/ml) D3 (6,25 X 10^5 sp /ml) du *M. anisoplie*, avec un taux respectivement de 20%, 13% et 10%, pour atteindre les 100% au j7. Le taux de mortalité passe de 20% (j2) à 80% au j6 pour la D1. La mortalité chez le puceron traités par *M. anisopliae* a commencé après j1 de pour les trois doses respectivement de 29%, 7,5% e t25%. Pour le j2 jour, la mortalité a augmenté vers 100% pour D1, 30% pour D2 et 35% pour D3 pour atteindre les 100% au 4ème jour pour les trois doses. Pour les témoins, aucune mortalité n'a été enregistré durant toute la période de l'essai.

Le calcul de la DL50 a révélé que pour le traitement de Tribolium par l'HE, la DL50 est de 36.17 ml soit 0.7 ml (13.46%) et pour traiter les pucerons, la DL50 d'huil essentielle est égale à 1.734 ml (33.33%). Alors que, pour tuer 50% de la population de tribolium par le champignon, il faut que dose soit 6,2 48X 10^5 spore/ml et pour les pucerons est égale à 6,249X 10^5 spore/ml.

Mots clés : Lutte biologique, *Metarhizium anisopliae, Tribolium castaneum,* pin d'Alep, *Aphis fabae*

Summary

Biological Effects of Plant Extracts and Entomopathogenic Fungi Against Insects and Stored Product Pests

Our study is part of biological control and involves testing the laboratory effects of the essential oil extract from Aleppo pine leaves and the entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae against Tribolium castaneum and Aphis fabae. This study showed that the essential oil extract from Aleppo pine is highly effective against both insects (Tribolium and aphid), with effectiveness varying depending on the dose, time, and insect. We found that increasing the dose increases the mortality rate for both insects, and the longer the time, the higher the mortality rate becomes.

The study revealed that mortality in Tribolium starts after day 1 with D1 (5.2 ml or 100%), D2 (3.2 ml or 75%), and D3 (2.6 ml or 50%) of the essential oil extract, respectively, at 29%, 7.5%, and 25%, reaching 100% by day 7. For the aphid, mortality began after the first day of treatment with the three doses (D1, D2, and D3) of the essential oil extract at 29%, 7.5%, and 25%, reaching 100% by day 3 for all three doses.

After treating Tribolium with M. anisopliae, the first mortality was observed on day 1 for the three doses (D1: 6.25 x 1010^7 sp/ml, D2: 6.25 x 1010^6 sp/ml, D3: 6.25 x 1010^5 sp/ml) with rates of 20%, 13%, and 10%, respectively, reaching 100% by day 7. The mortality rate increased from 20% (day 2) to 80% on day 6 for D1. For aphids treated with M. anisopliae, mortality began after day 1 for the three doses at 29%, 7.5%, and 25%. On day 2, mortality increased to 100% for D1, 30% for D2, and 35% for D3, reaching 100% by day 4 for all three doses. No mortality was recorded in the control group throughout the trial period.

The calculation of LD50 revealed that for treating Tribolium with the essential oil, the LD50 is 36.17 ml, equivalent to 0.7 ml (13.46%), and for treating aphids, the essential oil's LD50 is 1.734 ml (33.33%). To kill 50% of the Tribolium population with the fungus, the dose must be 6.248 x 1010^5 spores/ml, and for aphids, it is 6.249 x 1010^5 spores/ml.

Keywords : Biological control, *Metarhizium anisopliae*, *Tribolium castaneum*, Aleppo pine, *Aphis fabae*

الملخص

التأثيرات البيولوجية لمستخلصات النباتات والفطريات الممرضة للحشرات ضد الحشرات وآفات المواد المخزونة

تندرج دراستنا ضمن إطار المكافحة البيولوجية، حيث تتضمن اختبار تأثير مستخلص الزيت العطري لأوراق الصنوبر الحلبي وتأثير الفطر الممرض للحشرات Metarhizium anisopliae ضد حشرة Tribolium castaneum والمنّ الأسود Aphis fabae في المختبر. أظهرت هذه الدراسة أن مستخلص الزيت العطري للصنوبر الحلبي فعال جداً ضد الحشرتين (Tribolium والمنّ)، وتتفاوت هذه الفعالية حسب الجرعة المستخدمة، الوقت، ونوع الحشرة. لاحظنا أنه كلما زادت الجرعة، زاد معدل الوفيات للحشرتين، وكلما طال الوقت، زادت الوفيات بشكل أكبر.

كشفت الدراسة أن الوفيات لدى حشرة Tribolium تبدأ بعد اليوم الأول بجرعات D1 (5.2 مل أو 100%)، D2 (3.2 مل أو 75%) و D3 (2.6 مل أو 50%) من مستخلص الزيت العطري، حيث كانت النسب على التوالي 29%، 7.5% و 25%، لتصل إلى 100% في اليوم السابع. وبالنسبة للمنّ، بدأت الوفيات بعد اليوم الأول من العلاج بالجرعات الثلاث D1 و D2 و D3 من مستخلص الزيت العطري بنسب 29%، 7.5% و 25% على التوالي، لتصل إلى 100% في اليوم الثالث لجميع الجرعات الثلاث.

بعد معالجة حشرة Tribolium بالفطر M. anisopliae، بدأت الوفيات في اليوم الأول للجرعات الثلاث D1 (6.25×10^7بوغ/مل)، D2 (6.25×10^6 بوغ/مل) و D3 (6.25×10^5 بوغ/مل) بنسب 20%، 13% و 10% على التوالي، لتصل إلى 100% في اليوم السابع. ارتفع معدل الوفيات من 20% في اليوم الثاني إلى 80% في اليوم السادس لجرعة D1. وفيما يخص المنّ، بدأت الوفيات بعد اليوم الأول للجرعات الثلاث بنسب 29%، 7.5% و 25% على التوالي. في اليوم الثاني، ارتفعت الوفيات إلى 100% لجرعة D1، و30% لجرعة D2، و35% لجرعة D3 لتصل إلى 100% في اليوم الرابع لجميع الجرعات الثلاث. لم تسجل أي وفيات في المجموعة الضابطة طوال فترة التجربة.

أظهر حساب LD50 أن الجرعة اللازمة لعلاج Tribolium باستخدام الزيت العطري هي 36.17 مل، أي ما يعادل 0.7 مل (13.46%)، ولعلاج المنّ، تكون LD50 للزيت العطري 1.734 مل (33.33%). أما لقتل 50% من سكان Tribolium باستخدام الفطر، فإن الجرعة اللازمة هي 6.248×10^5 بوغ/مل، وللمنّ، هي 6.249×10^5 بوغ/مل.

الكلمات المفتاحية : المكافحة البيولوجية، *Metarhizium anisopliae*، *Tribolium castaneum*، الصنوبر الحلبي، *Aphis fabae*

Liste des figures

N°	Titre de la figure	Page
1	Dociostaurus maroccanus infecté par Metarhizium anisopliae	04
2	(a) et (b) Aspect microscopique de Metarhizium anisopliae	05
3	Cycle de développement du champignon Metarhizium anisopliae	06
4	Mode de pénétration des champignons entomopathogènes dans la cuticule des insectes.	07
5	Vue dorsale d'un adulte T. confusum	10
6	Vues dorsale et ventrale de nymphes de Tribolium confusum	11
7	cycle de développement de Tribolium confusum	12
8	Les dégâts causés par Tribolium confusum	12
9	Morphologie d'un puceron ailé	15
10	Cycle complet, avec alternance entre une phase de multiplcation asexué	17
11	pin d'Alep	18
12	Les aiguilles et les cônes de pin d'Alep (A : cône femelle, B : cône mâle)	19
13	l'écorce du pin d'Alep	20
14	Schéma représentatif des différentes parties de pin d'Alep	21
15	Aire de répartition du pin d'Alep dans la zone méditerranéenne	22
16	Aire de répartition de pin d'Alep en Algérie	23
17	Solution de Metarhizium anisopliae	24
18	élevage en masse de Tribolium confusum	25
19	Elevage d'Aphis fabae	25
20	Les différentes masses des poudres d'extraction	27
21	Macération des solutions de pin d'Alep	27
22	Filtration d'extrait de pin d'Alep	22
23	Evaporation de l'extrait de la plante pin d'Alep par rota vapeur	29
24	Sechage la plantde pin dalep	29
25	les étapes d'extraction aqueux	31

26	Montage d'hydrodistillation manipulé	32
27	Etapes d'éxtraction des huiles essentielles	33
28	Traitement des insectes par les huiles essentielle	34
29	Traitement des pucerons par les huiles essentielles	35
30	Poudre de M. anisoplie var. acridum	36
31	Préparation de la solution fungique mère de M. anisoplie	37
32	cellule de Malassez	38
33	Traitement de Tribolium par les de M. anisopliae	39
34	Traitement des pucerons par les de M. anisopliae	40
35	Chambre d'élevage conditionné	41
36	Pourcentage de mortalité chez Trifolium traité par HE	45
37	Pourcentage de mortalité de pucreon traité par HE	46
38	Pourcentage de mortalité de Trifolium traité par le champignon	47
39	Pourcentage de mortalité de puceron traité par le champignon	48

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre de tableau	Page
Tableau 01	Le matériel utilisé au laboratoire	26
Tableau 02	Les quantités de la poudre de pin d'Alep	30
Tableau 03	Calendrier des traitements et des observations.	36
Tableau 04	Pourcentage de mortalité de chez le Trifolium traité par HE	44
Tableau 05	Pourcentage de mortalité de puceron traité par HE	45
Tableau 06	Pourcentage de mortalité de Trifolium traité par le champignon	47
Tableau 07	Pourcentage de mortalité de puceron traité par le champignon	48
Tableau 08	Calculer la DL50 pour l'huit essentielle contre le Triblium	49
Tableau 09	calculer la DL50 pour l'huit essentiel contre le puceron	50
Tableau1 0	Calculer de la DL50 pour la Metarhizium anisoplie contre Triblium	50
Tableau 11	Calculer la DL50 pour la Metarhizium anisoplie contre puceron	50

Table des matières

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.1. *Le champignon entomopathogène Metarhizium anisopliae.....3*

a) Généralité.....3

b) Description 3

c) Morphologie 3

d) Taxonomie et classification.....3

e) Caractères morphologiques et culturaux.....4

f) Historique de Metarhizium anisopliae.....5

g)Mode d'infection de Metarhizium anisopliae.....6

1.2. Les insectes des denrées stockées triboluim 8

1.2.1. Les Tenebrionidae.....8

a) Les ravageurs primaires.....8

b) Les ravageurs secondaires.....9

c) Les principaux insectes des céréales stockées..... 9

1.2.2. Classification et position systématique de T. confusum.....9

1.2.3. Origine et répartition géographique ;..... 10

1.2.4. Description morphologique des différents stades de développement de Tribolium confusum 10

e) Cycle de développement de Tribolium confusum.....11

II.7. Les dégâts causés par Tribolium confusum 12

f) Méthodes de lutte contre le Tribolium confusum 13

1.3. Le puceron noir 14

a) Généralités sur les pucerons.....14

b) Classification.....14

c) Morphologie des pucerons.....14

d) Biologie des pucerons.....15

e) Cycle biologique 16

1.4. Données sur le pin d'Alep (Pinus halepensis, mill).....17

1.4.1. Introduction 17

1.4.2. Systématique du pin d'Alep..... 18

1.4.3. Description botanique du pin d'Alep.....19

14.4. Aire de répartition du pin d'Alep……21

a) Dans le bassin Méditerranéen……21

b) En Algérie……22

1.4.5. Usage du pin d'Alep……23

CHAPITRE II : matériels et méthodes

2.2. Matériel de travail……24

2.2.1 Matériel fongique ……24

2.2.2. Matériel animal……24

a) *Tribolium confusum……24*

b) Puceron noir……25

2.2.3. Matériel du laboratoire ……26

2.3. Les méthodes de travail……26

2.3.1. L'extraction hydroalcoolique ……26

2.3.2 Principe d'extraction du pin d'Alep,……26

2.3.3. Protocol d'extraction…… 26

a) Séchages et broyages……26

b- Macération……27

C- Filtration……28

d- Evaporation …… 28

E. Étuvage :……29

f) Préparation d'extraction aqueuse……30

2.3.4. Extraction des huiles essentielles……32

2.3.5. Préparation des doses d'application……33

2.3.6. Traitement des insectes par les huiles essentielles ……34

a) Traitement de Tribolium……34

b) Compactages……35

c) Traitement contre les pucerons……34

d) Compactages……35

2.3.7. Préparation des doses de champignons……36

2.3.8. Comptage des spores et détermination des concentrations……37

2.3.9. Traitement par le champignon entomopathogène……39

a) Traitement de Tribolium……39

b) Compactages……39
c) Traitement des pucerons……40
d) Compactages……40
e) Calcul du pourcentage de mortalité journalière. ……41
2.3.10. Calcule de la DL50 ……42
Chapitre III : résultats des discussions
III.1. Résultats ……44
3.1.1. Effet de l'extrait d'huile essentielle contre le *Tribolium* ……*44*
3.1.2 Effet de l'extrait d'huile essentielle contre le puceron *Aphis fabae*……*45*
III.2.1. Etude de l'effet de *Metarhizium anisoplie* contre *Tribolium*……*46*
III.2.2. Effet de *Metarhizium anisopliae* contre le puceron……48
III.2.3. Calcule de la DL50 des huiles essentielles ……49
a) Traitement de Tribolium par l'HE……49
b)) Traitement de puceron parl'HE ……50
c) Traitement de *Tribolium* par le champignon…… 50
d) d) Traitement de *Tribolium* par le puceron……50
III.2. *Discussion …… 51*

Introduction Générale

La préservation des denrées stockées représente un enjeu crucial pour la sécurité alimentaire mondiale. Les insectes ravageurs constituent une menace majeure pour les stocks de céréales et d'autres produits agricoles, entraînant des pertes économiques significatives et compromettant la qualité des aliments. Face à l'usage intensif de pesticides chimiques, qui soulève des préoccupations environnementales et sanitaires, la recherche de méthodes alternatives de lutte contre ces ravageurs s'avère indispensable (Zettler & Arthur 2000).

La lutte biologique se distingue comme une approche prometteuse et durable. Elle repose sur l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits dérivés pour réduire les populations de ravageurs (Phillips & Throne 2010). Notre étude s'inscrit dans ce cadre et vise à évaluer en laboratoire l'efficacité de deux agents biologiques : l'extrait d'huile essentielle des feuilles du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) et le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae*.

L'huile essentielle de pin d'Alep, connue pour ses propriétés insecticides, sera testée contre deux ravageurs spécifiques : le *Tribolium castaneum*, un des principaux ennemis des céréales en stock, et le puceron de la fève, *Aphis fabae*. *Tribolium castaneum*, communément appelé le tribolium rouge de la farine, est un coléoptère particulièrement destructeur des grains stockés. *Aphis fabae*, quant à lui, est un puceron nuisible à plusieurs cultures, dont la fève, causant des dommages directs et indirects par la transmission de maladies.

Metarhizium anisopliae est un champignon entomopathogène reconnu pour son efficacité à infecter et à tuer divers insectes ravageurs (Butt & Magan 2001). L'utilisation combinée de l'huile essentielle et du champignon pourrait offrir une solution synergique et écologique pour la gestion des ravageurs des denrées stockées.

Ce travail, explore donc les effets biologiques de ces agents sur les insectes cibles, avec l'objectif de déterminer leur efficacité, les doses optimales et les mécanismes d'action impliqués. Les résultats obtenus pourront contribuer au développement de stratégies de lutte biologique plus sûres et plus efficaces, réduisant ainsi la dépendance aux pesticides chimiques et leurs impacts négatifs sur l'environnement et la santé humaine.

Introduction Générale

Le présent travail comprend trois chapitres. Le premier portera sur les données bibliographiques des deux ravageurs étudiés : *Tribolium castaneum* et *Aphis fabae* ainsi la plates et le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* utilisés dans la présente étude. Le second porte sur le matériel et les méthodes de travail adoptés dans cette étude. Enfin le troisième est consacré aux résultats et discussions.

1.1. Le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae*

a) Généralité :

Les champignons entomopathogènes Sont des agents pathogènes eucaryotes qui provoquent des maladies chez les insectes, représentent un vaste groupe hétérogène. Ils se répartissent en 700 espèces appartenant approximativement à 100 ordres. Ce type de champignons possèdent des noyaux, des organites bien définis et une paroi chitineuse. Se présentent parfois sous forme de cellules individuelles, mais le plus souvent sous forme de filament constituant le mycélium et dans lesquels sont rangées les cellules. Leur reproduction se fait par formation de spores sexuées ou asexuées.

Ils peuvent être transmis de trois façons, au sein d'une population d'insectes : horizontalement (au sein d'une même génération par des individus infectés), verticalement (entre générations) ou être déplacés par des vecteurs. Cette troisième méthode joue un rôle important dans la dissémination des champignons vers de nouveaux habitats.

Ils appartiennent au sous-taxon des Mastigiomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina et Deuteuromycotina. Le plus grand nombre de pathogènes se trouvent dans la classe des Zygomycètes, mais les plus utilisées en lutte biologique proviennent des Deutéromycètes dont on connaît reproduction asexuée (champignon imparfait), comme les espèces de genre metarhizium sont les plus utilisées en lutte biologique (Wraight et Roberts, 1987 ; Goettel, 1992) et ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et sont donc l'objet d'études de plus en plus poussées.

b) 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)

c) 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 » .

d) Taxonomie et classification

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*



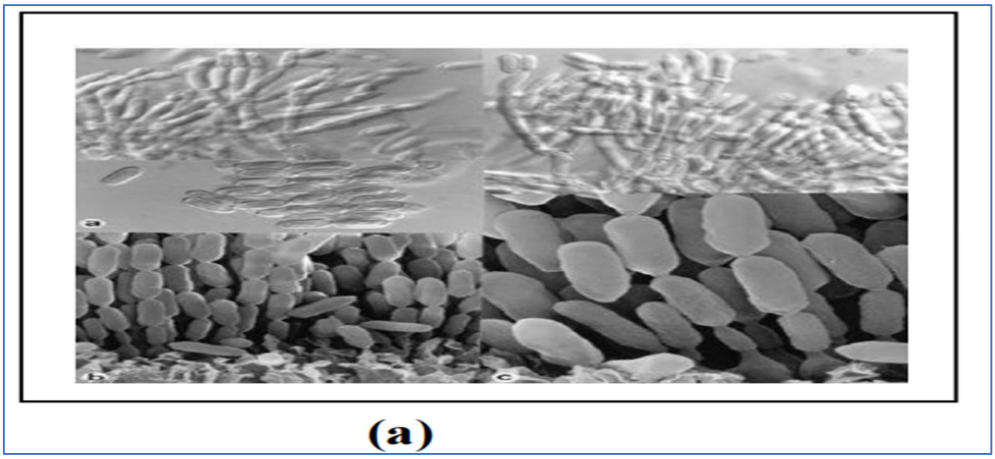
Figure 1 : *Dociostaurus maroccanus* infecté par *Metarhizium anisopliae* (CHAOUCH, 2009)

e) Caractères morphologiques et culturaux

- **Aspect microscopique**

Un échantillon déposé sur une lame qui est couvert par une lamelle, puis observées au microscope optique. Le *Metarhizium anisopliae* est caractérisée par un mycélium cloisonné, des conidiophores de longueur variable, courte, irrégulièrement ramifiées ou non et arrangés en groupes compacts formant une masse de spores, Leur aspect microscopique, montre que leur fructification se

fait sous forme de phialides ; ces derniers donnent naissance aux conidies ou phialospores.Les phialides peuvent être uniques, en paires ou plusieurs,ont une forme cylindrique ou légèrement gonflés. Les spores étant allongées avec des cotés parallèles (Bischoff et al., 2009)



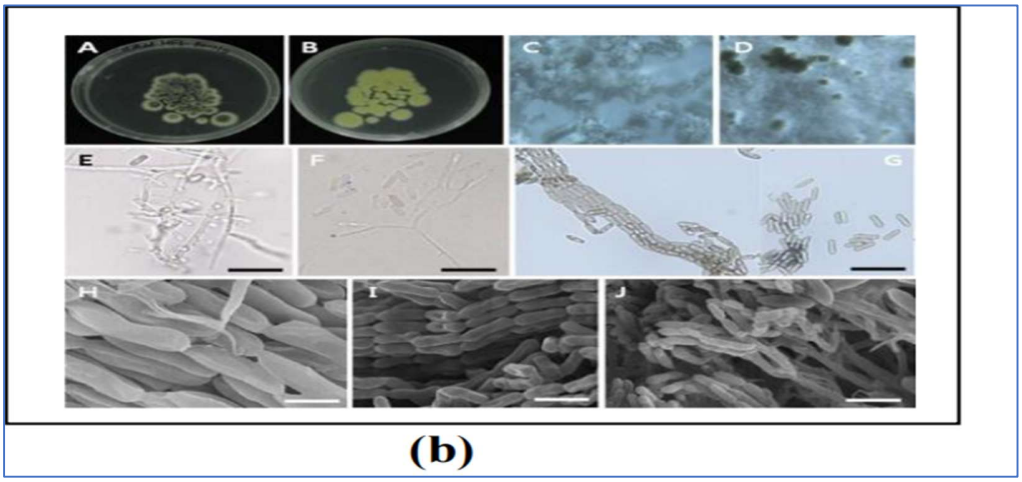


Figure 2 : (a) et (b) Aspect microscopique de *Metarhizium anisopliae* (Bischoff *et al.,2009*)

e) Historique de *Metarhizium anisopliae*

Dans les années 80, le champignon *Metarhizium anisopliae* était le premier pathogène utilisé par le Russe Eli Metchinnicoff contre des insectes ravageurs des cultures, mais il note aussi la présence des spores de tailles différentes pour la même espèce, En Ukraine Il a été identifié sur la paille de céréale sous le nom Anisopliae austria ou il l'a nommé *Entomophtora anisoliae*.

f) Mode d'infection de *Metarhizium anisopliae*

Les champignons pénètrent directe à travers la cuticule pour infecter les insectes par contrairement aux autres microorganismes (virus, bactéries, nématodes, protozoaires) où l'infection de l'hôte découle de leur ingestion obligatoire, (Clarkson et al., 1996) (figure 4) et une fois le champignon affecte l'insecte cible, il entame la production d'hyphes pour ce faire le champignon doitsurmonter les réactions immunitaires de l'hôte.

Le champignon croît rapidement dans l'hémocoele. Les insectes susceptibles au champignon meurent généralement dans un délai de 3 à 10 jours. Quand l'insecte meurt, le champignon entre dans un stade hyphal, colonise les organes internes puis sporule à la surface de 1' insecte (fig. 3 et 4).

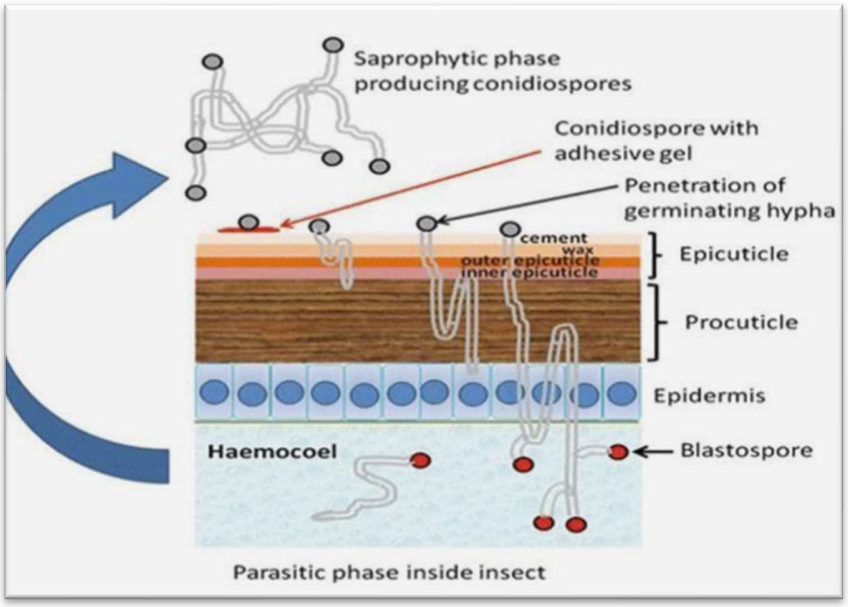


Figure 3 : Mode de pénétration des champignons entomopathogènes dans la cuticule des insectes. (Clarkson et al.,1996).

- **La phase d'adhésion** : L'adhésion est la première étape du processus d'infection. Les spores entrent en contact passivement avec les insectes à l'aide des agents naturels tels que le vent et l'eau. L'attachement des spores a la cuticule incluent des phénomènes plus actifs ; Les spores transportées mécaniquement se fixent sur la cuticule de l'insecte en produisant une couche de mucus adhésif (Leger et al., 1989, donc L'adhésion est déclenchée par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des spores avec le tégument de l'insecte.
- **La phase de germination** : La seconde phase d'infection est la germination. Celle-ci dépend à des conditions environnementales, telle que la température et l'humidité et aussi de l'état physiologique de l'hôte (Butt et Becket et al., 1994). La germination aboutit à la production d'appressoria,

structures terminales servant à l'ancrage de la cuticule et favorisant la pénétration, et La valeur nutritive de la cuticule joue un rôle important pour la production d'appressoria. Le champignon puise les éléments nutritifs dans le milieu environnant. les conidies donnent naissance à un tube germinatif Sa longueur varie selon le contenu de la cuticule et ça Au niveau de la cuticule. (Leger et al., 1989 ; Bidoshka et al., 1997).

- **La phase de pénétration** : La pénétration de Metarhizium anisopliae dans l'hôte s'effectue généralement à travers la cuticule de l'insecte, cette pénétration est assurée par la formation d'un appressorium : c'est un hyphe de pénétration qui dégrade la cuticule de l'insecte après une action enzymatique (Bidoshka et al., 1997). Une fois la cuticule hydrolysée des hyphes se développent dans l'hemocèle en blastopores. L'hémolymphe des insectes est complexe avec une composition de nitrogène et de carbone, source de nutriments pour les champignons. Au niveau de l'hémolymphe le champignon secrète des toxines sous le nom de destruxine cyclodepeptidase.

Elle serait impliquée dans un mécanisme cellulaire bloquant le contrôle de la synthèse du calcium en provoquant une paralysie suivie de la mort (Bidoshka et al., 1997).

Phase de dissémination : Une fois que le champignon a franchi avec succès la cuticule et a percé l'épiderme adjacent de la cuticule, il entre dans le système circulatoire ouvert de 1'insecte, l'hémocoele. Le champignon se multiplie par la suite à l'intérieur de tous les organes de l'insecte hôte et il s'accroit sous forme de blastospores.

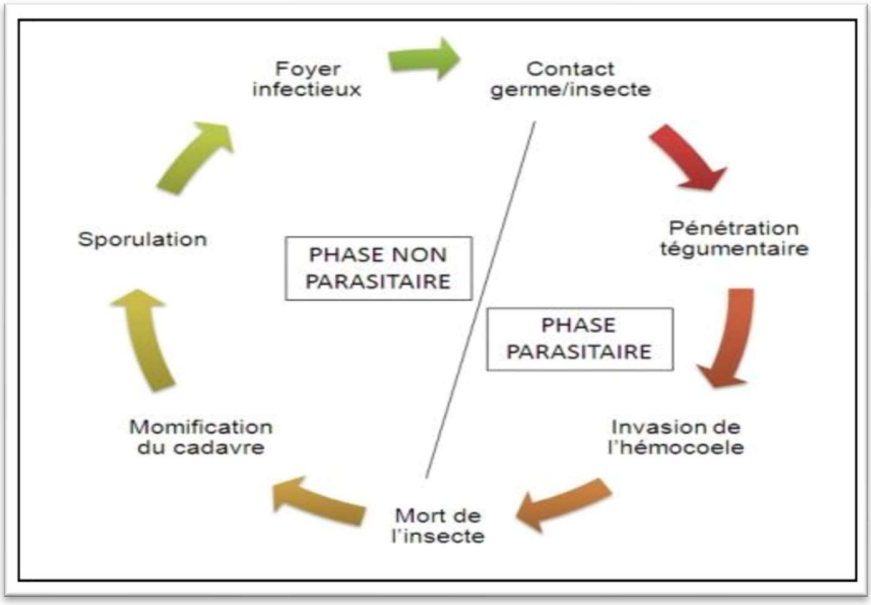


Figure 4 : Cycle de développement du champignon *Metarhizium anisopliae* (Rakotoarisoa, 2007)

1.2. Les insectes des denrées stockées triboluim

1.2.1. Les Tenebrionidae :

Les Tenebrionidae constituent l'une de plus vastes familles des Coléoptères (plus 15000 Espèces décrites). Les adultes qui sont généralement de couleur sombre, présent une grande variété d'aspects. En revanche, les larves sont de forme cylindrique, leur tégument est généralement sclerotinisé. Un certain nombre de tenebrionidae ont été signalées comme nuisibles sur les plantes cultivées et autres s'attaquent aux denrées alimentaires stockées ou emmagasinées Parmi ces dernières le genre Tribolium comprend deux espèces principales Cosmopolites et nuisibles : *T. castaneum* Herbst. Et *T. confusum* Duv. (LEMEAILBI Nabila ; 201

Les agents biologiques d'altération des céréales sont représentés par les microorganismes, les Acariens, les insectes, et les rongeurs.

Les insectes sont a 1'origine de la plus part des dommages subis dans les réserves des céréales stockes, bien que dans certains pays les rongeurs se montre encore plus dangereux. Les insectes nuisibles qui sévissent dans les entrepôts ont un taux de reproduction élevé et se développent rapidement ce qui les met en mesure de provoquer à court terme de très Graves dégâts a partir d'une population originelle modeste (Gwinner et al, 1996).

Certains insectes qu'on rencontre au niveau des stocks sont également présents au Niveau des champs, exemple : Charançons du riz (*Sitophilus Oryzae),* 1'alucite des céréales (*Sitotrogacerealella*), capucin des grains (*Rhizoperthadominica*).

Les insectes infectants les denrées stockées sont très nombreux, et très diversifiés (Danho*et al.*, 2003).

La prédominance des ravageurs de stocks varient en fonction des différentes zones écologiques et des denrées Ils sont la cause de la réduction de poids, de la qualité, de la valeur commerciale et de la viabilité des semences (Dal *et al.*, 2001).

Selon L'INRA, 2009, les dégâts causes par ces insectes peuvent être énormes, surtout au niveau des silos, et détruire ainsi une partie importante estimée a 1440 millions de tonnes de céréales récoltes chaque année dans le monde.

Le chiffrage des pertes mondiales est difficile à établir mais avoisine les 25%. Selon Gwinner et al, 1996, on distingue deux types d'insectes ravageurs :

a) Les ravageurs primaires :

Capables d'attaquer les grains entiers, intacts et parfaitement aptes au stockage exemple : Charançons, capucin des grains (Rhizoperthadominica)

b) Les ravageurs secondaires :

Ne sont capables d'attaquer que les brisures des grains, c'est à dire les grains humides, donc nous, déjà endommages par les ravageurs primaires ou par d'autres agents quelconques, ou encore les produits de transformation de ces grains, comme la farine, exemple : le Tribolium.

c) Les principaux insectes des céréales stockées :

Il existe deux ordres principaux de la classe des insectes qui regroupent la plupart des espèces présentes dans les espaces de stockage. Ces insectes ravageurs des stocks sont principalement composés de coléoptères, qui représentent le groupe le plus important.

Ils sont suivis par les lépidoptères. Les coléoptères sont les plus grands ravageurs de la famille des insectes. Selon Delobel et Tran (1993), il regroupe plus de 330000 espèces, ce qui en fait le groupe le plus répandu et le plus déstructuré de denrées entrenées. Elles se distinguent principalement par la forme de leurs ailes.

Comme tous les insectes, ils en ont deux paires, mais la paire antérieure (les élytres) sert d'armure. Les ailes postérieures membraneuses repliées en dessous sont protégées par cette carapace (Dubesset, 2012).

1.2.2. Classification et position systématique de *T. confusum*

Selon Gretia (2009), la classification du *T. confusum* est la suivante :

Règne : Animale

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coleoptera

S/Ordre : Polyphaga

Famille : Tenebrionidae

Genre : *Tribolium*

Espèce : *Tribolium confusum*

Nom français : Tribolium brun de la farine

Nom anglais : Confused Flour Beetle

Nom en arabe : خنفساءالطحينالمتشابهة

1.2.3. Origine et répartition géographique :

On le trouve dans toutes les parties du monde (cosmopolite). Il existe là ou les céréales stockées existent sous forme de grains ou de farine. Il est très abondant dans les régions tropicales. Sous climats froids, ilest présent uniquement dans les stockages à température élevée (Christine, 2001)

1.2.4. Description morphologique des différents stades de développement de *Tribolium confusum* :

a) Adulte :

Les adultes de *T. confusum* sont des coléoptères allongés, brun rougeâtre dont la longueur du corps varie de 4,0 à 4,5 mm et la largeur de 1,0 à 1,2 mm. Les mâles et les femelles sont morphologiquement indiscernables au microscope optique. La tête est visible de dessus et le thorax légèrement parallèle à ses cotes. Les pattes sont courbées, les tarsespostérieurs sont formés de quatre articles et l'antenne composée de 11 anneaux ont une forme cylindrique (Zohry, 2017).



Figure n°05 : Vue dorsale d'un adulte *T. confusum* (original 2024)

b) Nymphe

La nymphe adulte est d'un blanc pâle à un jaune pâle et la tête est sous le pronotum déprimée. La pupe mâle avait une longueur de 3,25-4,15 mm (du bord antérieur du pronotum à avant les urogomphes) et une largeur de 0,95-1,25 mm, tandis que la pupe femelle avait une longueur de 3,6-4,0 mm et une largeur de 1,0-0,25 mm. Les urogomphes sont l'abdomen nymphal conique et le dernier segment à deux structures pointues. Selon Zohry (2017), les chrysalides du coléoptère T. confusum présentent des mâchoires connues sous le nom de pièges à gin situées sur la marge latérale de leurs segments abdominaux articulés, allant du segment 1 au 6.



Figure n°06 : Vues dorsale et ventrale de nymphes de *Tribolium confusum* (ARAB RADHIA ; 2018).

c) Larve :

Sa couleur est jaunâtres, vermiforme, elle a de mesure environ 8 fois plus longue que large, elle est couvre des poiles et avoir des pattes, se termine par deux paires urogomphes (Delobel et Tran, 1993)

d) Œufs

L'œuf est blanchâtre presque transparent, surface lisse recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet d'adhérer à la denrée infestée (Shepard, 1940)

e) Cycle de développement de *Tribolium confusum*

La croissance du Tribolium confusum. L'accouplement initial se produit environ 2 jours après l'apparition des imagos et dure entre 3 et 15 minutes. L'échelonnement des pontes chez Tribolium confusum est influencé par différentes copulations.

Il est difficile de repérer les œufs qui sont empilés sur les marchandises. La femelle pond entre 500 et 1000 œufs tout au long de sa vie. Selon les conditions de température et d'humidité, les jeunes larves traversent entre 5 et 12 stades larvaires.

La larve se déplace librement dans la région infestée où elle se développe. L'adulte apparaît six jours après la nymphose à une température de 32,5°C et une humidité relative de 70 %. Le cycle dure de 24 à 26 jours.

Tribolium confusum (Duval.) est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32°C et 35 ° C, son développement s'arrête au-dessous de 22°C. Il résiste aux basses hygrométries. En absence d'alimentation, Tribolium confusum exerce le cannibalisme, dévore les œufs et les larves de leur congénère (in Moussi Tarek ;2017)

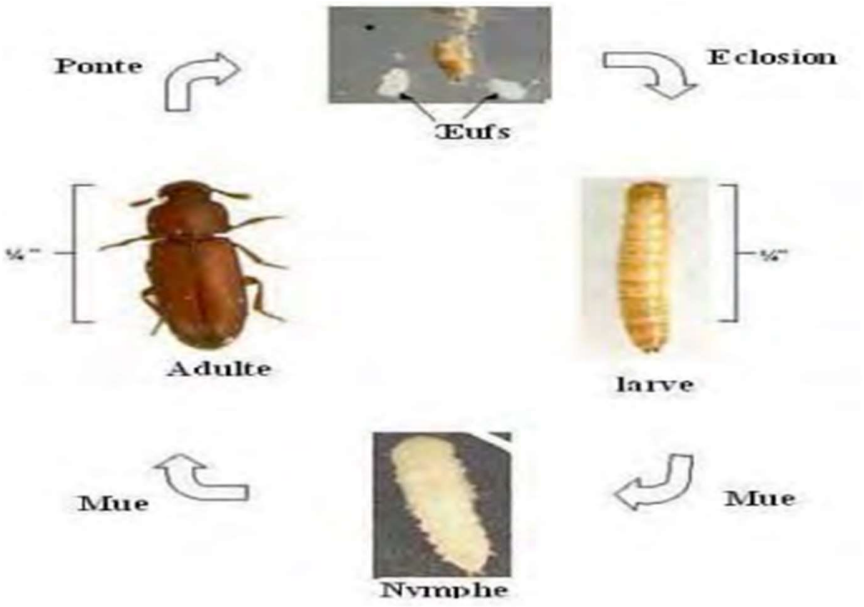


Figure n°7 : cycle de développement de *Tribolium confusum*

II.7. Les dégâts causés par Tribolium confusum

D'après Delobel et Tran (1993), le Tribolium confusum est considéré comme un ravageur important des produits emballés. Les graines, les noyaux et les autres produits déjà endommagés par des ravageurs ou blessés lors de la récolte et du stockage sont principalement infectés. L'insecte présente une polyphagie très importante et attaque le blé, le maïs et les légumineuses. Si l'infestation est intense, l'adulte produit des quinoléiques qui donnent à la denrée une odeur répulsive (Seck, 2009).



Figure n°8 : Les dégâts causés par *Tribolium confusum* (Origine 2024)

f) Méthodes de lutte contre le *Tribolium confusum* :

- **La lutte traditionnelle**

Les paysans ont développé depuis des années des techniques souvent très élaborées et maîtrisées. Mise à part la fonction de stockage, les greniers et autres structures traditionnelles (pots, canaries) ont été conçus de façon à Réduire au maximum les pertes causées par les principaux ennemis des récoltes dont les insectes. On note également l'utilisation de la cendre, de pigments, de plantes insectifuges ou insecticides telles que Cupressus, Hyptis, spic géra(Nanfack et *al.,*2015)

- **La lutte biologique**

La lutte biologique qui est le contrôle d'un ravageur par un ennemi naturel, est naturellement présente dans la plupart des écosystèmes. Elle peut être utilisée volontairement, en agriculture, en remplacement des pesticides conventionnels (Noémie ,2010). Elle consiste à combattre les insectes ravageurs en utilisant leurs ennemis naturels dont les parasitoïdes, les bactéries, les virus, les champignons, les protozoaires, les nématodes (Nanfack et *al.,*2015)

- **La lutte physique**

La lutte physique signifie l'élimination du ravageur ou la détérioration physique de l'environnement de manière à le rendre inhospitalier ou inaccessible pour le ravageur.

Elle peut consister à l'exposition des populations d'insectes ou des céréales aux radiations, aux températures extrêmes ou à une modification de la teneur en oxygène ou dioxyde de carbone de leur biotope.

La technique la plus utilisée consiste en une irradiation à forte dose pour tuer tous les stades de développement de l'insecte (Nanfack et *al.,* 2015). Ces méthodes bien que procurant de bons résultats, ne sont guère présentes en Afrique du fait du cout de l'énergie et de la lourdeur des installations de base.

Les populations rurales utilisent différentes méthodes pour stocker leurs cultures et éliminer les insectes qui les attaquent par: : Le stockage hermétique, L'insolation, L'enfumage, Poudres minérales et terres de diatomées (Gueye et *al.,*2011).

- **La lutte chimique**

C'est la méthode de lutte la plus utilisée lors de la conservation des céréales récoltées. La lutte chimique consiste en l'utilisation de produits chimiques appelés pesticides comme les insecticides contre les insectes.

Les insecticides utilisés dans la protection des denrées stockées sont des formulations contenant des substances actives (Nanfack et *al.,*2015).

Selon (Groot, 2004), les principaux insecticides peuvent être utilisé dans les denrées stockées sont les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse, organophosphorés et organochlorées.

1.3. Le puceron noir

a) Généralités sur les pucerons :

Les pucerons constituent un groupe d'insectes extrêmement répandu dans le monde. Ils sont apparus environ 280 millions d'années. On connait actuellement 4700 espèces (HULLE, 1999). Egalement d'autres insectes comme les cicadelles, les aleurodes et les psylles (HULLE, 1999). Ils se nourrissent tous exclusivement aux dépens des plantes (phytophages), (SAUVION, 1995). Grâce à leur appareil buccal de type piqueur-suceur, ils sucent les nutriments des plantes à partir du phloème, des bourgeons et des feuilles développés (THOMAS, 2011) ; REMAUDIERE et al. (1997) in **ASSABAH**, **2011** dans leur catalogue « les Aphididae du Monde »,

b) Classification :

La classification des pucerons est comme suit :

Embranchement : Arthropoda.

Classe : Insecta.

Ordre : Hemiptera.

Super /famille : Aphidoidea.

Famille : Aphididea.

Genre : Aphis.

c) Morphologie des pucerons :

Les pucerons sont des petits insectes de quelques millimètres seulement, (**HULLE et al.**, **2011**), bien reconnaissables à leur aspect trapu et à la faible sclérification de leurs téguments (Exception faite du thorax chez les ailés) (**ROTH, 1980**), leur cycle de vie comporte quatre Stades larvaires (**HULLE** et **al., 2011)**

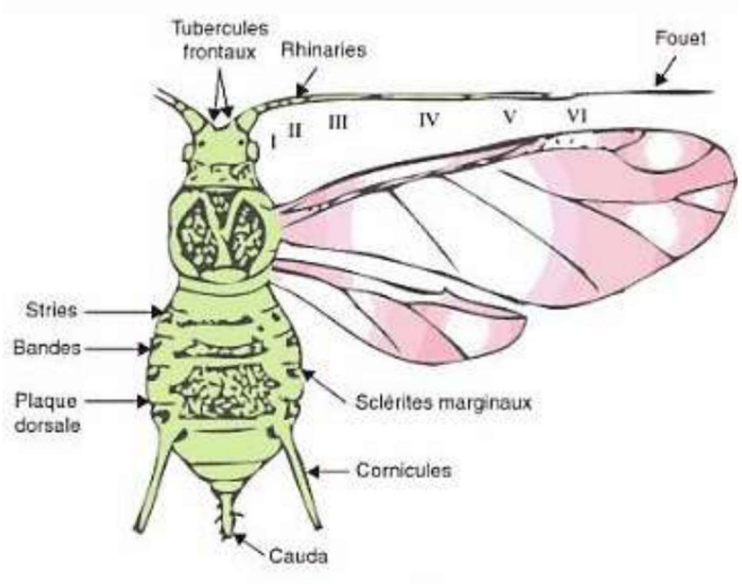


FIGURE 9 : MORPHOLOGIE D'UN PUCERON AILE (D'APRES COTTIER, 1953, IN HULLE ET AL., 2011)

d) Biologie des pucerons :

Les pucerons constituent un groupe d'insectes qui s'est diversifié parallèlement à celui des plantes à fleurs (Angiospermes) dont presque toutes les espèces sont leurs hôtes (**HEIE, 1987 ; SHAPOSHNIKOV, 1987 in SAUVION,1995**).

D'un point de vue général, les aphides possèdent trois caractéristiques marquées :

- ils sont **hétérométaboles** : les stades larvaires ressemblent aux adultes (mis à part l'absence d'ailes développées pour les futurs ailés), ont le même mode de vie, se nourrissent de la même manière et font les mêmes types de dégâts que ces derniers. (**SAUVION, 1995**).

- Ils sont **plurivoltins** et présentent plus de deux générations par an (**LEBBAL, 2010**).

- Ils sont dotés de **polyphénisme:** une caractéristique originale de produire des formes adultes ailées ou aptères accomplissant des fonctions écologiques différentes (dispersion à grande distance pour les premières, exploitation in situ des hôtes disponibles pour les secondes). Ce cas de polyphénisme, unique chez les insectes, est sous la dépendance de divers facteurs comme l'effet de groupe, l'état physiologique de la plante, la température, les caractéristiques génétiques de la lignée parthénogénétique (clone) considéré (**DEDRYVER, 2010**).

La plupart des espèces de pucerons présentent, au cours de leur cycle évolutif, une

e) Cycle biologique

Génération d'insectes sexués (mâle et femelle) alternant avec une ou plusieurs générations se multipliant par parthénogenèse et constituées uniquement des femelles (**LECLANT, 2000**).

La parthénogénèse cyclique présente de nombreux avantages : d'une part la formation d'Sufs résistants au froid (jusqu'à -30°C), d'autre part la parthénogénèse et la viviparité qui lui est associée leur permettent d'avoir un très important taux d'accroissement au cours de la belle saison (**DEDRYVER, 2010**).

Les pucerons comptent parmi les rares animaux qui changent le mode de reproduction en fonction des conditions environnementales (**HULLE et al., 2011**), ils hivernent sous la forme d'Sufs fécondés pondus à l'automne par les individus sexués. L'Suf, au printemps, donne une fondatrice dont les descendants coloniseront la plante qui a porté l'Suf d'hiver (**GRASSE, 1970**).

Ces fondatrices se reproduisent par parthénogénèse1 et par viviparité pour donner des "virginipares". Lorsque le cycle du puceron se déroule sur une même plante-hôte (espèce monoécique2), les virginipares sont aptères. Plusieurs générations se succèderont alors sur cette plante, tout au long de la belle saison et toujours par parthénogenèse (**ROTH, 1980**).

Dans certaines conditions, déterminées par les qualités nutritives de la plantes hôtes, des larves de virginipares donnent des pucerons ailés assurant la dispersion de l'espèce (migration), ce sont des émigrants ailés et encore des femelles agames et vivipares. Sur la nouvelle plante (même type de plante), ils vont engendrer des nouvelles formes virginipares aptères et ailées (**GRASSE, 1970**).

Selon (**HULLE** et **al, 1999**), une semaine seulement suffit au développement complet d'une génération à la belle saison.

Si l'espèce est dioécique3 les virginipares sont ailées et gagnent ce nouvel hôte (hôte secondaire) sur lequel elles donneront naissance à des "exilées" aptères, parthénogénétiques et vivipares, qui se reproduiront autant de fois que la saison le permettra (**ROTH, 1980**).

Dans les deux cas, à l'automne apparaissent des femelles parthénogénétiques appelées sexupares, qui donneront naissance à des mâles, souvent ailés, et à des femelles ovipares, presque toujours aptères, si bien que la rencontre des sexes a presque toujours lieu sur la plante portant la femelle ovipare. Après accouplement, celle-ci pond des Sufs fécondés sur les parties lignifiées de sa plante hôte (d'après **DEDRYVER, 1982 in BENOUFELLA, 2005**)

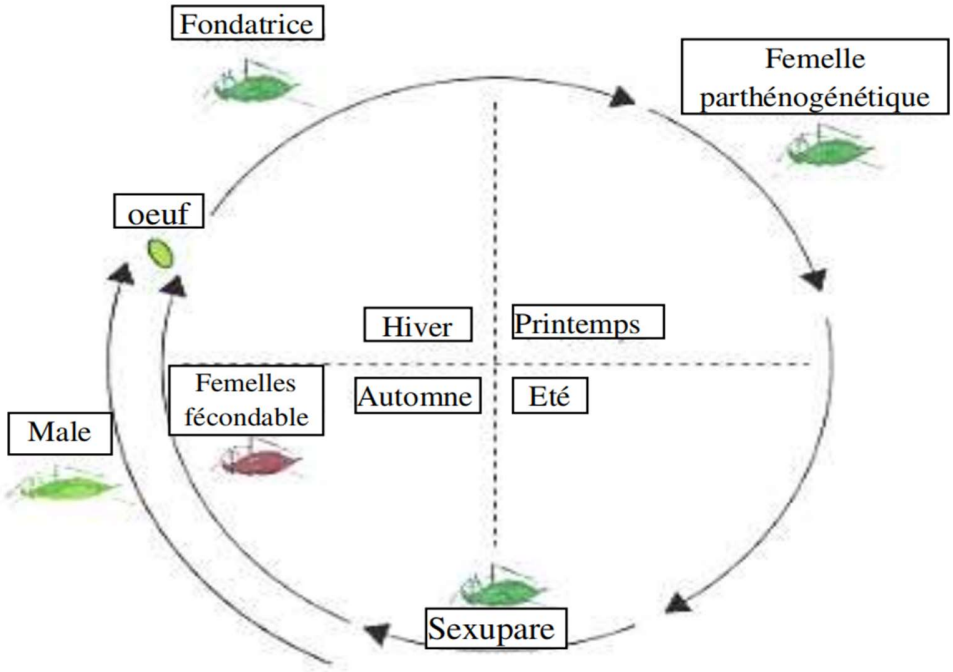


FIGURE 10 : CYCLE COMPLET, AVEC ALTERNANCE ENTRE UNE PHASE DE MULTIPLCATION ASEXUEE

1.4. Données sur le pin d'Alep (*Pinus halepensis*, mill)

1.4.1. Introduction

Le Pin d'Alep (*Pinus Halepensis*) est un conifère de la famille des Pinacées. C'est le botaniste écossais Philip Miller qui lui donna abusivement ce nom scientifique, en 1768. Sa répartition géographique est essentiellement autour des côtes méditerranéennes, et plus particulièrement en Afrique du Nord et en Espagne (espèce plastique). Il est parfois appelé **pin de Jérusalem** (**Site web 1)**.



Fig. 11 : Pin d'Alep (**Site web 1)**.

1.4.2. 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*.

1.4.3. 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)**.



Figure 12 : Les aiguilles et les cônes de pin d'Alep
(A : cône femelle, B : cône mâle) **(Kadik ,1983)**.

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



Figure 13 : l'écorce du pin d'Alep (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 14 : Schéma représentatif des différentes parties de pin d'Alep (**Site web 2)**

14.4. Aire de répartition du pin d'Alep

a) Dans le bassin Méditerranéen

Le pin d'Alep, est un arbre de deuxième grandeur qui peut parfois atteindre 30 m de hauteur dans les conditions écologiques les plus favorables. Il est aussi, l'essence la plus répandue au pourtour méditerranéen. C'est dans la zone méditerranéenne occidentale que se trouve son air de grande extension ; il se localise aussi en divers sites du bassin oriental. Ces forêts couvrent plus de 3.5 millions d'hectares (Pesson, 1980).

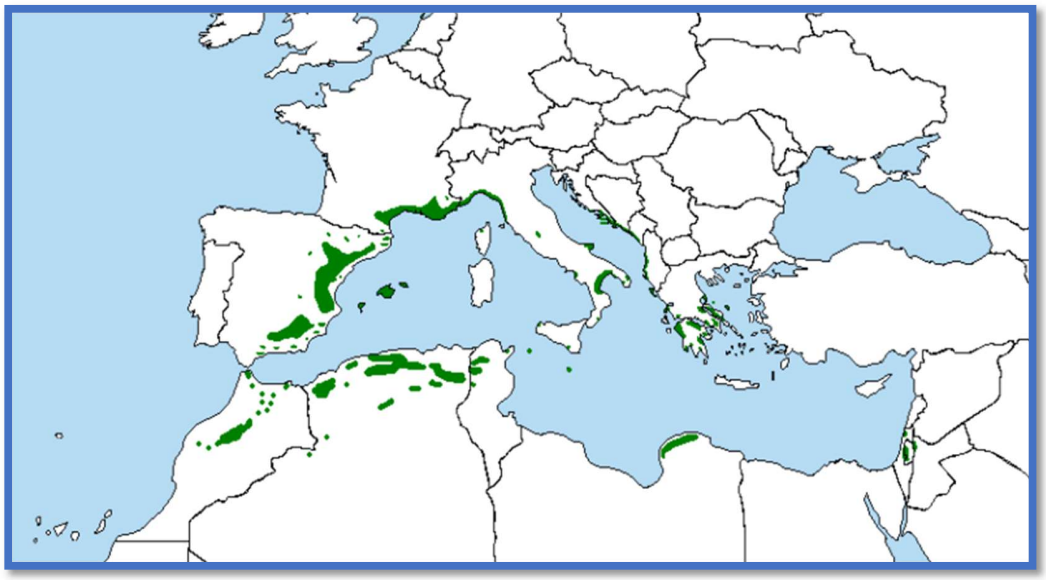


Figure 15 : Aire de répartition du pin d'Alep dans la zone méditerranéenne **(Biodis, 2014)**

b) En Algérie

Le Pin d'Alep pousse presque à travers tout le territoire national cheminant de l'étage bioclimatique humide à l'étage bioclimatique aride. Il occupe 35 % de la surface effectivement boisée. (**Boudy ,1952)** rapporte que cette essence occupe une surface de 852000ha. **(Bentouati, 2006)** dans un rapport sur le forum des Nations unis sur les forêts FNUF avance un chiffre de 800000. Il se localise en Oranie (Sidi Bel-Abbès, Saida, Tlemcen, Tiaret, Ouarsenis), sur le Tell Algérois (Médéa), sur l'Atlas Saharien (Mont des Ouled Nails), et dans le Constantinois. Il est localisé surtout dans les Aurès et les monts de Tébessa, où ces forêts sont prolongées par celle de la dorsale Tunisienne.

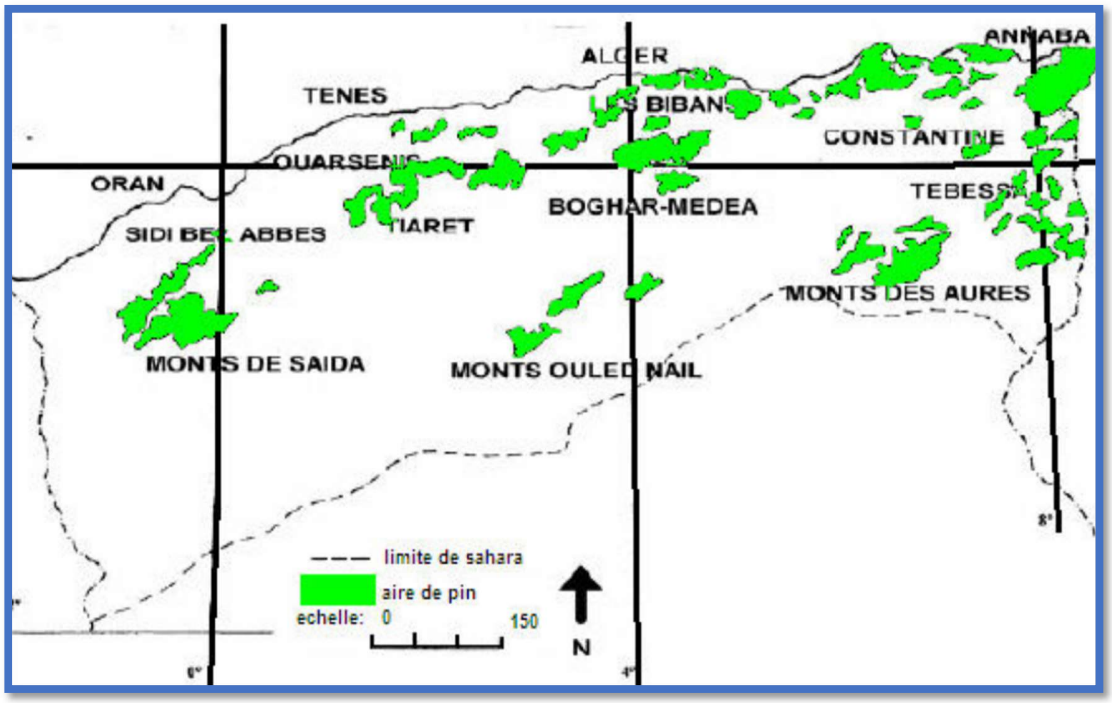


Figure 16 : Aire de répartition de pin d'Alep en Algérie **(Laala, 2009)**.

1.4.5. Usages du pin d'Alep

Le pin d'Alep considéré comme l'espèce la plus utilisée pour le reboisement en Algérie **(Fetati, 1996)**. Le bois de Pin d'Alep peut être utilisé, après élimination de la résine, pour la fabrication de la pâte à papier **(Nahal ,1962)**. Le pin d'Alep a un bois blanc, au cœur et couleur fauve clair (roux clair), et de qualité médiocre.

Le Pin d'Alep donne environ 3 Kg de résine (la gemme) par arbre et par an. La gemme pure contient 20 à 24 % d'essence de térébenthine et 75 à 80 % de cellophane. Cette gemme a aussi des usages médicinaux **(Kadik, 1987)**. Les bourgeons de pin, très résineux, ont aussi une utilisation médicinale, comme balsamiques et diurétiques, transformés notamment en sirops et pastilles **(Zenzen, 2016)**.

2.1. Introduction

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

2.2. Matériel de travail

2.2.1 Matériel fongique :

L'entomopathogène *Metarhizium anisopliae*, est un entomopathogène synthétisé industriellement, est un mycopesticide, avec lequel nous avons réalisé notre expérimentation au laboratoire. Il a été obtenu à partir de spores d'insectes morts. Ce champignon est spécifique aux insectes de l'ordre des orthoptères. Il est préparé sous forme de poudre sèche. C'est la formulation que nous avons utilisé pour notre étude. Les spores de *Metarhizium anisopliae* peuvent être facilement produites en masse.



Figure 17 : Solution de *Metarhizium anisopliae* (original 2024*)*

2.2.2. Matériel animal

a) *Tribolium confusum*

Un élevage en masse est effectué dans un bocal en plastique contient 1000 g de farine de blé dur et recouvert par une pende ; Celui-ci fait dans des conditions de laboratoire à température de 25-30 Cº.



Figure 18 : élevage en masse de *Tribolium confusum* **(Originale, 2024)**

b) Puceron noir :

Nous avons choisi un peuplement de pucerons noirs « *Aphis fabae* » l'espèce la plus abondante sur la culture de la fève. Nous avons cultivé la fève dans des pots. La mise en culture a été effectuée le 15/02/2024 (photo N°4).



Figure 19 : Elevage d'*Aphis fabae* **(Originale, 2024)**

2.2.3. Matériel du laboratoire

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

Tableau1 : Le matériel utilisé au laboratoire

Les appareils	Les produits Chimiques	Les verreries	Les consommables
- Balance de précision - Rota vapeur et pompe à vide - Broyeur électrique - Agitateur - Etuve - Autoclave - Hotte - Incubateur - Réfrigérateur - Spectrophotomètre - Bec benzène - Micropipette cellule malassez - Chambre d'élevage conditionné - Armoire d'élevage des insectes - Microscope optique - Appareil clevenger en verre	- L'éthanol - L'eau distillée	- Les Béchers -L'entonnoir -Les tubes à essai -L'éprouvette gradué -La fiole jaugée - La pipette jaugée -La pipette pasteur -Les barreaux -L'erlenmeyer -Le verre à pied -Les flacons -L'entonnoir buchner -La fiole à vide	Le papier filtre -Le papier wattman -Les boites de Pétri -Le papier film -Le papier aluminium -Le papier absorbant -Les spatules -Les coupelles de pesée

2.3. Les méthodes de travail

2.3.1. L'extraction hydroalcoolique

2.3.2 Principe d'extraction du pin d'Alep

Cette méthode consiste de la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation. Cette procédure, malgré les temps longs d'extraction et l'utilisation d'une quantité considérable de solvants, est relativement peu coûteuse. En plus, elle se déroule à température ambiante ce qui est très positif pour conserver l'intégrité des molécules polyphénoliques (Spigno et De faveri, 2007 ; Budic-letoc et al, 2005).

2.3.3. Protocol d'extraction

Le protocole utilisé est celui de Lahmar et al, 2017. Ainsi les étapes sont comme suit :

a) Séchages et broyages

Les différentes parties aériennes de la plantes testés (feuilles,) sont séchées à l'aire libre et à température ambiante pendant une deux mois, puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et

conservées ; la poudre obtenue est conservée à sec dans des boites à température ambiante. Dans deux mois et demi



Figure 20 : Les différentes masses des poudres d'extraction . Origine 2024

b- Macération

La macération a été faite selon le protocole de Minkowski et Piotrowska, (2006) amélioré : (solution hydro alcoolique : 70/30 ; V/V). Les solutions sont macérées pendant 24 heures sous agitation magnétique, à la température ambiante du laboratoire et à l'abri de la lumière (couvrir par un papier aluminium).



Figure 21: Macération des solutions de pin d'Alep Origine 2024

C- Filtration

Dans l'étape suivante, après 24 heures, nous filtrons le mélange à l'aide d'un papier filtre et utilisons un entonnoir Buchner, fiole à vide et pompe à vide, puis commençons le processus de filtration jusqu'à ce que tout le liquide sorte du mélange et les résidus sont élimination avec le papier filtre



Figure 22 : Filtration d'extrait de *pin d'Alep* Origine 2024

d- Evaporation

On évapore les filtrats obtenus à une pression réduite à 80°C à l'aide d'un rotavapeur (100) jusqu'à ce que les solvants soient éliminés. L'échantillon a été prélevé à sec et stocké à une température de 4°C pour des analyses ultérieures.



Figure 23 : Evaporation de l'extrait de la plante *pin d'Alep* par rota vapeur Origine 2024

E. Étuvage :

Transférez l'extrait aqueux filtré dans un récipient adapté à l'étuvage. Placez le récipient dans une étuve préchauffée à une température 40 appropriée pour évaporer l'eau sans endommager les composés actifs. Surveillez attentivement le processus d'étuvage pour éviter toute surchauffe ou perte de composés volatils.

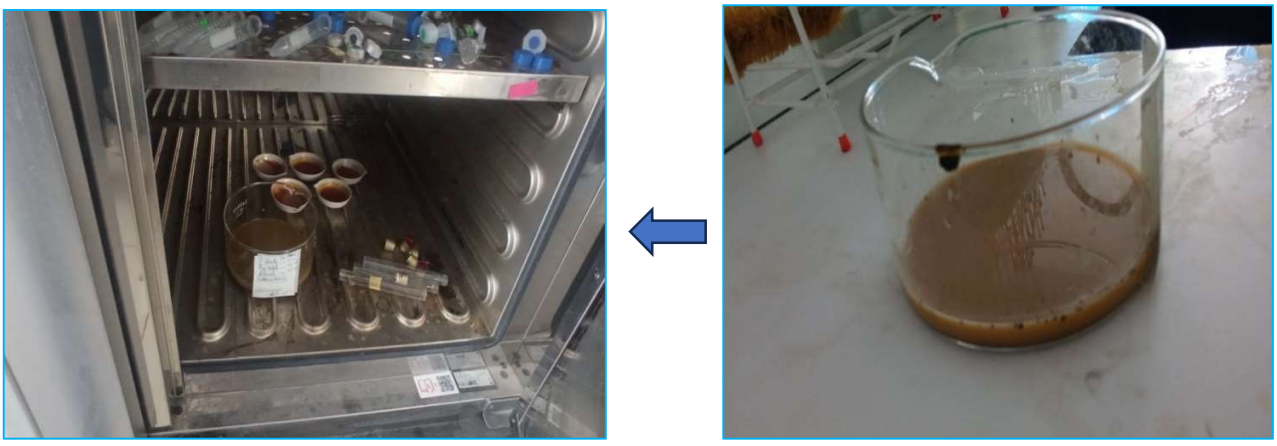


Figure 24 : Sechage la plantde pin dalep Origine 2024

Tableau N°2 Les quantités de la poudre de *pin d'Alep*

	Grammage	Ethanol	L'eau distillée
Feuille	**50G**	**350 ML**	**150 ML**

f) Préparation d'extraction aqueuse

Pour extrait aqueux du la plante que nous avons choisie, nous avons réalisé les étapes suivantes :

1 la plantes testés feuilles sont séchées à l'aire libre et à température ambiant pendant une deux mois , puis broyées à l'aide d'un broyeur électrique et conservées.

2 Mélanger 50g de poudre de cette plantes avec 500 ml (d'eau distillée150 ml+L'éthanol 350ml) bouillie de L'erlenmeyer.

3 Placer la solution dans un L'Agitateur pendant 24h a tenperture ambiante.

4 L'extraction à été récupéré après filtration du mélange à l'aide d'un pompe à vide avec une piégeage Nous l'avons séché à l'étuve à 40 °C pendant plusieurs jours jusqu'à ce qu'il séché puis nous l'avons broyé

5 Conservée dans une boite et recouvert par aluminium et après nous avons gardé dans ou frigidaire à la température 4°C jusqu' ou moment de l'utilisation



Figure 25 : les étapes d'extraction **(Originale, 2024)**

2.3.4. Extraction des huiles essentielles

La matière végétale pin d'Alep pesée (50g) a été placée dans une cartouche en cellulose. Cette dernière a ensuite été déposé dans un extracteur de type Clevenger, équipé à sa base d'un ballon de 500 ml dans lequel se trouve le solvant (250mL).

- Le ballon a été chauffé avec un chauffe-ballon, et un réfrigèrent permettait de condenser les vapeurs eau distillée.
- Les extraits obtenus (huile essentielle) ont été concentrés à l'aide d'une ampoule à décanter.
- A Chaque répétition en va renssi le matériel et stérilisée pour évite la contamination huile essentiel
- L'extrait obtenu par décantation à été conservés à l'obscurité à 4°C.



Figure 26 : Montage d'hydrodistillation manipulé (Cloninger)
Origine 2024

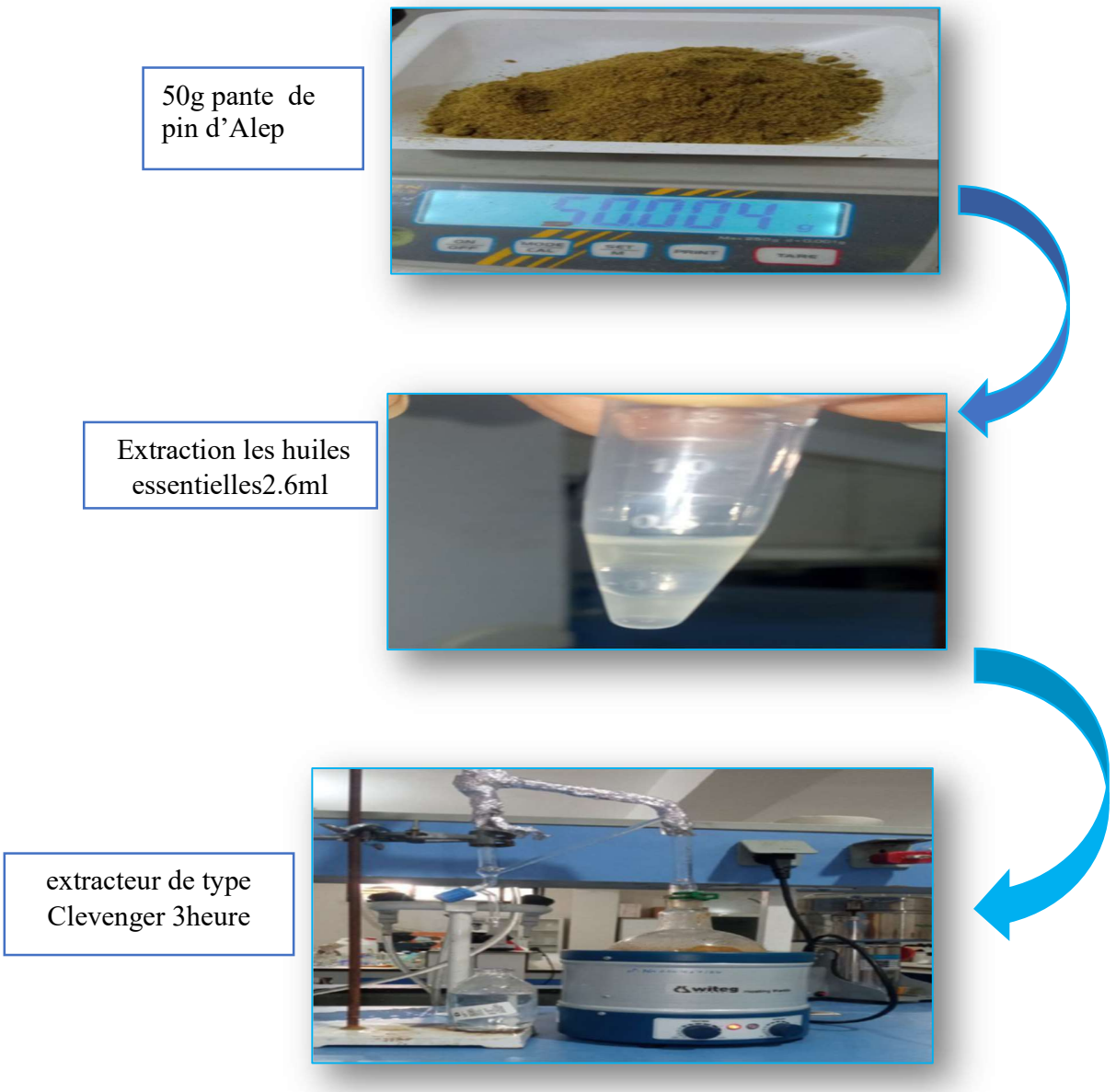


Figure 27 : Etapes d'éxtraction des huiles essentielles (Originale, 2024)

2.3.5. Préparation des doses d'application :

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=5,2mL (100%), D2= 3,9mL (75%) ; D3= 2,6mL (50%)

2.3.6. Traitement des insectes par les huiles essentielles

a) Traitement de Tribolium :

Pour réaliser des traitements par un pulvérisateur contre le tribolium, on a mis en place 02 lots (boite) par dose, chaque lot contient 20 insectes avec un lot témoin.

b) Compactages :

Le comptage des sujets morts est fait chaque 24 heures des sujets morts jusqu'à la mortalité totale des insectes (100% de mortalité).

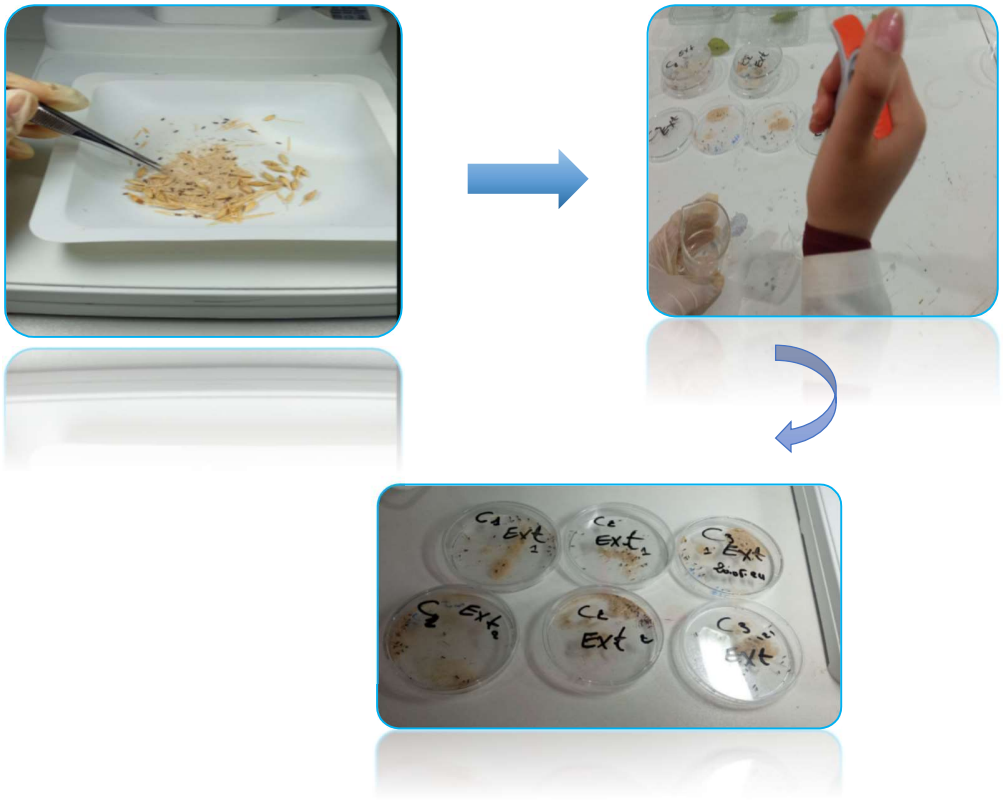


Figure 28 : Traitement des insectes par les huiles essentielle **(Originale, 2024)**

c) Traitement contre les pucerons :

Les traitements ont été réalisé par un pulvérisateur contre les pucerons sur 02 lots (boite) par dose pour les trois doses, chaque lot contient 20 pucerons avec un lot témoin.

d) Compactages :

Le comptage des sujets morts est fait chaque 24 heures des sujets morts jusqu'à la mortalité totale des insectes (100% de mortalité).

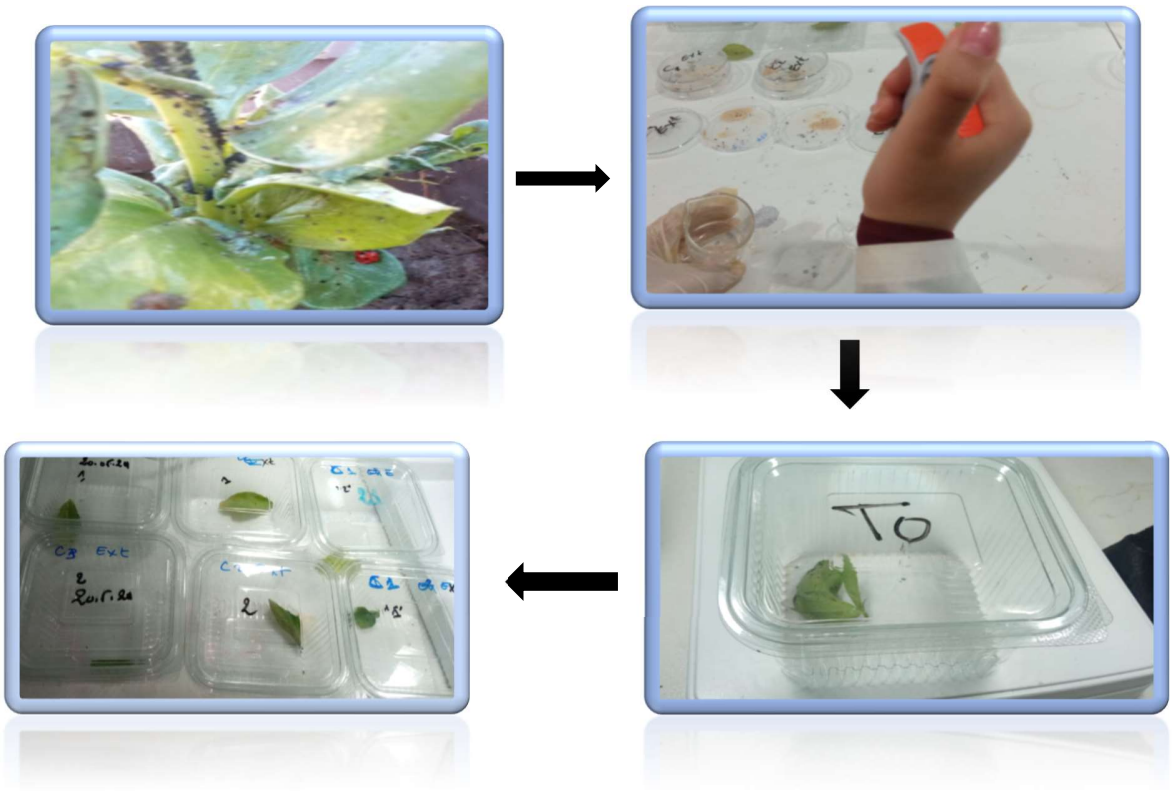


Figure 29: Traitement des pucerons par les huiles essentielles
(Originale, 2024)

Tableau 3 : Dose de l'extrait d'huile essentielle.

Dose
Dose 1 : 5.2 ml soit 100%
Dose 2 : 3.2 ml soit 75%
Dose 3 : 2.6 ml soit 50%

2.3.7. Préparation des doses de champignons

On prélève 0,5g de poudre *Metarhizium anisoplie* et on le met dans un flacon contenant 40ml d'eau distillée pour assurer la libération maximale des spores. Cette suspension est agitée pendant 15 minutes. (figure … et …)

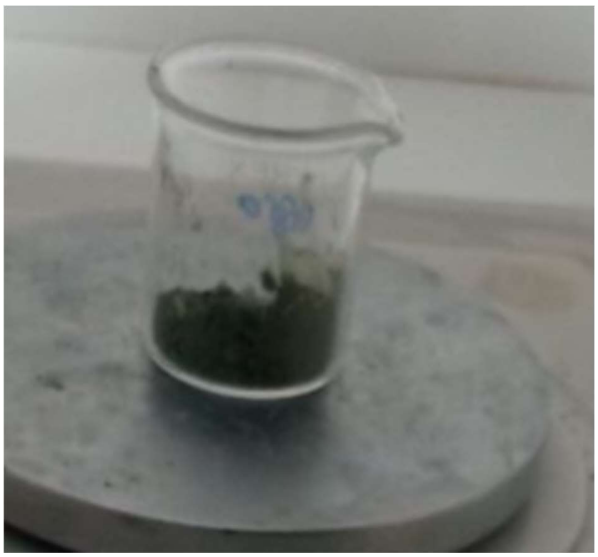


Figure 30 : Poudre de *M. anisoplie var. acridum* **(Originale, 2024)**

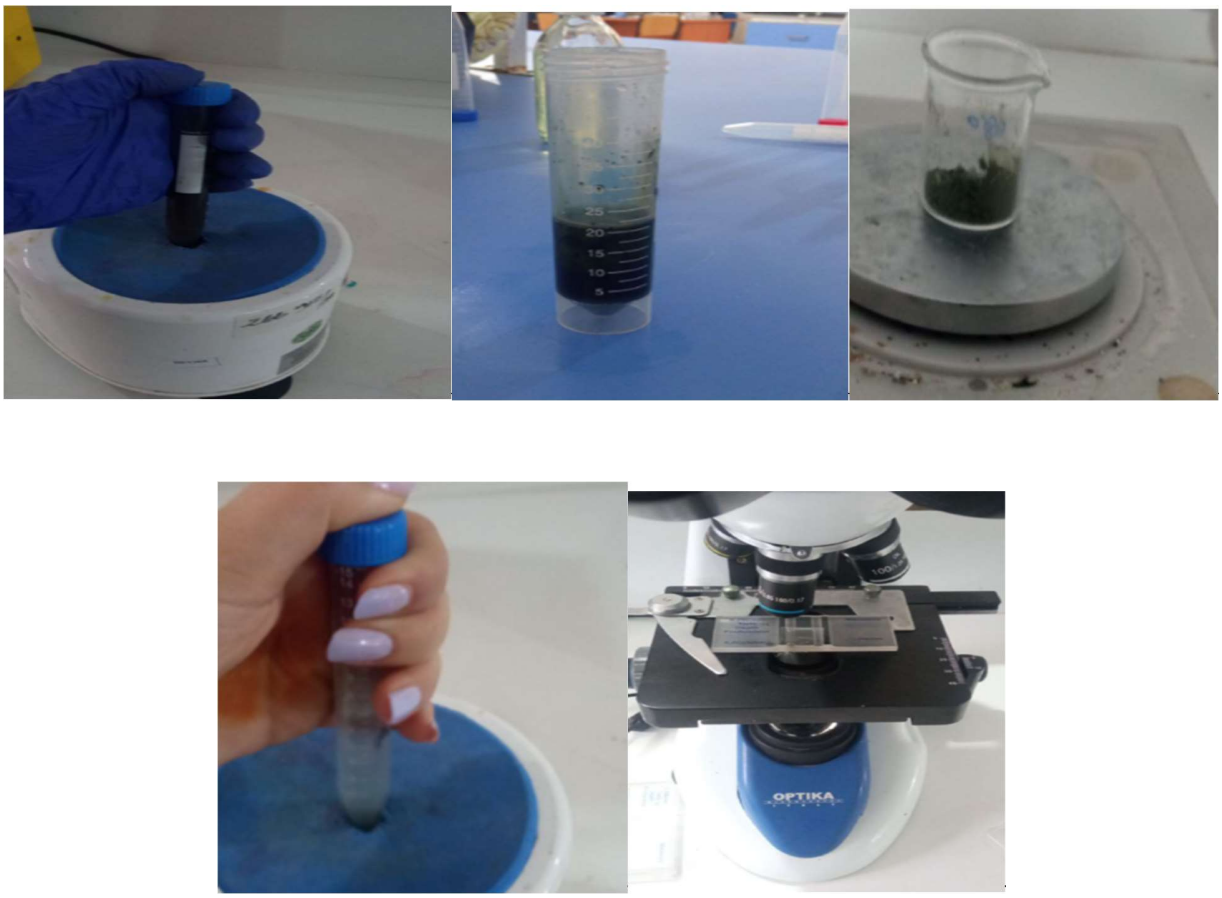


Figure 31 : Préparation de la solution fungique mère de *M. anisoplie* (Originale, 2024)

2.3.8. Comptage des spores et détermination des concentrations

Le comptage des spores est réalisé à l'aide d'une cellule de Malassez (figure 17) sous un microscope optique après avoir déposé une goutte de la solution entomopathogène au centre de cette cellule. On dépose ensuite la lamelle sans faire de bulles d'air

Le principe de la cellule de Malassez possède 25 rectangles composés chacun de 20 carrés :

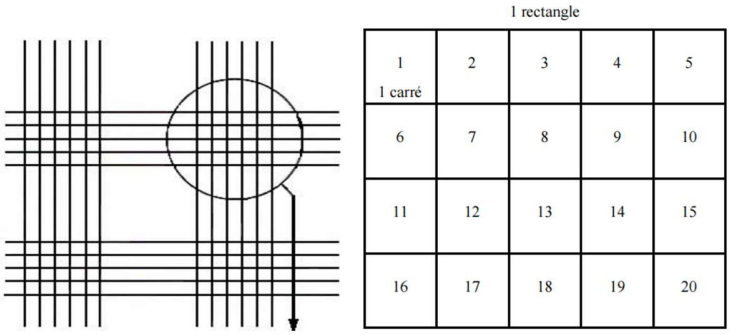




Figure 32 : cellule de Malassez

Chaque carré élémentaire a 1/20 mm de côté, soit une surface de 1/400 mm². Chaque rectangle correspond à 1/20 mm².

L'écartement entre la lamelle et la lame est de 1/5 mm par construction (profondeur).

Après les calculs on obtient la concentration de la solution mère :

Spores par ml volume = 6,25 X 10^8 spores/ml

A partir de cette concentration, on déduit les autres concentrations qu'on veut obtenir à l'aide de la loi d'équilibre :

C1 X V1 = C2 X V2

C1 : Concentration de la solution mère.

V1 : Volume de la solution mère.

C2 : Concentration choisie.

V2 : Volume d'eau distillée pour obtenir **C2**

Les doses calculées sont comme suit :

D1 = 6,25 X 10^7

D2 = 6,25 X 10^6

D3 = 6,25 X 10^5

2.3.9. Traitement par le champignon entomopathogène :

a) Traitement de Tribolium :

Les traitements ont été réalisés par pulvérisation contre les Tribolium sur deux lots par dose, chaque lot contenant 20 Tribolium avec un lot témoin. Voici les détails des traitements :

100% (D1 = 6,25 X 10^7 spores/ml)) et 75% (D2 = 6,25 X 10^6 spores/ml)et 50% (D3 = 6,25 X 10^5 spores/ml)

b) Compactages

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



Figure 33 : Traitement de Tribolium par les de *M. anisopliae*
(Originale 2024)

c) Traitement des pucerons :

Les traitements ont été réalisés par pulvérisation contre les Tribolium sur deux lots par dose, chaque lot contenant 10 Tribolium avec un lot témoin. Voici les détails des traitements Par troi dose :100% (D1 = 6,25 X 10^7 spores/ml) et 75% (D2 = 6,25 X 10^6 spores/ml)et 50% (D3 = 6,25 X 10^5 spores/ml)

d) Compactages

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).



Figure 34 : Traitement des pucerons par les de *M. anisopliae*
(Originale 2024)

Il est a noté qu'on a mis toutes les boites après traitement dans la chambre d'élevage conditionnée pour donner toutes les conditions favorables aux insecte (température, humidité et la lumière)



Figure 35 : Chambre d'élevage conditionné Origine 2024

e) **Calcul du pourcentage de mortalité journalière.**

Toutes les 24 heures, on calcule le pourcentage de mortalité de tribolium et le puceron témoins et traités selon la formule suivante :

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

2.3.10. 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

III.1. Résultats

3.1.1. Effet de l'extrait d'huile essentielle contre le *Tribolium*

Le tableau le 04 et les figures 36, nous avons constaté que la mortalité chez le *Trifolium* a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1 et D2 et D3 du l'extrait d'huile essentielle respectivement de 29% et 7,5% et 25%, pour atteindre les 100% au 7ème jour pour la D1, D2 et D3. Tendis-que on a enregistré aucune mortalité chez les témoins durant toute les 7 jours d'observation. Pour la dose la plus forte (D1) la mortalité est très rapide, elle passe de 29% de 1er jour au 60% au 2ème jour pour atteindre 85% au j4 et j5 puis 90% au j6. Alors que pour la dose la plus faible, la mortalité passe de 25% respectivement de 1er jour au 6ème de 37.5%, 42.5%, 45.5% 57.5% à 80% au j6.

Tableau 4 : Pourcentage de mortalitéde chez le *Trifolium* traité par HE

Temps	**Témoin**	**Extrait**		
		D1	D2	D3
J0	0	0	0	0
J1	0	29	7.5	25
J2	0	60	22.5	37.5
J3	0	67	50	42.5
J4	0	85	57.5	45.5
J5	0	85	67.5	57.5
J6	0	90	86	80
J7	0	100	100	100

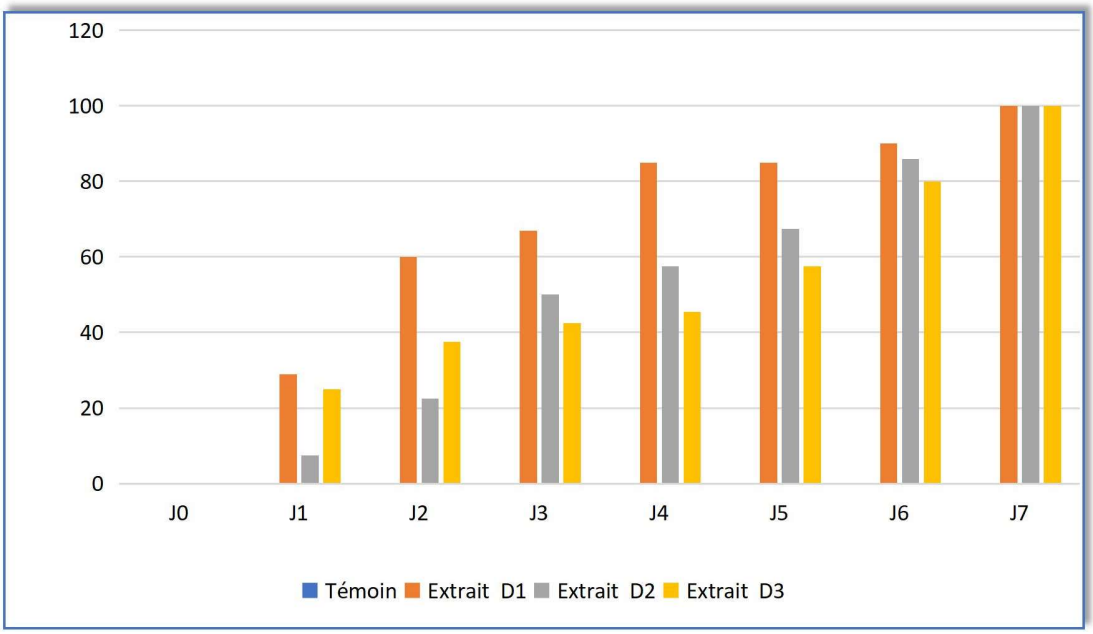


Figure 36 : Pourcentage de mortalité chez *Trifolium* traité par HE

3.1.2 Effet de l'extrait d'huile essentielle contre le puceron *Aphis fabae*

Le tableau 05 et la figures 37, montrent que la mortalité chez le puceron a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1 et D2 et D3 du l'extrait d'huile essentielle respectivement de 29 % et 7,5 % et 25 %. La mortalité devient plus rapide, elle atteint 100% au 3ème jour pour les trois doses D1 et D2 et D3. La mortalité enregistrée au 2ème est presque non significative pour D1 et D2 (55% et 45%), alors que pour la dose faible on enregistré que 25% pour le même jour.
Pour les témoins, aucune mortalité n'a été enregistrée.

Tableau 05 : Pourcentage de mortalité de puceron traité par HE

Temps	Témoin	Extrait		
		D1	D2	D3
J0	0	0	0	0
J1	0	55	45	25
J2	0	75	70	40
J3	0	100	100	100

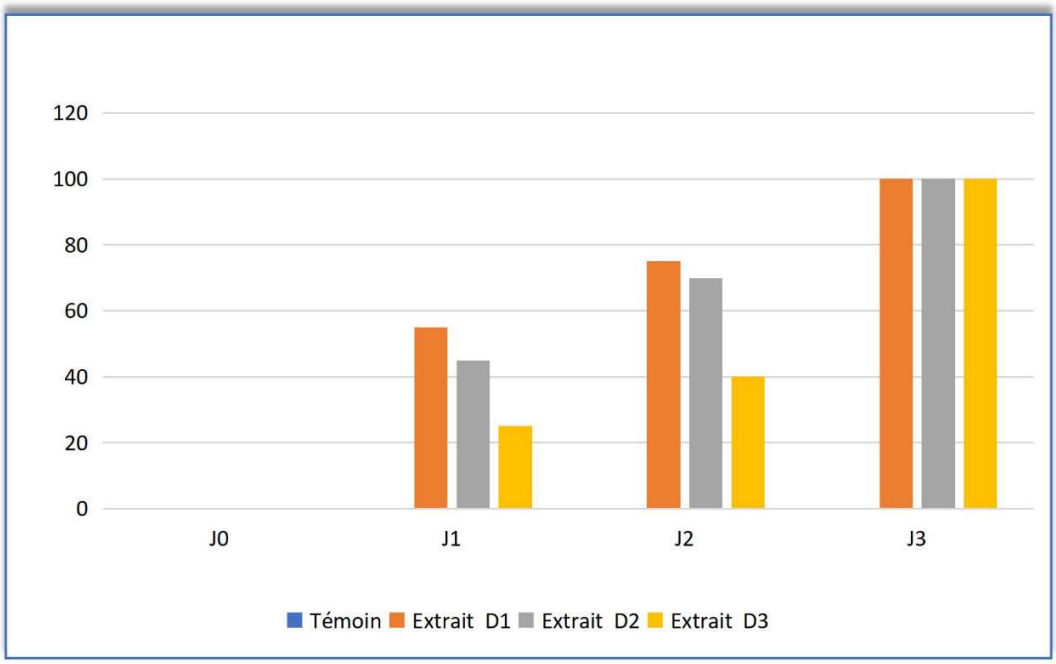


Figure 37 : Pourcentage de mortalité de pucreon traité par HE

III.2.1. Etude de l'effet de *Metarhizium anisoplie* contre *Tribolium*

Après le traitement des insectes de *Tribolium* par *Metarhizium anisoplie* on enregistré la mortalité dans le tableau 6 ce dernier montre que la mortalité a commencé après le 1er jour les trois doses D1 (6,25 X 10^7 sp/ml) D2 (6,25 X 10^6 sp/ml) D3 (6,25 X 10^5 sp /ml) du *M. anisoplie*, avec un taux respectivement de 20%, 13% et 10%, pour atteindre les 100% au 7ème jour pour les trois doses. On a constaté que le taux de mortalité passe de 20% (j2) à 80% au j6 pour la D1. Pour la D2 et la D3, le taux de mortalité, était faible les premiers jours après traitement, elle varie de 20% à 10% au j2 à 45% à 22.5% au j3, pour arriver à un taux plus élevé au 6ème jour (80% pour D2 et 68.5% pour D3) et 100% au 7ème jour.

Pour le lot des témoins, nous avons enregistré aucune mortalité pendant la période expérimentale.

Tableau 6 : Pourcentage de mortalité de *Trifolium* traité par le champignon

Temps	Témoin	Doses de champignon		
		D1	D2	D3
J0	0	0	0	0
J1	0	20	13	10
J2	0	30	22.5	17
J3	0	45	27	22.5
J4	0	56	30.5	30
J5	0	73	48	40
J6	0	80	70.5	68.5
J7	0	100	100	100

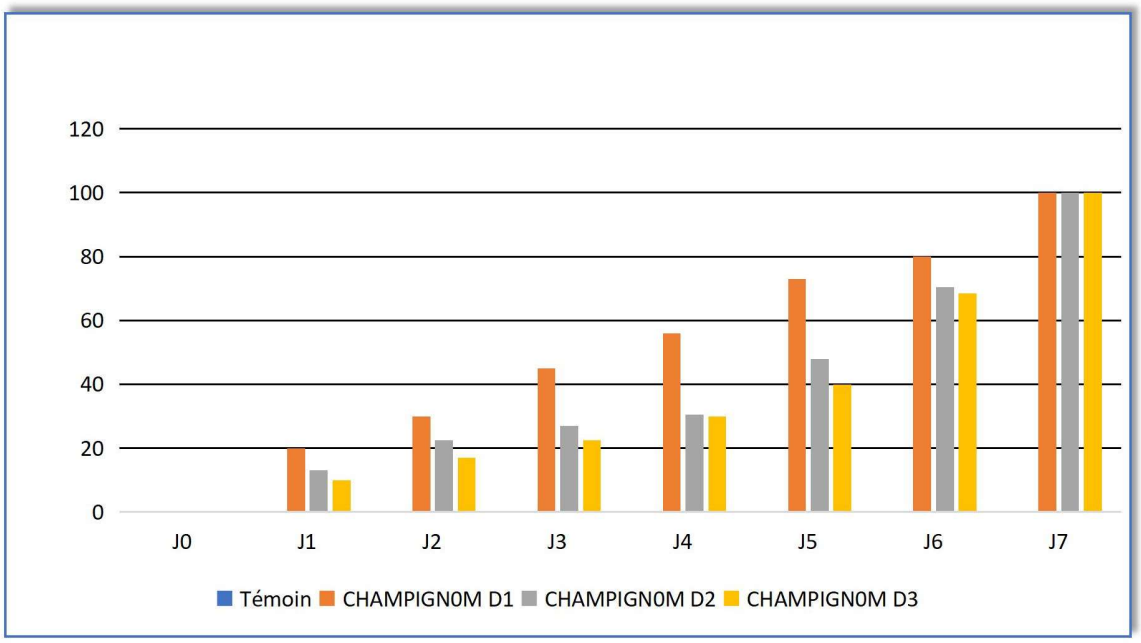


Figure 38 : Pourcentage de mortalité de *Trifolium* traité par le champignon

III.2.2. Effet de *Metarhizium anisopliae* contre le puceron :

Le tableau 7 et la figure 39, montrent que la mortalité chez le puceron traités par *Metarhizium anisopliae* a commencé après le 1er jour de traitement pour les trois doses respectivement de 29%, 7,5% e t25%. La moitié de la population de puceron traitée (50%) est enregistrée au j1 pour la dose 1 alors que 35% pour la D2 et 20% pour la D3. Pour le 2ème jour, la mortalité a augmenté vers 100% pour D1, 30% pour D2 et 35% pour D3 pour atteindre les 100% au 4ème jour pour les trois doses. Pour les témoins, aucune mortalité n'a été enregistré durant toute la période de l'essai.

Tableau 7 : Pourcentage de mortalité de puceron traité par le champignon

Temps	Témoin	Dose de champignon		
		D1	D2	D3
J0	0	0	0	0
J1	0	50	35	20
J2	0	100	30	35
J3	0	100	95	85
J4	0	100	100	100

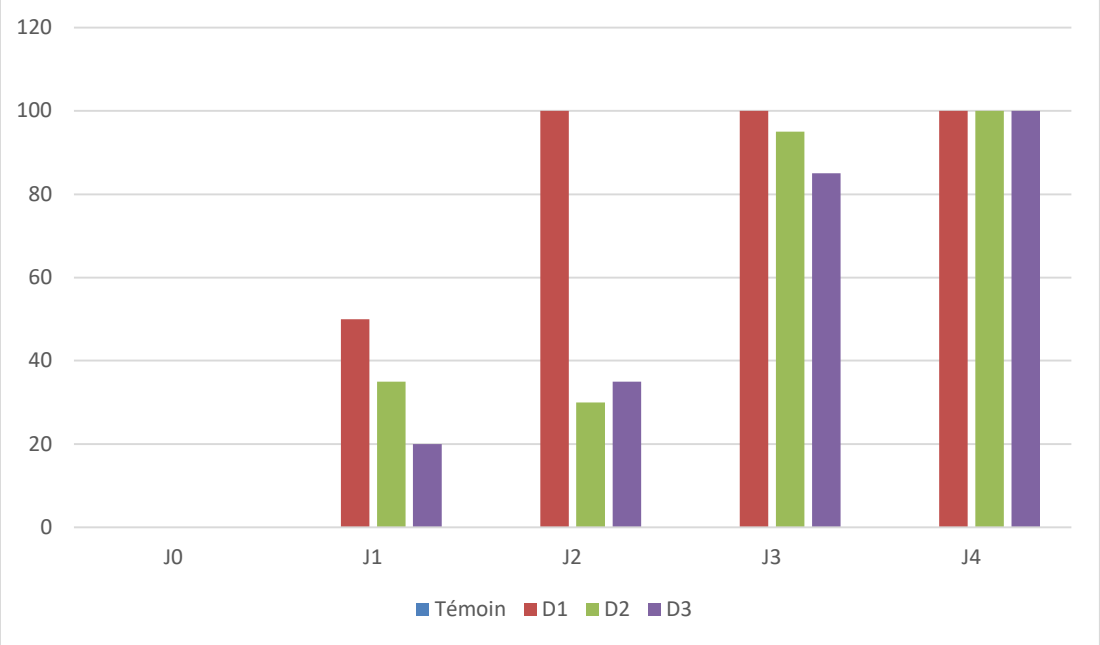


Figure 39 : Pourcentage de mortalité de puceron traité par le champignon

III.2.3. Calcule de la DL50 des huiles essentielles :

a) Traitement de Tribolium par l'HE

A partir de la formule de Karber et Behrens on a pu calculer la DL50 pour et le huit essentielle contre *Triblium* et le puceron (tableau 8)

Pour le traitement de Tribolium par l'HE la DL50 est de 36.17 ml soit 0.7 ml (13.46%)

Tableau 08 : Calculer la DL50 pour l'huit essentielle contre le *Triblium*

Doses (ml)	nombre de Tribolium (n)	nombre de Tribolium morts	% Mortalité	A	b	a x b
5,2 (100%)	20	14,57	73,71	2,3	12,85	29,5
3,2 (75%)	20	11,14	55,78	0,6	11,12	6,67
2,6 (50%)	20	11,11	55,42			
					∑ (a x b)	36,17

b) Traitement de puceron par l'HE

D'après le tableau 9, la DL50 d'huil essentielle est égale à 1.734 ml. (33.33%)

Tableau 09 : calculer la DL50 pour l'huit essentiel contre le puceron

Doses (ml)	**nombre de puceron (n)**	**nombre de puceron morts**	**Mortalité**	**A**	**b**	**axb**
5,2 (100%)	10	7,67	76,7	2,3	7,42	4,86
3,2 (75%)	10	7,16	71,6	0,6	6,33	3,8
2,6 (50%)	10	5,5	55			
					∑ (a x b)	8,66

c) Traitement de *Tribolium* par le champignon

D'après le tableau 10, la DL50 du champignon pour le traitement de *Tribolium* est de 6,2 48X 10^5

Tableau 10 : Calculer de la DL50 pour la *Metarhizium anisoplie* contre *Triblium*

Dose (spml)	Nbr de tribolium (n)	Nbr de tribolium morts	% mortalité	a	b	axb
6,25 X 10^7	20	11.5	57.71	10	20.35	203,5
6,25 X 10^6	20	8.85	44.5	10	8.67	86,8
6,25 X 10^5	20	8.2	41.14			
					∑ (a x b)	290,25

d) Traitement de *Tribolium* par le puceron

D'après le tableau 11, la DL50 du champignon pour le traitement des pucerons est de 6,249X 10^5

Tableau 11 : Calculer la DL50 pour la *Metarhizium anisoplie* contre puceron

Dose (sp/ml)	**Nombre de puceron (n)**	**Nombre de puceron morts**	**% Mortalité**	**a**	**b**	**axb**
6,25 X 10^7	10	8,75	87,5	10	7,63	76,3
6,25 X 10^6	10	6,5	65,5	10	6,25	62,5
6,25 X 10^5	10	6	60			
					∑ (a x b)	138,8

III.2. *Discussion*

L'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) a été étudié pour son efficacité contre les adultes de *Tribolium castaneum* qui est un insecte nuisible pour les céréales stockées et contre le puceron de la fève *Aphis fabae*.

Cette étude a montré que l'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep est très efficace contre les deux insectes (Tribolium et puceron), cette efficacité varie en fonction de la dose utilisée, le temps et de l'insecte. On constate que plus qu'on augmente la dose, le taux de mortalité augmente pour les deux insectes et plus que temps passe la mortalité devient plus importante. Ainsi que l'étude a montré que le puceron est plus sensible que le triboliuom car nous avons enregistré 100% de mortalité le 3ème jour après traitement des pucerons alors que la mortalité à atteindre les 100% au 7ème jour pour le Tribolium. Les résultats montrent que l'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep a causé une mortalité significative chez les adultes de *Tribolium castaneum* Les taux de mortalité ont augmenté progressivement au fil des jours, atteignant 100% au 7ème jour de traitement pour les trois doses testées (D1, D2 et D3).

Les taux de mortalité chez les pucerons à augmenter après le premier jour de traitement. Les doses D1, D2 et D3 ont respectivement causé 29%, 7,5% et 25% de mortalité au premier jour. Cette mortalité a continué à augmenter, atteignant 100% au troisième jour pour les trois doses.

Les doses D1, D2 et D3 ont montré des taux de mortalité différents au premier jour, mais ont atteint 100% au troisième jour. Cela indique que les doses ont une efficacité similaire pour tuer les pucerons, bien qu'elles aient des effets initiaux différents.

La mortalité des pucerons a commencé dès le 1er jour de traitement avec les trois doses testées (D1, D2 et D3) de l'extrait d'huile essentielle de pin d'Alep.

Les taux de mortalité étaient respectivement de 55%, 45% et 25% au 1er jour pour les doses D1,D2 et D3. La mortalité a continué à augmenter progressivement, atteignant 100% au 3ème jour de traitement pour les trois doses.

Plusieurs auteurs ont testé la récursivité de nombreuses autres huiles essentielles comme l'étude de l'effet insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de Sitophilus oryzae (Coleoptera ; Curculionidae) et T. confusum (Coleoptera ; Tenebrionidae). (**Benazzeddine, 2010)**. Les résultats indiqués montrent que les deux huiles essentielles de la Menthe verte et du Romarin ont été très

toxiques par inhalation sur T. confusum, après 24 de d'exposition. Ces huiles ont provoqué 100 % de mortalité. L'Eucalyptus et le Thym a réagi également au bout de 24 heures d'exposition provoquant des taux de mortalité estimées à 54,55% et 50,65% de respectivement ; ces mortalités se sont échelonnées dans le temps pour atteindre un taux de 100% après 144 heures (6 jours). Concernant l'huile essentielle de la Citronnelle son efficacité ne se révèle qu'après 96 heures de traitement et ne dépasse pas un taux de 56 % après 144 heures.

Concernant le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae,* les résultats de l'étude montrent que le *M. anisoplie* présente une activité bio-insecticide significative contre les adultes de *Tribolium castaneum*. La mortalité chez le Trifolium a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1, D2 et D3 du Metarhizium anisoplie, respectivement de 20%, 13% et 10%. Le taux de mortalité cumulée sur les adultes de Tribolium pour les trois doses a atteint 100% au 7ème jour de traitement pour les doses D1 et D2, et D3.

La mortalité chez le puceron a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1, D2 et D3 du champignon *Metarhizium anisopliae*, respectivement de 29%, 7,5% et 25%.

La mortalité a augmenté progressivement au fil des jours, atteignant 100% au 3ème jour de traitement pour les trois doses.

Le champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* Cette espèce de champignon a également été utilisée contre *Tribolium castaneum.*

Les résultats montrent que l'extrait d'huile essentielle de Beauveria bassiana a montré une activité insecticide significative contre les larves et les pupes de Tribolium castaneum, avec des taux de mortalité élevés atteignant 100%.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par KAIDI (2004), qui a montré que l'entomopathogène *B. bassiana* a un effet significatif sur les imagos de *Locusta migratoria* traités à trois doses différentes : D1= 0,5 x 106 spores/ml, D2= 106 spores/ml et D3= 2 x 106 spores/ml par rapport aux témoins. Les individus traités à la faible dose sont morts 12 jours après le traitement, pour ceux traités à la dose D2= 106 spores/ml ils sont morts au 11ème jour, alors que par D3, les 100 % de mortalité a été enregistrés au 8ème jour.

L'extrait d'huile de pin et le *Metarhizium anisoplie* fongicide ont été appliqués sur le puceron et le tribolium pendant 7 jours. On remarque un taux de mortalité rapide chez le puceron et un taux de mortalité rapide chez le tribolium, voir une forme solide par rapport au Flagyl puceron, ce qui

entraîne une propagation rapide des champignons.

Les valeurs de DL50 (dose mortelle pour 50% des individus) indiquent que l'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep est efficace pour tuer les pour les deux ravageurs, elles sont égales à 0.7ml soit 13.46% pour le traitement de tribolium et 1.734 ml soit 33.33% pour les pucerons, tendis-que la DL50 pour l'entomopathogène est égales 6.248 x 10^5 pour le tribolium et 6.249 x 10^5 pour les pucerons.

Conclusion générale

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 et l'effet d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* contre deux ravageurs des cultures, le premier ravageur est classé parmi les principaux ennemis des céréales en stocke, c'est le *Tribolium castaneum* et le deuxième ravageur c'est le puceron de la fève *Aphis fabae*.

Suite à cette étude, on va conclure que l'extrait d'huile essentielle du pin d'Alep est très efficace contre les deux insectes (Tribolium et puceron), cette efficacité varie en fonction de la dose utilisée, le temps et de l'insecte. On constate que plus qu'on augmente la dose, le taux de mortalité augmente pour les deux insectes et plus que temps passe, la mortalité devient plus importante.

Nous avons constaté que la mortalité chez le *Tribolium* a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1 et D2 et D3 du l'extrait d'huile essentielle respectivement de 29% et 7,5% et 25%, pour atteindre les 100% au 7ème jour pour la D1, D2 et D3. Tendis-que on a enregistré aucune mortalité chez les témoins durant toute les 7 jours d'observation. Pour la dose la plus forte (D1) la mortalité est très rapide, elle passe de 29% de 1er jour au 60% au 2ème jour pour atteindre 85% au j4 et j5 puis 90% au j6. Alors que pour la dose la plus faible, la mortalité passe de 25% respectivement de 1er jour au 6ème de 37.5%, 42.5%, 45.5% 57.5% à 80% au j6.

L'étude a révélé, que la mortalité chez le puceron a commencé après le 1er jour de traitement par les trois doses D1 et D2 et D3 du l'extrait d'huile essentielle respectivement de 29 % et 7,5 % et 25 %. La mortalité devient plus rapide, elle atteint 100% au 3ème jour pour les trois doses D1 et D2 et D3. La mortalité enregistrée au 2ème est presque non significative pour D1 et D2 (55% et 45%), alors que pour la dose faible on a enregistré que 25% pour le même jour.

Après le traitement des insectes de *Tribolium* par *Metarhizium anisoplie* on a constaté que la mortalité a commencé après le 1er jour les trois doses D1 (6,25 X 10^7 sp/ml) D2 (6,25 X 10^6 sp/ml) D3 (6,25 X 10^5 sp /ml) du *M. anisoplie*, avec un taux respectivement de 20%, 13% et 10%, pour atteindre les 100% au 7ème jour pour les trois doses. On a constaté que le taux de mortalité passe de 20% (j2) à 80% au j6 pour la D1. Pour la D2 et la D3, le taux de mortalité, était faible les premiers jours après traitement, elle varie de 20% à 10% au j2 à 45% à 22.5% au j3, pour arriver à un taux plus élevé au 6ème jour (80% pour D2 et 68.5% pour D3) et 100% au 7ème jour.

Conclusion générale

La mortalité chez le puceron traités par *Metarhizium anisopliae* a commencé après le 1er jour de traitement pour les trois doses respectivement de 29%, 7,5% e t25%. La moitié de la population de puceron traitée (50%) est enregistrée au j1 pour la dose 1 alors que 35% pour la D2 et 20% pour la D3. Pour le 2ème jour, la mortalité a augmenté vers 100% pour D1, 30% pour D2 et 35% pour D3 pour atteindre les 100% au 4ème jour pour les trois doses. Pour les témoins, aucune mortalité n'a été enregistré durant toute la période de l'essai.

Le calcul de la DL50 a révélé que pour le traitement de Tribolium par l'HE, la DL50 est de 36.17 ml soit 0.7 ml (13.46%) et pour traiter les pucerons, la DL50 d'huile essentielle est égale à 1.734 ml (33.33%). Alors que, pour tuer 50% de la population de tribolium par le champignon, il faut que dose soit 6,2 48X 10^5 spore/ml et pour les pucerons est égale à 6,249X 10^5 spore/ml.

En perspective, Il est suggéré de tester des extraits d'autres plantes spontanées sur ces deux ravageurs et même sur d'autres ravageurs des cultures. Aussi, de tester ce champignon contre d'autre ravageur nuisible lutte alternative des produits chimiques et même utilisé d'autres bio-pesticides.

Références bibliographiques

- **Assabah, M. (2011)**. Evolution du peuplement aphidien et de ses ennemis naturels sur une culture de blé dur (var. Vitron) dans la station de Oued Smar (Harrach El3 Alger). Thèse de Magistèr, ENSA, Alger.
- **Arab, R. (2018)**. Valorisation des ressources végétales. Université de Sétif.
- **Bagouls, F., & Gaussen, H. (1953)**. Saison sèche et indice xérothermique. Volume I. Carte des productions végétales, art. 8, Toulouse, 47 p.
- **Benoufelia, K. (2005)**. Les pucerons des agrumes et leurs ennemis naturels à Oued-Aïssi (Tizi-Ouzou). Thèse de Magister, ENSA, Alger, 221 p.
- **Benserradj, O. (2014)**. Évaluation de Metarhizium anisopliae à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de Doctorat 3ème cycle LMD en Biotechnologies, Biologie et Environnement, 166 p.
- **Bentouali, A. (2006)**. Croissance, productivité et aménagement des forêts de pin d'Alep du massif d'oued yagoub (Khenchela -Aurès). Thèse de doctorat d'État en sciences d'agronomie, Université colonel El Hadj Lakhdar, Batna.
- **Bidochka, M. J., & Small, C. L. (2005)**. Phylogeography of Metarhizium, an insect pathogenic fungus. In *Insect–fungal associations: ecology and evolution* (pp. 28-50). Oxford University Press, Oxford.
- **Biodis. (2014)**. Gymnospermes. Diversité 2 Coniferales. Sciences biologiques / biologie végétale générale. Site scientifique et culturel, 66 p.
- **Bischoff, J. F., Rehner, S. A., & Humber, R. A. (2009)**. A multilocus phylogeny of the Metarhizium anisopliae lineage. *Mycologia*, 101, 512-530.
- **Boudy, P. (1952)**. Guide forestier en Afrique du Nord. Ed. La Maison Rustique, 26, rue Jacob -Paris 6. 505 p.
- **Brown, J. K. (2004)**. Tracing the Origin of Cryptic Insect Pests and Vectors, and their Natural Enemies. In *Genetics, evolution and biological control* (chap. 6, pp. 113-135). Wallingford (RU), CABI Publishing.
- **Butt, T. M., Jackson, C., & Magan, N. (2001)**. Introduction – fungal biological control agents: progress, problems and potential. In *Fungi as biocontrol agents* (pp. 1-8). CABI Publishing.
- **Butt, T. M., & Beckett, A. (1994)**. Structural studies on the infection processes of entomogenous fungi. International Colloquium for Invertebr. Pathol., August 28th-Sept. 2nd, 1994, Montpellier, France. Proceedings, pp. 311-314.
- **Clarkson, J. M., & Charnley, A. K. (1996)**. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends in Microbiology*, 4, 197-204.

Références bibliographiques

- **Dahmani, K. S. (2000)**. Contribution à l'étude des caractéristiques dendrométriques de la forêt domaniale de Tlemcen « parc nationale de Tlemcen ». Mémoire d'ingénieur d'état en foresterie, Université de Tlemcen, 54 p.
- **Debazac, E. F. (1991)**. Manuel des conifères. Éditeur AGROPARISTECH, Livre neuf, année 1991, ISBN 9782857100294, 580 p.
- **Delobel, A., & Tran, M. (1993)**. Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Ed. Orstom, Paris, 275 p.
- **Dubesset, D. (2012)**. Microsmes : la photographie d'insectes. France, 124 p.
- **Goettel, M. S. (1992)**. Des champignons comme agents de lutte biologique. In *La lutte biologique contre les acridiens*, sous la direction de C.J. Lomer et C. Prior (pp. 122-131). Ibadan, Nigeria: CAB International/IITA.
- **Guèye, M. T., Seck, D., Wathelet, J. P., & Lognay, G. (2011)**. Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 15(1), 187-198.
- **Hallsworth, J. F., & Magan, K. E. (1999)**. Water and temperature relations of growth of three entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *J. Invertebr. Pathol.*, 261-266.
- **Hulle, M., et al. (2011)**. Les pucerons des grandes cultures : cycles biologiques et activité de vol. Ed QUAE & INRA, Paris, pp. 33-36.
- **Hulle, M. (1999)**. Les pucerons des plantes maraichères : cycles biologiques et activité de vol. Ed QUAE & INRA, Paris, pp. 43-53.
- **Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M., & Strasser, H. (2001)**. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential* (pp. 23-55). CABI Publishing, Wallingford, UK.
- **Kadik, B. (1983)**. Contribution à l'étude du Pin d'Alep en Algérie : Ecologie, dendrométrie, morphologie. Ed. O.P.U., 580 p.
- **Kaboura, A. (2011)**. Étude d'un reboisement du pin des Canaries dans la forêt de Cap-Ivi « Mostaganem ». Mémoire d'ingénieur en agronomie, Université de Mostaganem, 44 p.
- **Kamp, A. M., & Bidochka, M. J. (2002)**. Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars. *Lett. Appl. Microbiol.*, 35, 74-77.
- **Laala, A. (2009)**. Comportement des semis de pin d'Alep sous contraintes thermiques. Mémoire de Magistère en biologie végétale, Université de Constantine, 145 p.
- **Lahouati, R. (2000)**. Expérience des plantations en climat aride. Cas de la ceinture verte en Algérie. Direction Générale des forêts, Ministère de l'Agriculture, Alger.

Références bibliographiques

- **Lebbal, S. (2010)**. Contribution à l'étude de la résistance naturelle de la fève au puceron noir de la luzerne *Aphis craccivora* (Homoptera: Aphididae). Mémoire de Magister, Université El-Hadj Lakhdar, Batna, 68 p.
- **Leclant, F. (2000)**. Les pucerons des plantes cultivées : clefs d'identification, 3 cultures fruitières. Ed QUAE, pp. 1-23.
- **Lepoivre, P. (2003)**. Phytopathologie. Ed De Boeck & Larcier, 427 p.
- **Maestre, F. T., & Cortina, J. (2004)**. Insights into ecosystem composition and function in a sequence of degraded semiarid steppes. *Restoration Ecology*, 12, 494-502.
- **Meddour, S. O., Bouisset, C., & Derridj, A. (2013)**. La gestion du risque incendie de forêt en Algérie : des mesures curatives ou préventives. Conférence internationale, France, 34 p.
- **Meradsi, F. (2009)**. Contribution à l'étude de la résistance naturelle de la fève *Vicia faba* L. au puceron noir *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Homoptera: Aphididae). Mémoire de Magistèr, Université El-Hadj Lakhdar, Batna, 73 p.
- **Moussi, T. (2017)**. Utilisation de la poudre végétale du Romarin, Eucalyptus, Marrube et des micro-ondes 80 p.