

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA – BOUMERDES



Faculté des sciences

Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de

**MASTER II**

Domaine : science de la nature et la vie

Filière : sciences Biologique

Spécialité : Biologie des Populations et des Organismes

***L'UTILISATION DES CHAMPIGNONS ENDOPHYTES DANS  
LA LUTTE CONTRE LES MOUSTIQUES***

**Présenté par :**

- MAKHLOUF Asma
- GAYA Hanane

**Devant le jury :**

M <sup>me</sup> KHEMILI	Souad	MCA	UMBB	Présidente
M <sup>me</sup> ROUANE	Asma	MAA	UMBB	Examinatrice
M <sup>r</sup> ARAB	Karim	Professeur	UMBB	Promoteur
M <sup>me</sup> TOUBAL	Souheyla	Docteur	UMBB	Co-promotrice

Année universitaire : 2018/2019

## Résumé

Le présent travail s'articule autour de deux axes, l'un porte sur l'isolement et l'identification des champignons endophytes à partir de deux plantes *B. officinalis* L. et *P. tobira* récoltées à Boumerdès. L'autre vise à évaluer l'activité insecticide de cinq champignons endophytes contre les larves L4 de moustique *Cs. longiareolata*. Cinq champignons endophytes ont été isolés et identifiés. *Fusarium sp.* (Bo1); *Cladosporium sp.* (Bo2); *Penicillium sp1.* (Bo3); *Penicillium sp2.* (Pt1) et *Aspergillus sp.* (Pt2).

Par ailleurs, la meilleure activité larvicide contre larves L4 de *Cs. longiareolata* est attribuée à *Fusarium sp.* ( $DL_{50} = 6,45 \times 10^5$  spore/ml) et *Aspergillus sp.* ( $DL_{50} = 6,45 \times 10^7$  spore/ml), suivi de *Penicillium sp.2* ( $DL_{50} = 2,39 \times 10^8$  spore/ml); *Penicillium sp1.* ( $DL_{50} = 1,99 \times 10^9$  spore/ml) et enfin *Cladosporium sp.* ( $DL_{50} = 6,30 \times 10^{10}$  spore/ml) ( $P < 0.01$ ). La présente étude suggère que *B. officinalis* L. et *P. tobira* peuvent être une niche de plusieurs champignons endophytes qui présentent une bonne alternative de lutte biologique, économique et moins nocif sur l'environnement.

**Mots clés :** *B. officinalis* L. ; *P. tobira* ; champignons endophytes ; lutte biologique, *Cs. longiareolata* ; *Fusarium sp.* ; *Aspergillus sp.*

## Abstract

The present work is based on two axes, one dealing with the isolation and identification of endophytic fungi associated with the two *B. officinalis* L. and *P. Tobira* plants harvested in Boumerdès. The other aims to evaluate the insecticidal activity of five endophytic fungi against *Cs. longiareolata* mosquito larvae L4. Various endophytic fungi have been isolated and identified. These are: *Fusarium sp.* (Bo1); *Cladosporium sp.* (Bo2); *Penicillium sp1.* (Bo3); *Penicillium sp2.* (Pt1) and *Aspergillus sp.* (Pt2).

Moreover, the best larvicidal activity against L4 larvae of *Cs. longiareolata* is attributed to *Fusarium sp.* ( $LD_{50} = 6.45 \times 10^5$  spore / ml) and *Aspergillus sp.* ( $LD_{50} = 6.45 \times 10^7$  spore / ml), followed by *Penicillium sp.2* ( $LD_{50} = 2.39 \times 10^8$  spore / ml); *Penicillium sp1.* ( $LD_{50} = 1.99 \times 10^9$  spore / ml) and finally *Cladosporium sp.* ( $LD_{50} = 6.30 \times 10^{10}$  spore / ml) ( $P < 0.01$ ). The present study suggests that *B. officinalis* L. and *P. Tobira* may be a niche of several endophytic fungi that have a good biological control alternative, economical and less harmful to the environment.

Key words: *B. officinalis* L.; *P. Tobira*; endophytic fungi; biological control, *Cs. longiareolata*; *Fusarium sp.*; *Aspergillus sp.*

## ملخص

يعتمد هذا العمل على محورين، أحدهما يتركز على عزل وتحديد الفطريات الداخلية المرتبطة بنباتين و هما *B. officinalis* L. و *Pt. Tobira* التي تم حصد هما في بومرداس.

ويهدف الآخر إلى تقييم نشاط المبيدات الحشرية لخمسة فطريات داخلية ضد يرقات البعوض *Cs. longiareolata*. تم عزل وتحديد أنواع مختلفة من الفطريات الداخلية للنبات هذه الفطريات هي: *Fusarium sp.* (Bo1); *Cladosporium sp.* (Bo2); *Penicillium sp1.* (Bo3); *Penicillium sp2.* (Pt1) و *Aspergillus sp.* (Pt2).

علاوة على ذلك، فإن أفضل نشاط يرقي ضد يرقات L4 لـ *Cs. Longiareolata* ينسب إلى *Fusarium sp.* ( $LD_{50} = 6.45 \times 10^5$  spore / ml) و *Aspergillus sp.* ( $LD_{50} = 6.45 \times 10^7$  spore / ml) متبوعة بـ *Penicillium sp.2* ( $DL_{50} = 2,39 \times 10^8$  spore / ml) ; *Penicillium sp1.* ( $DL_{50} = 1,99 \times 10^9$  spore/ml) وأخيرا *Cladosporium sp.* ( $DL_{50} = 6,30 \times 10^{10}$  spore/ml).

تشير هذه الدراسة إلى أن *B. officinalis* L. و *Pt. Tobira* قد تكونان عُشاً للعديد من الفطريات الداخلية العديدة التي لديها بديل جيد للكفاح البيولوجي، اقتصادي وأقل ضرراً بالبيئة.

كلمات دلالية:

*B. officinalis* L. ; *Pt. tobira* ; الفطريات الداخلية; كفاح البيولوجي *Cs. longiareolata* ; *Fusarium sp.* ; *Aspergillus sp.*

# *Remerciements*

*Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu, de nous avoir donné la santé, la force, la patience et des capacités nécessaires pour pouvoir réaliser ce travail.*

*Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de recherche « Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques (VALCORE) » de l'Université M'Hamed Bougara, Boumerdès (UMBB) sous la direction de Prof. Karim ARAB que nous le remercions vivement pour la confiance qui nous a accordé.*

*Nous adresse nos plus vifs remerciements à Dr. Toubal Souheyla qui nous proposé ce travail si intéressant. Nous avons beaucoup apprécié ses qualités scientifiques, humaines et surtout son optimisme tout le long du parcours. Nous tenons tout particulièrement la remercier pour son aide appréciable, sa gentillesse, sa grande disponibilité sa compréhension. et ses précieux conseils. Ce fut un plaisir et une chance de nous travailler avec elle.*

*Nous remercions Mme KHEMILI Souad, en acceptant de présider ce travail malgré ses nombreuses occupations.*

*Nos vifs remerciements vont également à M<sup>me</sup> ROUANE Asma, qui a bien voulu accepter d'examiner ce travail*

*Nous adressons nos profondes gratitudee à Dr. Boukraa et à Pr. Boureghdaa de l'Ecole National Supérieur d'Agronomie d'El Harrach (ENSA, Alger) pour leur aide à l'identification des moustiques et des champignons*

*Asma et Hanane*

# Dédicace

*Avant tout je tiens dédier ce travail à...*

*A mes très chers parents MALIKA et NACER qui se sont dévoués corps et âme pour me voir réussir dans ma vie, que dieu les garde.*

*A mon Fiancé : abdelkader*

*A mes sœurs bien aimée : lilia et chiraz*

*A mes nièces : lina et racha*

*A mon cher frère : Tarek*

*A ma famille : Makhlouf*

*A la fin je dédie très chaleureusement cette mémoire à mon Binôme d'étude Hanane*

*A mon amie Tebal nawel*

*A tous mes amies*

ASMA

# Dédicace

*Avant tout je tiens dédier ce travail à...*

*Mes très chères à mon cœur, celles qui m'ont donné la vie et comblée d'amour. Que ce travail soit le témoignage de ma gratitude et que ces mots soient l'affirmation de mon amour le plus profond.*

*A la mémoire de mon père Ali, parti trop top...  
Puisse Dieu l'avoir en sa sainte miséricorde! Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Papa, je ne cesserai jamais de te pleurer, mais je reste toujours prie pour le salut de ton âme, si tu m'entends de là où tu es, j'aimerais simplement te dire que tu me manques.  
Repose en paix!*

*A ma mère Baya, la personne la plus importante dans ma vie. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mes sœurs bien aimée : Rafika, Nassima, Farida, Leila, Lynda.*

*A mes familles : Gaya et Dahri*

*Je désire exprimer mes vifs remerciements à mon binôme Asma pour sa patience et sa gentillesse devant ce travaille.*

*A mon amie Tebal Nawel*

*A tous mes amies et mes collègues de la promotion*

*A tous les personnes qui m'aident*

**HANANE**

**APG** : Angiosperm Phlogeny Group

***B.officinalis L.*** : *Borago officinalis* Linné.

**Bo1** : *Borago officinalis* 1 (*Fusarium sp.*)

**Bo2** : *Borago officinalis* 2 (*Cladosporium sp.*)

**Bo3** : *Borago officinalis* 3 (*Penicillium sp.1*)

**C** : Classe

**cm** : Centimètre

**COVs** : Composé organique volatile

***Cs. longiareolata*** : *Culiseta longiareolata*

***Cx.pipiens*** : *Culex pipiens*

**D** : Dose

**DL50**: Dose Létale suffisante pour tuer 50% des individus

**E** : Espèce

**E.S.M** : Erreur standard à la moyenne

**F** : Famille

**FI** : Fréquence d'isolement

**G** : Genre

**h** : Heure

**j**: Jours

**L1** : Larves du 1<sup>ère</sup> stade

**L2** : Larves du 2<sup>ème</sup> stade

**L3** : Larves du 3<sup>ème</sup> stade

**L4** : Larves du 4<sup>ème</sup> stade

**Mc** : moyenne de mortalité corrigée

**min** : Minute

**ml** : Millilitre

## *Liste des abréviations*

**mm** : Millimètre

**O** : Ordre

**OMS** : Organisation Mondial De La Santé

**PDA** : Potato-Dextrose-Agar

**pH** : Potentiel hydrogène

***P.tobira*** : *Pittosporum tobira*.

**Pt1** : *Pittosporum tobira* 1 (*Penicillium sp.2*)

**Pt2**: *Pittosporum tobira* 2 (*Aspergillus sp.*)

**R** : Règne

**S** : Ecart Type

**s** : Seconde

**SM** : Solution mère

**sp/ml** : Spore/Millilitre

**T** : Témoins

**Tab** : Tableau

**TC**: Taux de colonisation

**TL50** : Temps léthal au bout duquel on obtient 50% de mortalité

**Ts** : Temps

**X** : Moyenne arithmique

**x40** : Grossissement 40

## Liste des figures

<b>N° : Figure</b>	<b>Les Titres des figures</b>	<b>P</b>
<b>Figure 01</b>	Partie aérienne de la bourrache <i>B. officinalis</i> L.	<b>04</b>
<b>Figure 02</b>	Les feuilles, les fleurs et les graines de <i>P. tobira</i> .	<b>06</b>
<b>Figure 03</b>	Différents modèles de localisation des endophytes fongiques dans les tissus végétaux.	<b>08</b>
<b>Figure 04</b>	Rôle des champignons endophytes dans l'écosystème.	<b>10</b>
<b>Figure 05</b>	Nacelles d'œufs de <i>Cs. longiareolata</i> .	<b>12</b>
<b>Figure 06</b>	La larve de <i>Cs. longiareolata</i> .	<b>13</b>
<b>Figure 07</b>	La nymphe de <i>Cs. longiareolata</i> .	<b>13</b>
<b>Figure 08</b>	Imago femelle de <i>Cs. longiareolata</i> .	<b>14</b>
<b>Figure 09</b>	Cycle biologique des Culicidae.	<b>14</b>
<b>Figure 10</b>	<i>Pittosporum tobira</i> et <i>Borago officinalis</i> L.	<b>17</b>
<b>Figure 11</b>	Gîte larvaire et larves de <i>Cs. longiareolata</i> .	<b>18</b>
<b>Figure 12</b>	Identification des larves à l'aide d'une loupe binoculaire.	<b>18</b>
<b>Figure 13</b>	Carte géographique de la wilaya de Boumerdès.	<b>19</b>
<b>Figure 14</b>	Les étapes de stérilisation superficielle des feuilles de <i>B. officinalis</i> L. et <i>P. tobira</i> (Thunb) W.T. Aiton).	<b>20</b>
<b>Figure 15</b>	Découpage des feuilles en petits morceaux et isolement des champignons endophytes.	<b>21</b>
<b>Figure 16</b>	Les étapes de préparation des solutions entomopathogènes.	<b>24</b>
<b>Figure 17</b>	Des godets de bio test.	<b>25</b>
<b>Figure 18</b>	Taux de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de <i>Cs. longiareolata</i> traitées par cinq solutions entomopathogènes en fonction de temps.	<b>40</b>
<b>Figure 19</b>	L'effet des champignons endophytes sur les larves L4 de <i>Cs. longiareolata</i> .	<b>41</b>

## Liste des tableaux

<b>N° : Tableau</b>	<b>Titre des tableaux</b>	<b>P</b>
<b>Tableau01</b>	Classification binomiale de la bourrache <i>Borago officinalis</i> L.	<b>03</b>
<b>Tableau02</b>	Position systématique de <i>Pittosporum tobira</i> (Thunb) W.T.Aiton.	<b>06</b>
<b>Tableau03</b>	Position systématique du <i>Cs.longiareolata</i> (Macquart, 1838).	<b>11</b>
<b>Tableau04</b>	Codage des champignons endophytes.	<b>22</b>
<b>Tableau05</b>	Taux de colonisation et fréquence d'isolement	<b>28</b>
<b>Tableau06</b>	Résultat de l'identification macroscopique	<b>30</b>
<b>Tableau07</b>	Aspect microscopique des cinq isolats fongique endophytes	<b>32</b>
<b>Tableau08</b>	Moyenne de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves de <i>Cs.longiareolata</i> traitées par <i>Fusarium sp.</i> (Bo1)	<b>36</b>
<b>Tableau09</b>	Moyenne de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de <i>Cs.longiareolata</i> traitées par <i>Cladosporium sp.</i> (Bo2)	<b>36</b>
<b>Tableau10</b>	Pourcentage de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de <i>Cs.longiareolata</i> traitées par <i>Penicillium sp1.</i> (Bo3)	<b>37</b>
<b>Tableau11</b>	Pourcentage de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de <i>Cs. longiareolata</i> traitées par <i>Penicillium sp2.</i> (Pt1)	<b>38</b>
<b>Tableau12</b>	Moyenne de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de <i>Cs.longiareolata</i> traitées par <i>Aspergillus sp.</i> (Pt2).	<b>38</b>
<b>Tableau13</b>	Equations des droites de régressions et valeurs des DL <sub>50</sub> pour chaque champignon après 2j de traitement.	<b>42</b>
<b>Tableau14</b>	Equations des droites de régressions et valeurs des TL <sub>50</sub> pour chaque dose de <i>Fusarium sp.</i>	<b>43</b>
<b>Tableau15</b>	Equations des droites de régressions et valeurs des TL <sub>50</sub> pour chaque dose de <i>Cladosporium sp.</i>	<b>43</b>
<b>Tableau16</b>	Equations des droites de régressions et valeurs des TL <sub>50</sub> pour chaque dose de <i>Penicillium sp1.</i>	<b>44</b>
<b>Tableau17</b>	Equations des droites de régressions et valeurs des TL <sub>50</sub> pour chaque dose de <i>Penicillium sp.2</i>	<b>44</b>
<b>Tableau18</b>	Equations des droites de régressions et valeurs des TL <sub>50</sub> pour chaque dose d' <i>Aspergillus sp.</i>	<b>45</b>

## *Liste des tableaux*

## *Sommaire*

<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Chapitre I : synthèse bibliographique</b>	
<b>I.1.Généralités sur les plantes</b>	<b>03</b>
<b>I.1.1.<i>Borago officinalis</i> L.</b>	<b>03</b>
I.1.1.1. Nomenclature et classification	03
I.1.1.2. Description botanique de <i>B.officinalis</i> L.	03
I.1.1.3. Ecologie	04
I.1.1.4. Origine et répartition	05
I.1.1.5. Utilisations	05
<b>I.1.2.<i>Pittosporum tobira</i> (Thunb.)W.T.Aiton</b>	<b>06</b>
I.1.2.1. Position systématique	06
I.1.2.2. Description botanique de <i>P. tobira</i>	06
I.1.2.3. Origine et répartition	07
I.1.2.4. Utilisations	07
<b>I.2. Les champignons endophytes</b>	<b>07</b>
<b>I.2.1. Classification des champignons endophytes</b>	<b>07</b>
I.2.1.1. Les endophytes de classe 1	08
I.2.1.2. Les endophytes de classe 2	08
I.2.1.3. Les endophytes de classe 3	08
I.2.1.4. Les endophytes de classe 4	08
<b>I.2.2. Modes de reproduction et de transmission des champignons endophytes.</b>	<b>09</b>
<b>I.2.3. Rôle des champignons endophytes</b>	<b>09</b>
<b>I.3.Aperçu générale sur <i>Culiseta longiareolata</i> (Macquart, 1838)</b>	<b>11</b>
<b>I.3.1.Position systématique</b>	<b>11</b>
<b>I.3.2. Morphologie général des différents stades larvaires</b>	<b>12</b>
<b>I.3.3. Cycle de vie des moustiques</b>	<b>14</b>
<b>I.3.4.Les moustiques et les maladies vectorielle</b>	<b>14</b>
<b>I.4. La lutte anti-vectorielle</b>	<b>15</b>
I.4.1. La lutte physique	15
I.4.2. La lutte génétique	15
I.4.3. La lutte chimique	15
I.4.4. La lutte biologique	16

**Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>II.1. Matériel</b>	<b>17</b>
<b>II.1.1. Matériel biologique</b>	<b>17</b>
II.1.1.1. Matériel végétal	17
II.1.1.2. Matériel animal	18
<b>II.1.2. Matériel non biologique</b>	<b>19</b>
<b>II.2. Méthodes</b>	<b>19</b>
<b>II.2.1. Méthode d'échantillonnage</b>	<b>19</b>
<b>II.2.2. Méthode d'isolement des champignons endophytes</b>	<b>19</b>
<b>II.2.3. Dénombrement des colonies</b>	<b>22</b>
<b>II.2.4. Techniques d'identification</b>	<b>23</b>
<b>II.2.4.1. Analyse macroscopique</b>	<b>23</b>
<b>II.2.4.2. Analyse microscopique</b>	<b>23</b>
<b>II.2.5. Evaluation de l'activité insecticide</b>	<b>24</b>
<b>II.2.5.1. Préparation de la solution entomopathogènes</b>	<b>24</b>
<b>II.2.5.2. Échantillonnage des larves</b>	<b>24</b>
<b>II.2.5.3. Evaluation des bio- essais</b>	<b>25</b>
<b>II.2.6. Analyse statistique</b>	<b>26</b>
<b>II.2.6.1. Pourcentage de mortalité et mortalité corrigée</b>	<b>26</b>
<b>II.2.6.2. Analyse des Probits</b>	<b>27</b>
<b>Chapitre III : Résultats et discussion</b>	
<b>III.1. Résultat d'isolement des champignons endophytes</b>	<b>28</b>
<b>III.2. Résultat d'identification des isolats fongiques</b>	<b>28</b>
<b>III.2.1. Résultat de l'analyse macroscopique</b>	<b>29</b>
<b>III.2.2. Résultat de l'analyse microscopique</b>	<b>32</b>
<b>III.3. Résultats du test insecticide</b>	<b>35</b>
<b>III.3.1. Calcul de la DL50</b>	<b>42</b>
<b>III.3.2. Calcul de la TL50</b>	<b>42</b>
<b>Conclusion</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques</b>	<b>50</b>
<b>Annexes</b>	<b>60</b>

## *Sommaire*

## ***Introduction***

Le souci de la santé humaine est l'une des meilleures raisons d'étudier les insectes nuisibles qui ont une incidence sur les maladies infectieuses. La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique d'une part, et la lutte contre les maladies transmises par leurs piqûres d'autre part, font de ces insectes un bon matériel d'étude pour les biologistes (**Oudainia, 2015**).

Les moustiques sont les vecteurs de maladies infectieuses les mieux connus. De nombreuses espèces de moustiques sont susceptibles de jouer un rôle dans la transmission de divers agents pathogènes responsables des maladies infectieuses humaines et animales telles que (le paludisme, le chikungunya, la fièvre jaune etc...). Ils sont considérés également comme un véritable fléau par les piqures douloureuses et gênantes qu'ils occasionnent et constituent de ce fait un grand problème de nuisance (**Boukraa et al., 2013 ; Toubal et al., 2018**).

Afin de lutter contre ces insectes piqueurs, il devient de plus en plus nécessaire de chercher des moyens pour réduire les populations de ceux-ci. C'est ainsi qu'a commencé l'essor des insecticides chimiques. La découverte en 1940 des propriétés insecticides du DDT ou dichlorodiphényldichloréthane, a constitué une avancée majeure dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle en raison de sa performance et sa facilité d'application (**OMS 1999**). L'utilisation intensive d'insecticides chimiques a créé un certain nombre de problèmes écologiques, tels que le développement de souches d'insectes résistantes, le déséquilibre écologique et les dommages causés aux mammifères (Homme).

Les produits naturels sont généralement préférés en raison de leur nature moins nocive pour les organismes non ciblés et de leur biodégradabilité (**Chung et al., 2010**). Face à ces problèmes, il est urgent d'envisager l'utilisation de moyens alternatifs pour la lutte antivectorielle. Dans cette optique, les champignons endophytes sont considérés actuellement comme un des groupes biologiques les plus prometteurs en matière de protection des plantes contre un bon nombre des insectes ravageurs et pathogènes (**Vega et al., 2009**).

En Algérie, l'étude sur les moustiques fait apparaître plusieurs travaux anciens et récents touchant divers aspects comme les inventaires sur la diversité de la faune Culicidiène, la systématique, la bio-écologie, la physiologie ou la lutte chimique et biologique (**Soltani, 2015 ; Bawin et al., 2015 ; Messai et Berchi, 2017 ; Boudershem, 2015 ; Rebiai, 2017 ; Benzina et al., 2018 ; Toubal et al., 2018**). Cependant aucun travail visant à évaluer l'activité bioinsecticide en utilisant les champignons endophytes isolés de la bourrache (*Borago officinalis* L.) ou de Pittospore (*Pittosporum tobira* (Thunb) W.T.Aiton.) comme

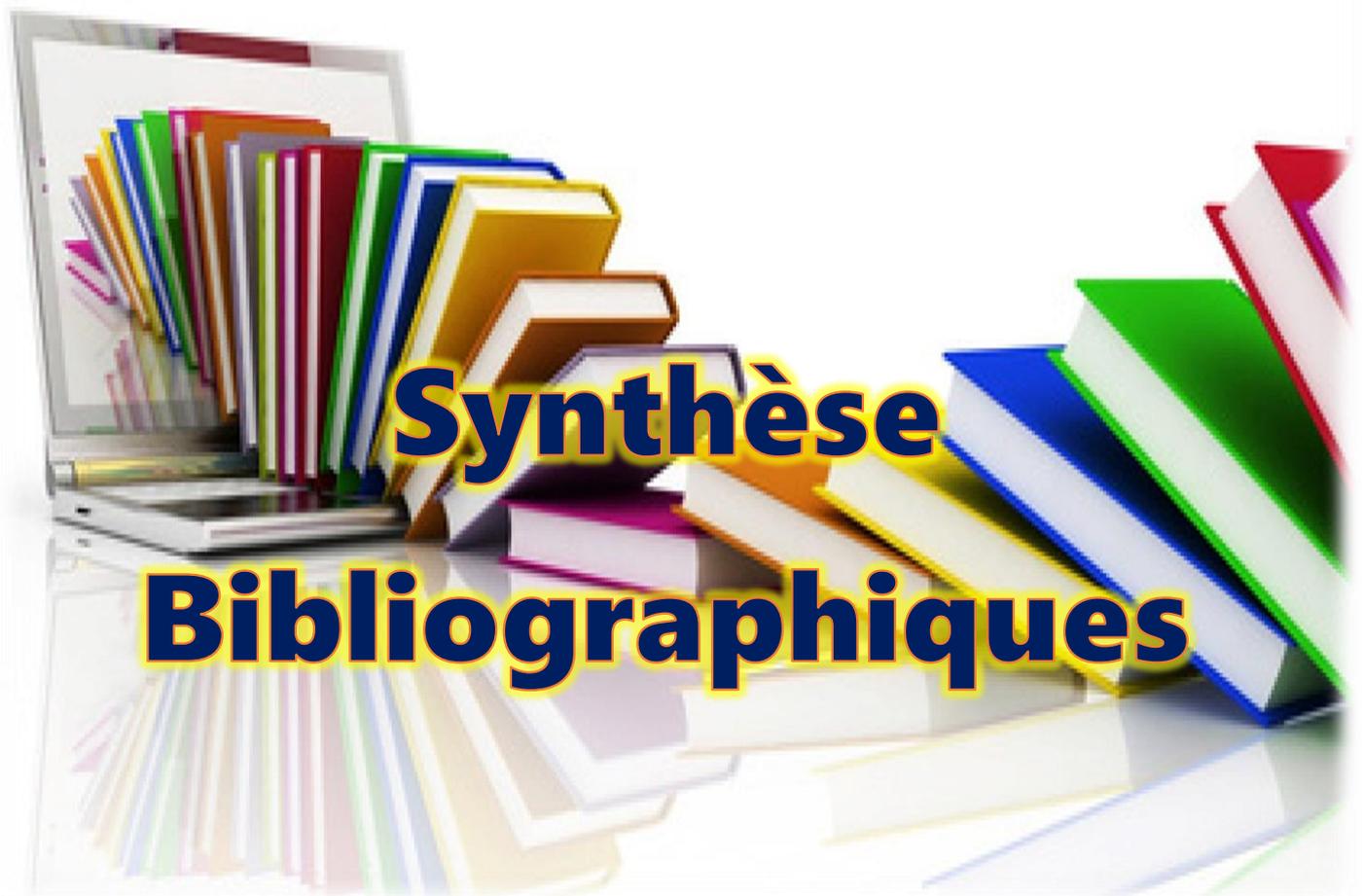
## ***Introduction***

agents de biocontrôle contre les moustiques notamment les larves de *Culiseta longiareolata* n'a été effectué à l'heure actuelle.

L'objectif de la présente étude est d'isoler et d'identifier pour la première fois les champignons endophytes à partir de deux plantes médicinales (*Borago officinalis* L. et *Pittosporum tobira* (Thunb) W.T.Aiton) d'une part, et d'évaluer leurs pouvoir bioinsecticide contre les moustiques de quatrième stade (L4) de *Culiseta longiareolata* (Macquart) d'autre part.

Ce travail se matérialise au tour de trois chapitres :

- Le premier renferme des données bibliographiques sur les modèles biologiques (*Borago officinalis* L.; *Pittosporum tobira* (Thunb) W.T.Aiton; *Culiseta longiareolata* (Macquart)), les champignons endophytes (leurs classification, mode de reproduction et rôles biologiques) et les maladies vectorielles ;
- Le deuxième est consacré à la présentation du matériel utilisé ainsi que la méthodologie suivie ;
- Les résultats sont présentés, interprétés et discutés dans un troisième chapitre. Enfin, le travail se termine par une conclusion générale et des perspectives.



**Synthèse  
Bibliographiques**

## I.1.Généralités sur les plantes étudiées

### I.1.1.*Borago officinalis* L.

#### I.1.1.1.Nomenclature et classification

Selon **Dufresne et Ouellet (2009)**, les différentes dénominations de la bourrache *Borago officinalis* L. (*B.officinalis* L.) sont :

**Nom français :** Bourrache

**Nom anglais :** *Borage*

**Nom en arabe :** أبو العرق الحمحم المخزني أو لسان الثور

**Autres noms :** Bourrage, langue de bœuf, bourse, Pain des abeilles, herbe à la suée.

Cette plante appartient à la famille des Boraginaceae, genre *Borago*, espèce *Borago officinalis* L. (APG III, 2009) (Tab. 01).

**Tableau01.**Classification binomiale de la bourrache *Borago officinalis* L. (1735) (APGIII, 2009) (Milcent, 2010.<https://.tela-botanica.org>)

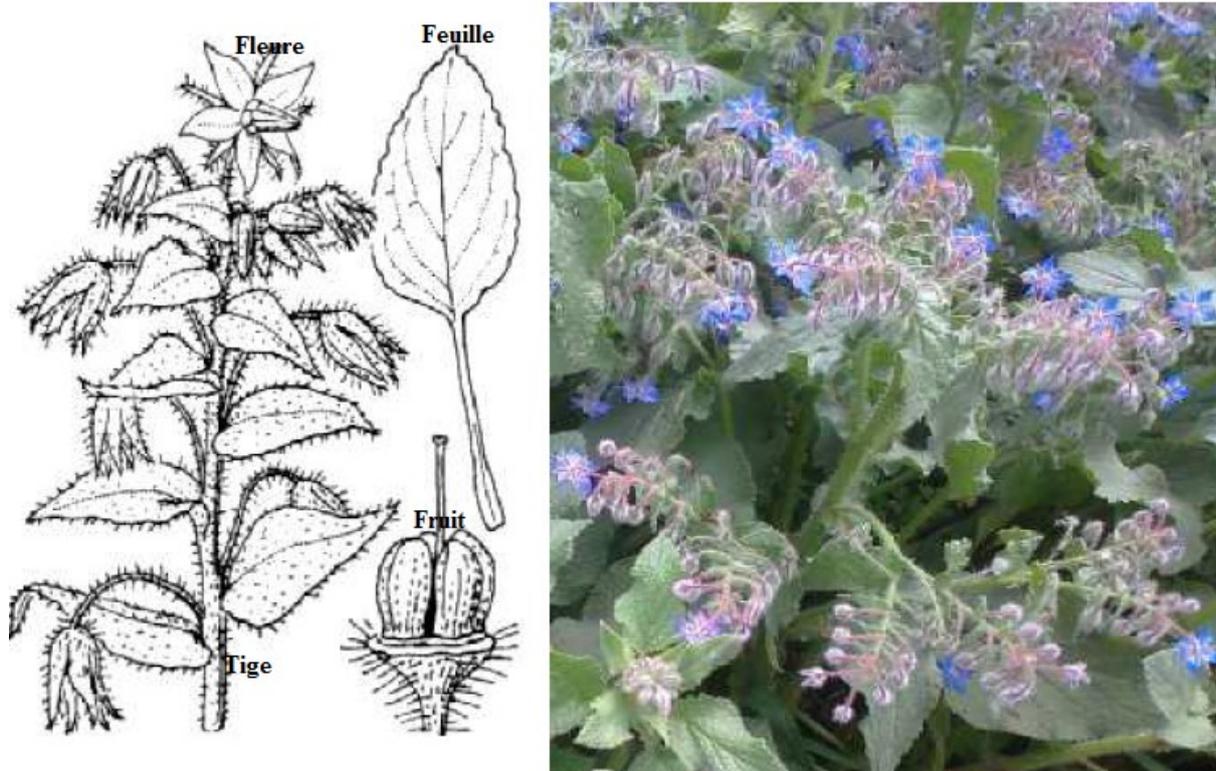
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Clade</b>	Angiospermes
<b>Clade</b>	Dicotylédones vrais supérieurs
<b>Clade</b>	Astéridées
<b>Clade</b>	Lamiidées
<b>Ordre</b>	Boraginales
<b>Famille</b>	Boraginaceae
<b>Genre</b>	<i>Borago</i>
<b>Espèce</b>	<i>Borago officinalis</i>

#### I.1.1.2.Description botanique de *B.officinalis* L.

*Borago officinalis* ou bourrache est une plante herbacée annuelle qui est cultivé pour des utilisations médicinales et culinaires, même si elle est cultivée commercialement pour l'huile de graines de Bourrache (**Asadi-Samani et al., 2014**). Il s'agit d'une plante de 20 à 70 cm de hauteur, entièrement couverte de poils raides et piquants, ayant une tige épaisse, creuse, arrondie et striée longitudinalement.

Les larges feuilles alternes portent de longs poils hérissés sur toute leur surface, ce qui est propre à la famille des borraginacées. Les parties vertes de la plante dégagent une forte odeur

de concombre. Elle produit en abondance de petites fleurs en forme d'étoiles passant du violet au bleu ciel, puis au rose lorsqu'elles commencent à décliner (**Fig. 01**). Le fruit est formé d'akènes verruqueux. La floraison s'étale généralement de Mars à Mai. Les graines brunes noirâtres dépourvues d'albumen parviennent à maturité de façon graduelle. Les fleurs sont autostériles et la pollinisation doit être assurée par les insectes. La bourrache est une plante commune qui supporte un demi-ombrage, ayant de bonnes réserves en eau, avec un comportement héliophile (**Zemmouri, 2015**).



**Figure 01.**Partie aérienne de la bourrache *B.officinalis* L. (**Milcent, 2010**.<https://tela-botanica.org> ; **Gaya et Makhlouf,2019**)

### I.1.1.3.Ecologie

C'est une plante à haute résistance au froid qui peut bien pousser dans des sols humides avec un bon drainage, des endroits herbeux et en exposition complète au soleil. La Bourrache peut aussi mieux pousser sur des terres exposées à soleil modéré. Le soleil intense peut changer la plante en rosette état.

Cette plante peut pousser dans chaque type de sol et dans une gamme de pH allant de 4,5 à 8,2. Le pH approprié pour cette plante est de 6,6. Il a été rapporté que la bourrache peut être

facile à cultiver dans des sols moyens ou lourds avec de l'eau salée (**Asadi-Samani et al., 2014**).

#### **I.1.1.4. Origine et répartition**

Il a été supposé que les principales sources de bourrache proviennent de La Syrie et l'Asie mineure alors que cette plante se trouve juste en très petite quantité. Il semble que cette plante est à l'origine des régions méditerranéennes ouest, Espagne et Afrique du Nord et puis a naturalisé dans de nombreux autres endroits. Historiquement, les documents montrent que les personnes appartenant à des tribus de l'Afrique du Nord ont transféré en Espagne, puis dans d'autres régions (**Asadi-Samani et al., 2014**).

#### **I.1.1.5. Utilisations**

##### **a. Usage traditionnel**

La bourrache a été traditionnellement utilisée pour la régulation du métabolisme et le système hormonal et la considèrent comme un bon remède contre le syndrome prémenstruel et les symptômes de la ménopause tels que les bouffées de chaleur. Elle est parfois indiquée pour soulager et guérir le rhume, la bronchite et les infections respiratoires en général pour son action anti-inflammatoire et propriétés balsamiques (**Gupta et Singh, 2010**).

Dans la médecine traditionnelle iranienne, la décoction de *B. officinalis* L. est censément utilisé pour le traitement d'une variété de maladies, y compris la toux, les maux de gorge, les plaies cutanées et comme tranquillisant (**Karimi et al., 2018**).

##### **b. En alimentation**

La bourrache a été utilisée de sorte que les feuilles peuvent être ajoutées aux salades et aux sandwiches, ou employées comme herbes aromatiques pour relever les sauces et les soupes. Quant aux fleurs, elles sont appréciées en confiserie, en sirop ou comme garniture sur les pâtisseries (**Dufresne et Ouellet, 2009**).

##### **c. En agriculture**

La bourrache est une plante mellifère très attirante pour les abeilles. Elle a également des propriétés antifongiques, entre autres, contre la moisissure grise, ce qui en ferait une plante compagne intéressante pour le fraisier. En production animale, elle est utilisée comme tonique (**Dufresne et Ouellet, 2009**).

### I.1.2. *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T. Aiton

#### I.1.2.1. Position systématique

Selon l'APG III(2009) ; Milcent (2010), la position taxonomique de *Pittosporum* est la suivante :

**Tableau 02.** Position systématique de *Pittosporum tobira*(Thunb) W.T.Aiton. (APG III, 2009; Milcent, 2010. <https://.tela-botanica.org>).

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Clade</b>	Angiospermes
<b>Clade</b>	Dicotylédones vraies supérieures
<b>Clade</b>	Astéridées
<b>Clade</b>	Campanulidées
<b>Ordre</b>	Apiales
<b>Famille</b>	pittosporaceae
<b>Genre</b>	<i>Pittosporum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Pittosporum tobira</i>

#### I.1.2.2. Description botanique de *P. tobira*

Le *P. tobira* est un petit, mince arbre à feuilles persistantes mesure de 2 à 3 mètres de hauteurs. Les graines subissent un changement de couleur graduel du vert à l'orange à la fin de l'automne et à l'hiver (Chung *et al.*, 2010).

Les feuilles sont vert foncé et de petite taille (2 cm de diamètre) ont une odeur semblable à celle des fleurs orange, sa floraison se fait au moins de Mai (Fig. 2a et 2b). Les graines rouge sont enfermées dans les fruits encapsulés (Fig. 2c).



(a)



(b)



(c)

**Figure 02.** Les feuilles (a), les fleurs (b) et les graines de *Pt. Tobira* (Milcent, 2010 ; <https://.tela-botanica.org>).

### I.1.2.3. Origine et répartition

Le Pittospore du Japon est originaire d'Extrême-Orient, plus particulièrement de Chine, de Corée. *Pittosporum tobira* est une plante qui appartient à la famille des Pittosporaceae. Cette famille comprend, en plus de *Pittosporum* dont l'aire est très vaste, un genre s'étendant sur l'Australie, l'Indonésie et les Philippines et sept autres qui sont endémiques en Australie. Elle comptabilise donc neuf genres et environ 200 espèces réparties dans les régions paléo tropicales (Hamdani et Bourega, 2018).

### I.1.2.4. Utilisations

Il a été démontré que cette plante possède de nombreuses propriétés pharmaceutiques. Ses effets protecteurs contre la neurotoxicose induite par le glutamate. De plus, El Dib *et al.*, (2015), ont déterminé que la fraction de n-butanol des feuilles de *P. tobira* possédait une activité antimicrobienne et des effets cytoprotecteurs contre les lignées cellulaires de carcinome du sein, de carcinome hépatocellulaire et de carcinome du côlon (Milcent, 2010 ; Rjeibi *et al.*, 2017).

## I.2. Les champignons endophytes

Les endophytes fongiques sont omniprésents dans les plantes et les colonisent sans effets indésirables ; les plantes servent d'hôte et fournissent des nutriments à ces champignons. A travers cette relation mutualiste avec leurs plantes hôtes, les endophytes renforcent la tolérance des plantes aux stress biotiques et abiotiques (Lugtenberg *et al.*, 2016; Moloinyane et Nchu, 2019). Les travaux menés par Reiter *et al.*, (2002) ; Wang et Dai (2011) et Alice (2018), ont montré que certains endophytes appartiennent à des espèces pathogènes bien connues d'une plante hôte spécifique mais avec des effets promoteurs de croissance sur d'autres espèces.

### I.2.1. Classification des champignons endophytes

Les champignons endophytes représentent un groupe écologique et taxonomique extrêmement diversifié. Ils appartiennent à l'embranchement des Ascomycota. Cependant, certains appartiennent à d'autres taxons tels que les Deuteromycota, Basidiomycota, Zygomycota et les Oomycota (Kouadria, 2019). Actuellement, les endophytes sont divisés en 4 classes selon la localisation dans les tissus de l'hôte (Fig.03).

### I.2.1.1. Les endophytes de classe 1

Ils sont constitués par des champignons appartenant à la famille Clavicipitaceae (Ascomycota) constituée actuellement de 37 genres 4 possèdent des espèces endophytismes : *Balansia*, *Epichloë*, *Ephelis* et *Neotyphoduim* (Chebil et Aouti, 2018).

### I.2.1.2. Les endophytes de classe 2

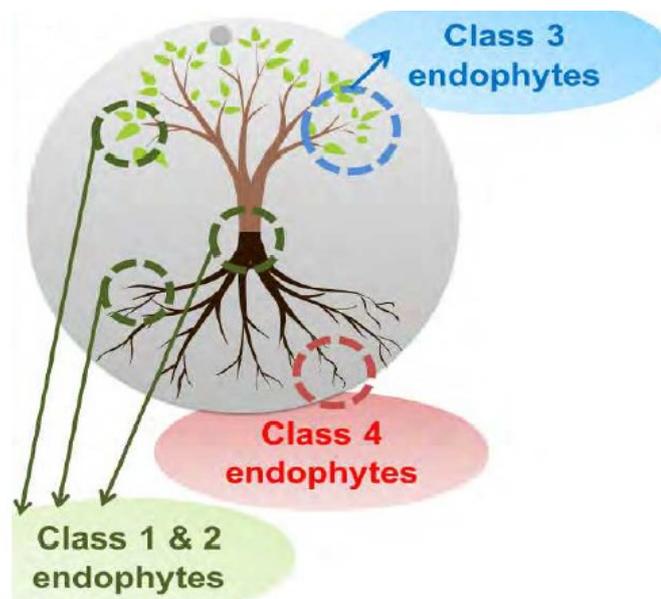
Sont tous issus de la famille Dikarya, ils sont en majorités constitués d'Ascomycota (uniquement de pezizomycotina, mais ils comprennent également quelque représentants des Basidiomycota (Agaricomycotina, Pucciniomycotina) (Chebil et Aouti, 2018).

### I.2.1.3. Les endophytes de classe 3

En particulier les Pezizomycota (familles des Sordariomyceta, Dothideomyceta, Pezizomyceta et Eurotiomyceta), on trouve également les Basidiomycota, plus souvent présents dans les tissus ligneuses que dans les tissus foliaires, peuvent coloniser en grande nombre les partie aériennes d'une plante (Chebil et Aouti, 2018).

### I.2.1.4. Les endophytes de classe 4

Cette classe n'apas encore clairement établie, ils appartiendraient aux Ascomycota du sous embranchement des Pezizomycotina : en particulier les ordres des Pleosporale, Pezizales et Helotiales. Associés à des arbustes ou arbres et colonisent uniquement que les racines des plantes(Chebil et Aouti, 2018).



**Figure 03.** Différents modèles de localisation des endophytes fongiques dans les tissus végétaux (Chebil et Aouti, 2018).

### **I.2.2. Modes de reproduction et de transmission des champignons endophytes**

Les champignons endophytes possèdent deux modes de reproduction :

#### **a. Croissance végétative des hyphes**

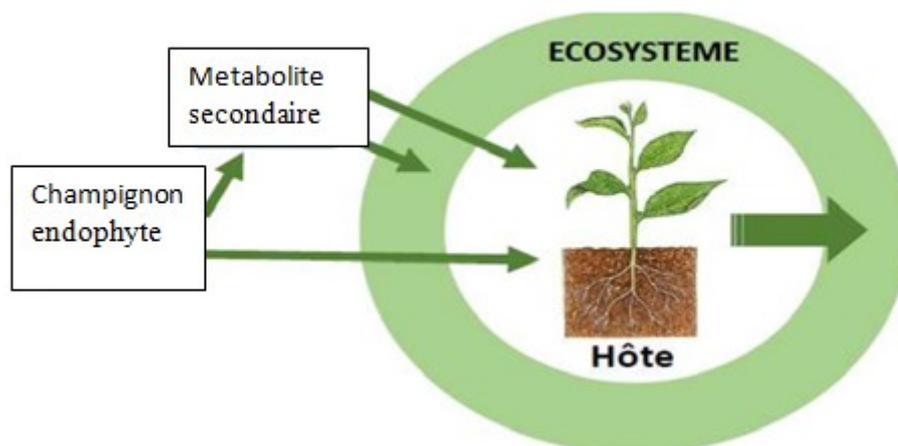
Elle est accompagnée par la transmission verticale, la croissance se fait complètement à l'intérieur des tissus de la plante hôte. La transmission verticale est connue notamment chez les Graminées. Elle est effectuée généralement par les formes végétatives (hyphes) du champignon porté par les semences de la plante hôte. C'est le principal mode de transmission des champignons endophytes. Cela peut procurer à la plante hôte plusieurs bénéfices : augmentation de la tolérance à la sécheresse, protection contre les herbivores et résistance contre les pathogènes (**Kouadria, 2019**).

#### **b. Croissance par le biais des spores**

Ce groupe de champignon se transmet horizontalement, par les spores sexuées ou asexuées et infectes, par conséquent, les autres plantes. En général, la transmission horizontale des endophytes est associée aux tissus photosynthétiques de la plante (feuilles), ce mode nécessite la production des spores externes et leur dispersion aéroportée. La transmission horizontale semble être le mécanisme prédominant de la dispersion de ce genre d'espèces fongiques (**Kouadria, 2019**).

### **I.2.3. Rôle des champignons endophytes**

Les champignons endophytes peuvent produire une gamme de métabolites, certains dont exercent des effets inhibiteurs sur les parasites et les agents pathogènes. Ils sont également capables de favoriser la croissance des arbres, et contribuer à l'acclimatation et au rendement dus au stress des arbres. **Wang (2012)** a démontré que les champignons endophytes ont le potentiel d'agents de lutte biologique car ils pourraient produire des antifongiques capables d'empêcher la croissance et germination des spores d'agents pathogènes microbiens(**Fig.04**).Pour ces raisons, les champignons endophytes sont considérés comme un produit prometteur (**Rai et al., 2014 ; Hamilton et al., 2016 ; Wang et al., 2019**).



**Figure 04.**Rôle des champignons endophytes dans l'écosystème (Sénéquier-Croze et Canard, 2016).

Les endophytes fongiques sont considérés actuellement comme un des groupes biologiques les plus importants en matière de protection contre un bon nombre d'insectes (Vega *et al.*, 2009 ; Laib, 2014). Premièrement, les espèces comme *Beauvaria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* se sont révélées efficaces contre les larves et les adultes des espèces de moustiques comme *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, *Culex quinquefasciatus*, *Culex pipiens* (Abagli *et al.*, 2014).

Les composés organiques volatiles de l'espèce fongique entomopathogène *Beauvaria bassiana* (COVs) ont été étudiés pour leur potentiel en bio contrôle entomologiste, et il a été démontré qu'ils peuvent être utilisés comme biocide efficace contre les moustiques (Crespo *et al.*, 2008 ; George *et al.*, 2013 ; Vangoethem, 2017).

Plusieurs endophytes sont connus pour produire des métabolites secondaires qui ont des propriétés anti-insectes. En Algérie, plusieurs travaux ont été menés sur l'effet des différentes espèces endophytes sur différents insectes. Nous pouvons citer à cet égard les travaux de Hamid *et al.* (2013), en étudiant l'effet de *Beauvaria bassiana* sur *Culex pipiens*, Bensseradj (2014), en étudiant également l'effet de *Metarhizium anisopliae* contre les larves de moustique (*Culex pipiens*).

L'utilisation de *Cladosporium sp.* Sur le bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae), l'évaluation de l'activité insecticide des champignons endophytes isolés à partir du laurier rose *Nerium oleander* L. vis-à-vis des 3 coléoptères des denrées stockées *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais*, *Rhyzopertha dominica* et l'utilisation de

*Fusarium sp.* contre *Sitophilus zeamai* sont également fait l'objet d'étude de **Laib (2014, 2015,2017)**.

D'autres études se sont focalisés sur l'effet des champignons entomopathogène *Beauvaria bassiana* et *Metarhizium anisopliae var. acridum* sur les nymphes au 5ème stade de *Schistocerca gregaria* et sur effets de *Beauvaria bassiana* sur la biochimie et la structure de la cuticule des individus adultes et des larves du 5ème stade de cet insecte (**Bissaad et al., 2010 ; Halouane et al., 2013**).

### I.3.Aperçu générale sur *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838)

Les moustiques sont des petits insectes à métamorphoses complètes. Ils sont caractérisés par deux ailes, des antennes longues et des corps fusiformes recouverts d'écailles, d'un appareil buccal adapte pour sucer ou pour piquer, et de tarse a cinq articles (**Fall, 2013**).

*Culiseta longiareolata* est une espèce de moustique multivoltine mais qui pond rarement dans le laboratoire ; elle pond seulement la nuit. Les femelles piquent surtout les oiseaux, très rarement l'homme. L'espèce est considérée comme un vecteur de *Plasmodium* d'oiseau (**Schaffner et al., 2001**).Peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (**Bouderhem, 2015**).

#### I.3.1.Position systématique

Les moustiques sont divisés en trois sous-familles (Anophelinae, Culicinae et Taxorhynchinae). Les *Aedes* et *Culex* appartiennent à la sous-famille des Culicinae appartiennent à l'embranchement des Arthropodes, classe des Insectes, ordre des Diptères, sous-ordre des Nématocères, famille des Culicidae (**Druart, 2017**) (**Tab.03**).En Algérie, 50 espèces des *Culicidés* de 6 genres différents sont regroupés dans les sous- familles des *Anophelinae* et les *Culicinae* (**Larbi, 2015**).

**Tableau 03.**Position systématique du *Cs. Longiareolata* (**Macquart, 1838 ; Rebiai, 2017**)

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Embranchement</b>	Arthropoda
<b>Classe</b>	Insecta
<b>Ordre</b>	Diptera
<b>Famille</b>	Culicidae
<b>Genre</b>	<i>Culiseta</i>

Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i>
--------	-------------------------------

### I.3.2. Morphologie général des différents stades larvaires

#### I.3.2.1. Les œufs

Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs. Ils ont une taille de 0,5 à 1 mm. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque ; une couleur noire(**Fig.05**). Ils sont pondus dans l'eau, réunis par 200 à 400 en nacelle (**Rebiai, 2017**).



**Figure 05.** Nacelles d'œufs de *Cs. longiareolata* (**Boukraet al ., 2013**).

#### I.3.2.2. La larve

D'aspect vermiforme, le corps de la larve se divise en trois segments : la tête, le thorax et l'abdomen. Sa taille varie de 12mm en moyenne en fonction des stades et elle est dépourvue d'appareil locomoteur. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, long et étroit affleurant à la surface de l'eau. Ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau. Ces clapets se rabattent quand elle gagne les profondeurs. Ses pièces buccales sont de types broyeurs, adaptées à un régime saprophyte (**Benserradj, 2014**)(**Fig.06**).



**Figure 06.** La larve de *Cs. Longiareolata* (Gaya et Makhlouf, 2019)

### **I.3.2.3. La nymphe**

La tête et le thorax de la nymphe fusionnent pour donner un céphalothorax sur lequel on trouve deux trompes qui permettent à la nymphe de respirer. Sa forme globale rappelle celle d'un point d'interrogation. Les orifices anal et buccal étant bouchés, la nymphe ne se nourrit pas. Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer (Benserradj, 2014) (Fig.07).



**Figure 07.** La nymphe de *Cs. longiareolata* (Gaya et Makhlouf, 2019)

### **I.3.2.4. L'adulte**

L'adulte de *Cs. longiareolata* à une taille qui varie de 3 à 5mm. Il possède un corps mince composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses, longues et étroites (Bouderhem, 2015) (Fig.08).



Figure 08. Imago femelle de *Cs.longiareolata* (Nadji, 2011)

### I.3.3. Cycle de vie des moustiques

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (Adisso et Alia, 2005). Il comprend quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte (imago). Cette métamorphose se déroule en deux phases (Fig.09) :

- Une écophase aérienne qui concerne l'adulte ailé ;
- Une écophase aquatique regroupant : l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe.

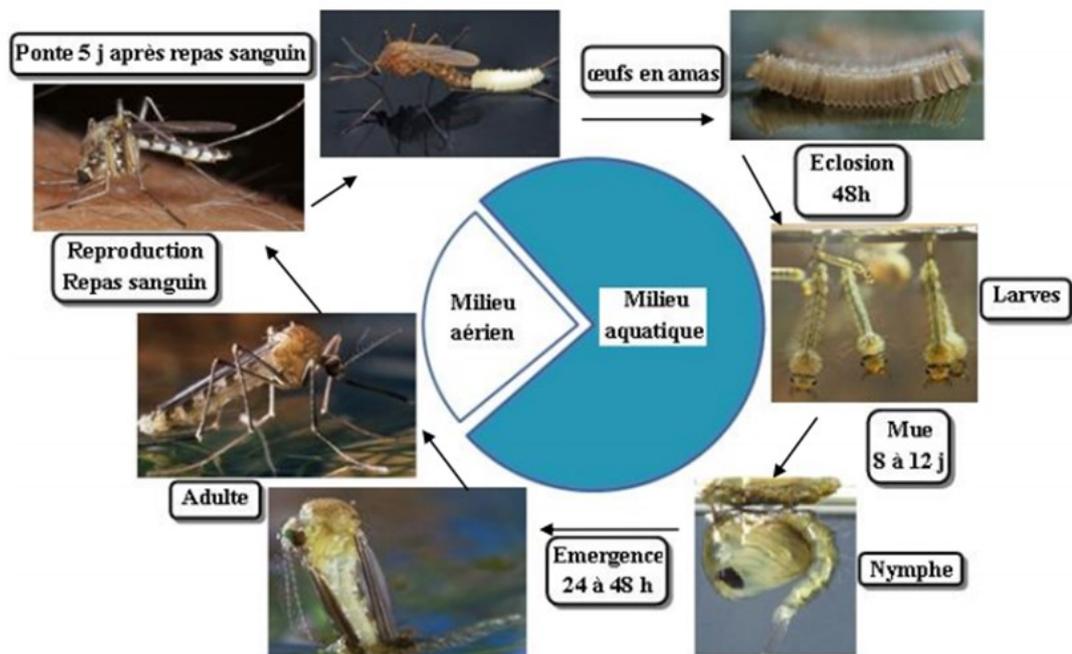


Figure 09. Cycle biologique des Culicidae (Tabti, 2017).

### I.3.4. Les moustiques et les maladies vectorielles

Les maladies transmises par des insectes vecteurs ont un impact majeur sur la santé humaine et animale, ainsi que sur l'économie des sociétés. Selon l'OMS (2017), les moustiques sont considérés comme le premier groupe de vecteur, mais il en existe d'autres, comme les tiques,

les mouches, les phlébotomes, les puces, les triatomes et certains gastéropodes d'eau douce. Chaque année, on relève plus d'un milliard de cas et plus d'un million de décès dans le monde, imputables à des maladies à transmission vectorielle telles que le paludisme, la dengue, la schistosomiase, la trypanosomiase humaine africaine, la leishmaniose, la maladie de Chagas, la fièvre jaune, l'encéphalite japonaise et l'onchocercose.

#### **I.4. La lutte anti-vectorielle**

La lutte anti vectorielle est l'outil le plus important pour prévenir les épidémies de maladies à transmission vectorielle (Cattel, 2016). Plusieurs moyens pour contrôler les populations des moustiques sont également mis en œuvre.

##### **I.4.1. La lutte physique**

Pour les moustiques, cela vise notamment à faire disparaître ou diminuer par différents moyens physiques les nappes d'eau de surface, les eaux stagnantes, etc. dans lesquelles les moustiques pourraient se développer (OMS, 1999).

##### **I.4.2. La lutte génétique**

La prise de conscience de la toxicité des insecticides pour les êtres vivants et pour les écosystèmes conduit à innover dans le domaine de la lutte anti-vectorielle (Goulu, 2015).

La lutte génétique est l'une des méthodes pouvant se substituer à l'utilisation des insecticides elle s'appuie sur la connaissance du patrimoine génétique du moustique afin d'en modifier une séquence. Ces manipulations ont pour but de limiter les populations de Culicidae soit par l'introduction des moustiques stériles ou porteurs de gènes létaux pour les générations suivantes (OMS, 2006), ou bien par la transmission d'une mutation aux femelles ce qui présente l'avantage de bloquer l'aptitude à transmettre une maladie, changer les femelles en mâles inoffensifs, ou encore détruire l'insecte ciblé. Toutefois, cette technique est moins bien acceptée par la société en raison des risques biologiques qu'elle pourrait présenter, notamment le transfert de gènes aux insectes non visés (Goulu, 2015).

##### **I.4.3. La lutte chimique**

L'essor des insecticides chimiques a commencé après la deuxième guerre mondiale avec la découverte des propriétés insecticides du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) par Paul Hermann Müller en 1939. Au cours de ces dernières années de nombreuses familles

d'insecticides sont apparues. Elles peuvent être classées par groupe selon leurs modes d'action et la cible visée (**Sérandour, 2007**).

La lutte chimique peut être efficace, l'épandage de ces produits synthétiques a des conséquences considérables et irréversibles sur l'environnement et la santé humaine à travers la pollution des sols, des cours d'eau, des nappes phréatiques et des impacts sur des espèces non ciblées. L'utilisation des produits chimiques va également contribuer à l'augmentation en fréquence des allèles de résistance dans les populations et nuire à l'efficacité de ces produits sur le long terme (**Poupardin, 2011**).

#### **I.4.4. La lutte biologique**

La lutte biologique est une alternative à la lutte chimique qui consiste à l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs soit par prédation, soit par infection (**Sadallah et Belkhaoui, 2016**). Deux grands types de luttes biologiques ont été utilisés à l'encontre des moustiques :

**La première méthode biologique** est l'utilisation d'un poisson prédateur, la gambusie (*Gambusia holbrooki*), qui a souvent été utilisée mais avec plus ou moins de succès (**Pates et Curtis 2005**).

**La deuxième méthode** est l'utilisation d'organismes microbiens tels que le *Bacillus sphaericus* (*Bs*) et le *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* (*Bti*). Ces bacilles sont d'ailleurs considérés comme des agents de contrôle biologique efficace (**Becker 1997**).

A côté de la lutte par des micro-organismes, Les plantes (les extraits aqueux, les poudres et les huiles essentielles) contiennent parfois des molécules ayant des propriétés insecticides.



**Matériels**  
**Et**  
**Méthodes**

Cette étude avait pour objectif d'isoler et d'identifier les champignons endophytes à partir de deux plantes médicinales (*Borago officinalis* L. et *Pittosporum tobira*(Thunb) W.T.Aiton), d'une part, et d'évaluer leurs pouvoirs bios insecticides contre les larves du quatrième stade (L4) de *Culiseta longiareolata* (Macquart).

Les différents étapes du travail qui s'étend du mois d'avril jusqu'au mois de juin, ont été déroulés au niveau du laboratoire de recherche « Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques » VALCORE » de l'Université M'Hamed Bougara, Boumerdès (UMBB).

## II.1. Matériel

### II.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est constitué de deux plantes médicinales plus les larves de moustiques L4 de *Culiseta longiareolata*(Macquart) (*Cs. longiareolata*).

#### II.1.1.1. Matériel végétal

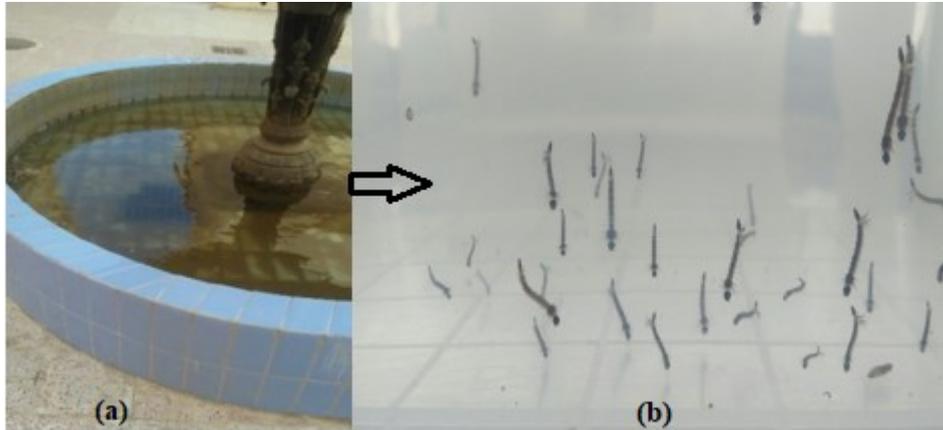
Dans cette étude deux espèces de plantes ont été choisies pour l'isolement des champignons endophytes : *Pittosporum tobira* (Thunb) (W.T.Aiton) (*P.tobira*) et *Borago officinalis* L. (*B. officinalis*) le choix a été au hasard et suivi les travaux de Dr. Toubal (**Fig. 10a et 10b**).



**Figure 10.** *Pittosporum tobira* (a) et *Borago officinalis* L. (b)  
(Gaya et Makhoulf, 2019)

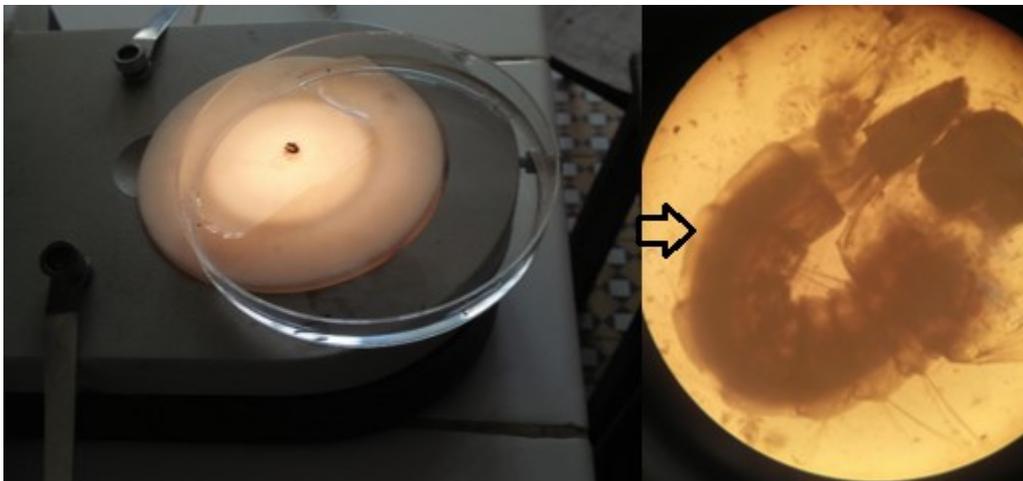
### II.1.1.2. Matériel animal

Les moustiques du quatrième stade (L4) de *Cs.longiareolata*(Macquart) proviennent d'un site non traité au niveau de l'Université de Boumerdès (**Fig.11a et 11b**).La récolte a été faite à l'aide d'une louche métallique remplis de l'eau de gîte.



**Figure 11.**Gîte larvaire (a) et larves de *Cs. longiareolata* (b) (Gaya et Makhoulf, 2019)

L'identification des larves a été faite sous une loupe binoculaire (Motic, France) par Dr. Boukraa de l'Ecole National Supérieur d'Agronomie d'El Harrach (ENSA, Alger) après avoir conservé les larves par l'alcool éthylique (**Fig.12**).



**Figure 12.**Identification des larves à l'aide d'une loupe binoculaire (Gaya et Makhoulf, 2019)

### II.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique est représenté par un ensemble de verreries, produits chimiques, de réactifs, d'appareillages et milieux de cultures.

## II.2. Méthodes

### II.2.1. Méthode d'échantillonnage

La collecte des échantillons végétaux et animaux a été faite dans la wilaya de Boumerdès au niveau de l'Université de M'hamed Bougara (Algérie). la partie aérienne des deux plantes (*B. Officinalis* et *P. tobira*) a été récoltée pendant le mois d'avril, 2019 (climat chaud et tempéré) à partir du jardin de l'Université à l'aide d'un ciseau stérile et cette dernière a été mise dans des bocaux de verre stérile (**Fig.13**).



Figure 13. Carte géographique de la wilaya de Boumerdès ([www.wilaya-boumerdes.dz](http://www.wilaya-boumerdes.dz)).

### II.2.2. Méthode d'isolement des champignons endophytes

Pour assurer un bon isolement des champignons endophytes, les plantes ont été collectées dans des conditions aseptiques (avec des gants, ciseau stérile, bocaux en verre stérile...), dans un endroit aussi propre (au niveau de l'Université) et ne semblant avoir aucun symptôme pathologique ou un dommage superficiel à l'œil nu. Les plantes fraîchement collectées ont été mises dans des bocaux en verre stérile et transportés au laboratoire VALCORE dans un délai

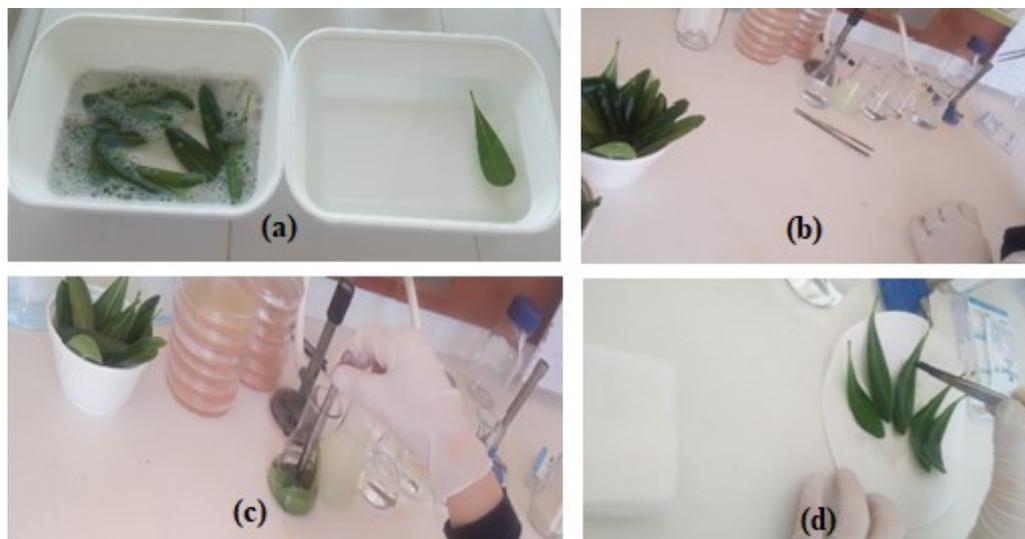
ne dépassant pas les 24h en vue de leurs études microbiologiques (Rakshith *et al.*, 2013 ; Toubal *et al.*, 2018).

Une fois collectés, les champignons endophytes ont été isolés Selon les étapes suivantes :

#### a. Stérilisation superficielle

Dans le but de se débarrasser des hyphes et des spores des champignons épiphytes, les feuilles de *B. officinalis* L. et de *P. tobira*(Thunb) W.T.Aiton) ont subi une série de désinfection. Le premier lavage est effectué dans l'eau savonneuse pendant 3 minute, dans l'eau distillée stérile pendant 10min, puis une immersion dans l'éthanol 70% pendant 1min, par la suite la stérilisation par l'hypochlorite de sodium NAOCL 3%(4min), ensuite une seconde immersion dans l'éthanol 70%(30s), et enfin un rinçage avec de l'eau distillée stérile deux fois pendant 1min. Dans le but d'éliminer les traces du désinfectant et enfin séchées sur du papier filtre stérile (Petrini *et al.*, 1992; Zerroug, 2011) (Fig.14a, 14b, 14c et 14d).

Pour vérifier l'efficacité de la désinfection en surface, le milieu PDA (Potato- Dextrose– Agar) (Annexe01) a étéensemencé par une goutte d'eau distillée issus du dernier rinçage (Ravelomanantsoa, 2004).



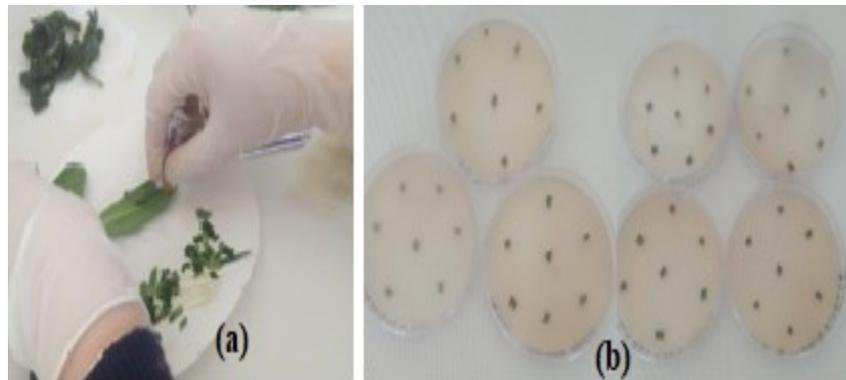
**Figure 14.** Les étapes de stérilisation superficielle des feuilles de *P. tobira*(Thunb) W.T.Aiton) (Gaya et Makhoulf, 2019).

(a) : lavage à l'eau savonneuse ; (b) : série de traitement de la surface ; (c) : immersion dans l'éthanol 70% ;  
(d) : séchage sur papier filtre stérile

**b. Isolement des champignons endophytes**

L'étape de l'isolement a été déroulée dans des conditions d'asepsies au tour de deux becs Bunsen pour éviter au maximum la contamination.

Les feuilles issues de la première étape sont coupées en petits morceaux (2x2mm) en utilisant un bistouri stérile. Les fragments ont été placés aseptiquement dans des boîtes de Pétri (90mm de diamètre) contenant un milieu de culture PDA supplémenté aseptiquement avec 18ml de la tétracycline pour inhiber la croissance bactérienne. Chaque boîte a reçue 07 morceaux de tissu végétal. Les boîtes de Pétri sont par la suite incubées pendant 7jours à 25°C où un contrôle quotidien a été effectué afin de suivre le développement des colonies résultants. Les colonies développées ont été observées, transplantées et purifiées (**Fig. 15a et 15b**).



**Figure 15.**Découpage des feuilles en petits morceaux(a)et isolement des champignons endophytes(b) (Gaya et Makhlouf, 2019)

**c. Purification des isolats**

Afin d'obtenir des isolats purs, des observations quotidiennes sont effectuées dès l'apparition de mycélium (**Ravelomanantsoa, 2004**).

La purification est effectuée en réalisant des repiquages successifs sur un nouveau milieu de culture stérile (PDA) pour permettre de les identifier et les conserver. Pour chaque isolat, un disque mycélien a été prélevé à la périphérie d'une culture à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les boîtes ont été fermées avec du Parafilm pour éviter la dissémination des spores puis incubées dans les mêmes conditions de la culture précédente (25C°, 6à 10j) .Une série de repiquage a été réalisé jusqu'à l'obtention des colonies pures et bien isolées (**Sakhri, 2012**).

#### d. Conservation des endophytes fongiques

Lorsque les isolats obtenus sont purs, elles ont été conservées selon deux méthodes différentes :

**Conservation à court terme** : les colonies pures des champignons endophytes sont repiquées dans des boîtes de Pétri contenant le milieu (PDA).

**Conservation à long terme** : consiste à inoculer des disques gélosés jeunes prélevés sur le pourtour de la culture purifiée dans des micro-tubes d'Eppendorf stériles de contenant 1 ml de la solution glycérol à 20%. Après cinq jours d'incubation à 25°C, les tubes formant un trouble sont conservés à -20°C.

#### e. Codage des isolats fongiques

L'isolement des endophytes fongiques a été effectué à partir des feuilles de deux plantes (*B. officinalis* et *P. tobira*) collectées à Boumerdès au niveau de l'université de Mohamed Bougara. Ces champignons endophytes ont été codifiés par deux lettres et un chiffre. La première et la deuxième correspondent successivement au genre et à l'espèce des plantes étudiées. Le chiffre indique l'ordre d'apparition (**Tab.04**).

**Tableau04.** Codage des champignons endophytes

	Plantes	Codes
Tissu : Feuille	<i>Borago officinalis</i>	-Bo1
		-Bo2
		-Bo3
	<i>Pittosporum tobira</i>	-Pt1
		-Pt2

#### II.2. 3. Dénombrement des colonies

Le dénombrement des colonies a été effectuée par le calcul de taux de colonisation (TC) d'une feuille par la population endophyte et la fréquence d'isolement (FI) d'un individu selon les formules suivantes (Petrini *et al.*, 1982).

$$\text{Taux de colonisation (TC\%)} = \frac{\text{nombre des egment avec endophyte}}{\text{nombre total des egment inoculés}} \times 100$$

$$\text{Fréquence d'isolement (FI\%)} = \frac{\text{nombre d'isolement d'un taxon}}{\text{nombre total de segment inoculés}} \times 100$$

## II.2.4. Techniques d'identification

L'identification des champignons endophytes est fondée principalement sur des critères cultureux (analyse macroscopique) et morphologiques (analyse microscopique).

### II.2.4.1. Analyse macroscopique

L'identification a été faite à l'œil nu, les caractères cultureux ont été déterminés directement sur la gélose après purification, plusieurs critères mis en évidence (**Lecellier, 2013**).

- La forme des colonies : régulier, irrégulier, dentelé, filamenteux ;
- L'aspect : duveteux, laineux, cotonneux, velouté, poudreux, granuleux ou glabre ;
- Le relief : plat, plissé ou cérébriforme, surélevé ;
- La taille : petite, étendue ou envahissante ;
- La couleur : de recto et verso de la boîte de pétri : blanche, crème ou colorée (verte, brune, orangée, violette, grises... ) ;
- La vitesse de croissance : le jour d'apparition sur la boîte de Pétri ;
- Le diamètre de la colonie qui a été mesuré sur le fond de la boîte ;
- La pigmentation : présence ou l'absence d'un pigment diffusible dans le milieu.
- L'exsudat : présence ou absence des gouttelettes

### II.2.4.2. Analyse microscopique

Cette analyse est faite en employant deux méthodes différentes :

#### a. Méthode des lamelles (à l'état frais)

Les colonies fongiques sont montées entre lame et lamelle. Un fragment de colonie est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et déposé sur une lame porte-objet. Une goutte d'eau distille stérile, est ensuite dissocié, puis recouvert d'une lamelle couvre-objet qui écrase la préparation (**Rebbouh, 2016**). Un examen à l'objectifx40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose.

#### b. Méthode se scotch

La technique du scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène. Il convient d'éliminer l'excès de colorant autour du scotch avec une feuille de papier absorbant (**Chabasse et al., 2002**).

L'observation microscopique (*in situ*) a été effectuée suite à une observation moyennant un microscope optique (**Leica, Allemagne**) (x40) associé à un ordinateur (**Leica application**

suite)(Annexe 04), en tenant compte des caractères microscopiques (forme et disposition des conidies, des conidiospores et septation du mycelium) (Chabasse *et al.*, 2002).

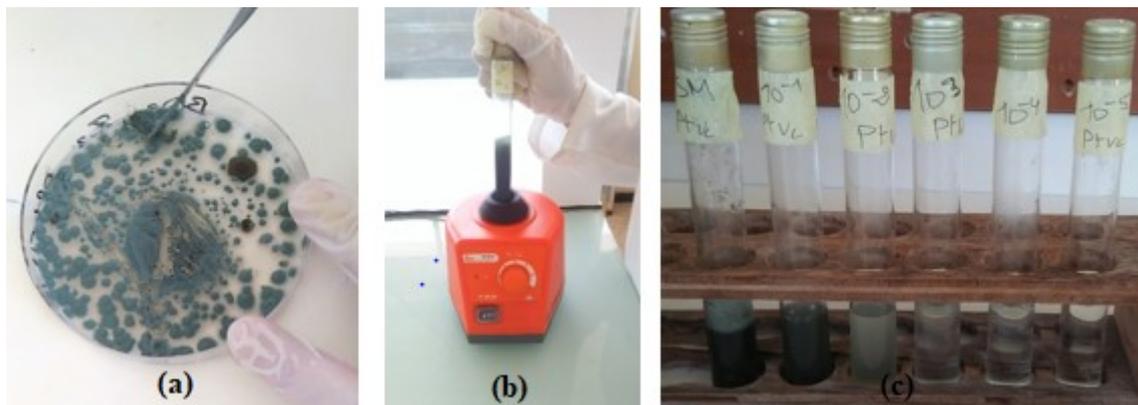
### II.2.5. Evaluation de l'activité insecticide

L'étude de l'effet des différents isolats fongiques sur les larves de *Cs.longiareolata* (Macquart) a été faite en plusieurs étapes :

#### II.2.5.1.Préparation de la solution entomopathogènes

A l'aide d'une spatule stérile de petits fragments de chaque champignon en fructification dans la boîte de Pétri ont été prélevés par grattage de la surface de la boîte pour être introduits dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée et 2-3 gouttes de Tween 80.

La solution ainsi obtenue est soumise à l'action d'un agitateur (Ibx instruments, Allemagne) magnétique pendant 10 minutes, afin de libérer le maximum des spores. Au total, cinq doses des différentes concentrations ont été préparées à partir de la solution mère ( $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$ ) pour chaque champignon (Fig.16a, 16b et 16c).



**Figure 16.** Les étapes de préparation des solutions entomopathogènes (Gaya et Makhlouf, 2019)

(a) grattage de la surface de la boîte ; (b) agitation de la solution entomopathogènes ; (c)

La solution mère avec les différentes dilutions

#### II.2.5.2.Échantillonnage des larves

Afin d'évaluer l'effet des cinq champignons endophytes isolés à partir des plantes médicinales *B.officinalis* L. et *P.tobira*, nous avons sélectionné des larves de *Culiseta longiareolata*. L'échantillonnage a été effectué selon une fréquence de deux à trois séances de capture par semaine au cours desquelles, les spécimens larvaires ont été collectés. Une louche a été plongée doucement sous l'eau pour le prélèvement. Le contenu de la louche a été versé à

chaque fois dans un récipient. Les spécimens collectés ont été transportés au laboratoire VALCORE à des conditions normales de température (25°C). Les larves du stade 1,2 et 3 ont été séparées des celles des stades 4 à l'aide d'une pipette compte-goutte (Gaya et Makhoulf, 2019).

### II.2.5.3. Evaluation des bio- essais

Les différentes étapes d'évaluation des bio-tests sont résumées comme suit :

- Préparer 5 godets en plastique remplis à  $\frac{3}{4}$  de l'eau du gîte ;
- Déposer dans chaque godet 20 larves au 4<sup>ème</sup> stade ;
- Recouvrir chaque godet d'un morceau de tulle ;
- Renfermer avec un élastique en caoutchouc ;
- Mettre le dispositif au laboratoire à une température ambiante d'environ 25°C et traiter.

Les bio-tests ont été réalisés avec les différentes concentrations de la solution entomopathogène dans des godets contenant chacun 50 ml de solution (49 ml eau distillée et 1ml de la solution entomopathogènes) et 20 larves de moustiques du 4<sup>ème</sup> stade de la même espèce. Le même nombre de larves a été placé dans un godet témoin contenant 50 ml de l'eau de gîte. Pour chacune des 5 concentrations de la solution entomopathogène ainsi que pour le témoin, trois répétitions ont été effectuées. Les larves traitées ont été maintenues à une température de 25°C. (Fig.17).



**Figure 17.**Des godets de bio test (Gaya et Makhoulf, 2019)

### II.2.6. Analyse statistique

Afin de se rapprocher le plus possible de la valeur réelle du taux de mortalité, nous avons eu recours à un indice statistique permettant de mesurer l'erreur standard à la moyenne (E.S.M).

Le calcul de cet indice, nécessite préalablement le calcul de la moyenne (X) et de l'écart type (S). Les formules permettant d'obtenir les valeurs des paramètres cités sont les suivants :

$$\begin{aligned} \bullet \text{ X} &= \frac{\sum_{i=1}^{i=n} \text{X}_i}{\text{n}} \\ \bullet \text{ S} &= \sqrt{\frac{(\text{X}_i - \text{X})^2}{\text{n} - 1}} \\ \bullet \text{ E.S.M} &= \frac{\text{S}}{\sqrt{\text{n}}} \end{aligned}$$

Avec :

**X** : moyenne arithmétique ;

**X<sub>i</sub>** : valeur individuelle ;

**n** : effectif (nombre d'individu) ;

**S** : écart type.

#### II.2.6.1. Pourcentage de mortalité et mortalité corrigée

Des comptages de la mortalité ont été réalisés chaque 24h, 48 h, 72 h, 96 h jusqu'à la mortalité totale des larves (environ 15 jours). La sensibilité larvaire est exprimée par le taux de mortalité (%) en fonction du temps d'exposition aux différentes concentrations des solutions entomopathogènes. Selon les recommandations de l'OMS(1963), le pourcentage de mortalité a été calculé en utilisant la formule (1) :

$$(1) \text{ Pourcentage de mortalité} = \frac{\text{nombre des larves mortes}}{\text{nombre total des larves introduites}} \times 100$$

Cependant si le taux de mortalité des témoins est compris entre 5 et 20%, une correction est effectuée selon la formule (2) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle

et de connaître la toxicité réelle du larvicide. Si la mortalité est supérieure à 20%, le test est annulé et doit être renouvelé (Abbott, 1925).

$$(2) \text{ Pourcentage de Mortalité corrigée} = \frac{\text{mortalité des larves traitées} - \text{mortalité des témoins}}{100 - \text{mortalité des témoins}} \times 100$$

### II.2.6.2. Analyse des Probits

Pour estimer la DL<sub>50</sub> (dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié d'une population) et de le TL<sub>50</sub> (temps létal au bout duquel on obtient 50% de mortalité) nous avons utilisé pour chaque dose la transformation en Probits des pourcentages de mortalités corrigées (Cavalier, 1976) (Annexe 03). A partir des équations de droites de régression « Probits-logarithme » nous pouvons calculer la DL<sub>50</sub> et le TL<sub>50</sub> en remplaçant Y par le Probits 5. Ces transformations permettent d'établir les droites de régression de type :

$$Y = ax + b$$

Y : Probits des mortalités corrigées ;

x : logarithmes de la dose (DL<sub>50</sub>) ou des temps (TL<sub>50</sub>) ;

a : la pente.



**Résultat**

**Et**

**Discussion**

Les résultats obtenus pour les différentes études sont exposés dans des tableaux et illustrés par des figures et qui portent essentiellement sur :

- L'isolement des champignons endophytes à partir des plantes médicinales *B.officinalis* L. et *P.tobira* (Thunb) W.T.Aiton) ainsi que leurs identification macro et microscopique ;
- L'évaluation de l'effet insecticide des cinq champignons endophytes vis-à-vis des larves L4 de *Culiseta longiareolata* (Macquart).

### III.1. Résultat d'isolement des champignons endophytes

Après sept jours d'incubation à 25°C, les champignons endophytes commencent à pousser à partir des segments des feuilles de deux plantes, contrairement aux boites qui ont été utilisées pour vérifier l'efficacité de la stérilisation de la surface où aucun microorganisme n'as été poussé, ce qui signifie que tout champignon émergeant des segments des feuilles proviennent des tissus internes de la plante et que ce n'est pas un épiphyte.

Au total cinq isolats fongiques ont été obtenus dont trois proviennent de *B. officinalis* L. Tandis que les deux autres ont été isolés à partir de *P. tobira*.

Le taux de colonisation (TC) et la fréquence d'isolement (FI) d'un taxon ont été calculés. L'ensemble des résultats sont mentionnés dans le tableau suivant (Tab.05) :

**Tableau 05.** Taux de colonisation et fréquence d'isolement

Isolats fongiques	Nombre totale des segments inoculés	Nombre de segment avec endophytes	TC (%)	Nombre d'isolement d'un taxon	FI (%)
Bo1	07	05	71, 43	02	28, 57
Bo2				02	28, 57
Bo3				01	14, 28
Pt1		02	28, 57	01	14, 28
Pt2				01	14, 28

*TC : taux de colonisation ; FI : fréquence d'isolement*

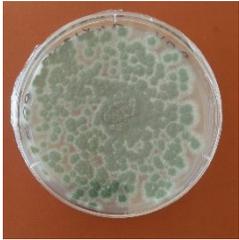
### III.2. Résultat d'identification des isolats fongiques

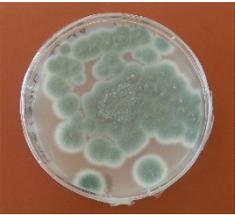
L'identification des champignons entomopathogènes repose essentiellement sur l'étude des caractères cultureux (identification macroscopique) et morphologiques (identification microscopique) sur milieux PDA.

**III.2.1. Résultat de l'analyse macroscopique**

L'examen macroscopique des champignons entomopathogènes est effectué après une incubation de 07jours à 25C°. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 06 :

Tableau 06. Résultat de l'identification macroscopique

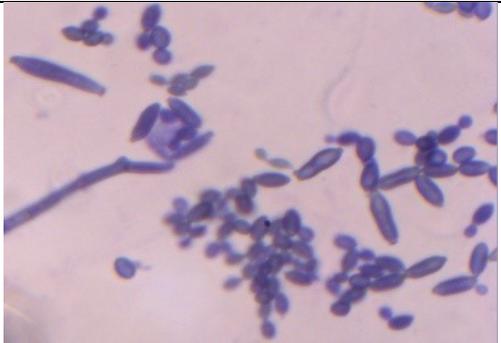
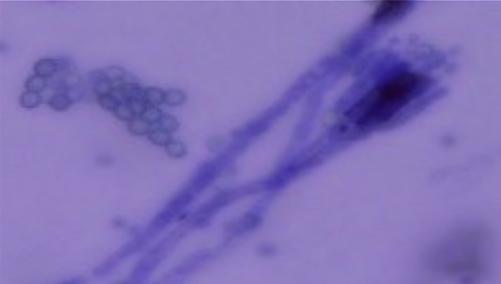
Isolats fongiques	Vu macroscopique		Couleur	Diamètre (cm)		Vitesse de croissance	Aspect
	Recto	Verso		5 jours	10 jours		
<b>Bo1</b>			<u>Recto :</u> Blanchâtre <u>Verso :</u> Orange clair (crevette)	7,6	8,8	3 jours	Cotonneux, filament blanc, contour irrégulier, absence de gouttelette d'eau (exsudat)
<b>Bo2</b>			<u>Recto :</u> Vert Foncé entouré du blanc <u>Verso :</u> Vert entouré du blanc	1,65	Colonie pigmenté	7 jours	Poudreux, dure, relief bomber
<b>Bo3</b>			<u>Recto :</u> Vert avec des bords blanchâtres <u>Verso :</u> Blanc/beige	2.95	Colonie pigmenté	8 jours	poudreux, Irrégulier, pigmenté, Présence des gouttelettes d'eau (exsudat)

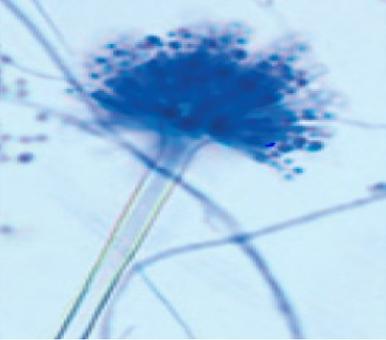
<p><b>Pt1</b></p>			<p><u>Recto</u> : Vert au bord blanchâtre <u>Verso</u> : Blanc/beige</p>	<p>3.2</p>	<p>Colonie pigmenté</p>	<p>7 jours</p>	<p>poudreux, Irrégulier, pigmenté, présence des exsudats sous forme de gouttelette d'eau</p>
<p><b>Pt2</b></p>			<p><u>Recto</u> :blanc <u>Verso</u> : Jaune</p>	<p>1.4</p>		<p>8 jours</p>	<p>Poudreuses plates tout d'abord blanches avec la maturation deviennent vertes</p>

III.2.2. Résultat de l'analyse microscopique

L'examen microscopique a été effectué par l'étude à l'état frais et avec la technique au bleu de méthylène (méthode de scotch). Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 07.

Tableau 07. Aspect microscopique des cinq isolats fongique endophytes

Isolats	Vu microscopique / Caractéristiques	Genre	Classification (Chabasse <i>et al.</i> , 2002)
Bo1	 <p>*Présence d'un mycelium septé et incolore ; *Présence de trois types des conidies ; macroconidies falciformes, avec plusieurs septa transverses ; microconidies scalariformes ; blastoconidies présentent de 0 à 3 septa.</p>	<i>Fusarium sp.</i>	<p><b>R</b> : Champignons <b>D</b> : Deuteromycota <b>C</b> : Hyphomycetes <b>O</b> : Moniliales <b>F</b> : Moniliaceae <b>G</b>:<i>Fusarium</i> <b>E</b>: <i>Fusarium sp.</i></p>
Bo2	 <p>Hyphe : septé pigmenté. Conidiospores de longueur variable Blastospores en chaines acropètes.</p>	<i>Cladosporium sp.</i>	<p><b>R</b> : Champignons <b>D</b> : Deuteromycota <b>C</b> : Hyphomycetes <b>O</b> : Moniliales <b>F</b> :Dematiaceae <b>G</b>: Cladosporium <b>E</b> :<i>Cladosporium sp.</i></p>
Bo3	 <p>Se caractérise par organisation en pinceau forme de filaments mycéliens</p>	<i>Penicillium sp1.</i>	<p><b>R</b> : Champignons <b>D</b> : Deuteromycota <b>C</b> : Hyphomycetes <b>O</b> : Moniliales <b>F</b> :Moniliaceae <b>G</b> :Penicillium <b>E</b>: <i>Penicillium sp1.</i></p>

	septés et hyalins, porte des conidiospores simples qui se terminent par un pénicille. Les phialides sont disposées en biverticillea à l'extrémité des conidiospores.		
<b>Pt1</b>	 <p>Se caractérise par une organisation en pinceau forme de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiospores ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les phialides sont disposées en triverticille à l'extrémité des conidiospores.</p>	<i>Penicillium sp2.</i>	<p><b>R</b> : Champignons  <b>D</b> : Deuteromycota  <b>C</b> : Hyphomycetes  <b>O</b> : Moniliales  <b>F</b>: Moniliaceae  <b>G</b>: <i>Penicillium</i>  <b>E</b>: <i>Penicillium sp2.</i></p>
<b>Pt2</b>	 <p>*Conidiospores : lisse          *Vésicule de forme ovale          *Phialides : portées par des métules insérées sur tout le porteur de la vésicule          *Conidies : globuleuses          *Tête aspergillaire : bisériée, radiée</p>	<i>Aspergillus sp.</i>	<p><b>R</b> : Champignons  <b>D</b> : Deuteromycota  <b>C</b> : Hyphomycetes  <b>O</b> : Moniliales  <b>F</b> : Moniliaceae  <b>G</b> : Aspergillus  <b>E</b> : <i>Aspergillus sp.</i></p>

L'intérêt de cette première partie de notre travail est d'isoler et d'identifier les champignons endophytes à partir de deux plantes médicinales *B. officinalis* L et *Pt. tobira*.

L'identification des genres fongiques a été déterminée par Pr. Boureghdaa de l'Ecole National Supérieur d'Agronomie d'El Harrach (ENSA, Alger), en utilisant la clé d'identification de **Chabasse et al., (2002)**. Au total, cinq champignons endophytes ont été isolés à partir des

segments de feuille des deux plantes médicinales, dont trois ont été isolés à partir de *B. officinalis* L. et qui sont *Fusarium sp.* (Bo1) ; *Cladosporium sp.* (Bo2) ; *Penicillium sp1.* (Bo3). Les deux autres ont été isolés à partir de *P. tobira*. Ces champignons correspondent à *Penicillium sp2.* (Pt1) et *Aspergillus sp.* (Pt2).

Nos résultats montrent la présence d'un champignon endophyte en commun (*Penicillium sp1.* et *Penicillium sp2.*) dans les deux plantes médicinales *B. officinalis* L. et *Pt. tobira*. Ces champignons possèdent les mêmes caractéristiques morphologiques et culturelles.

L'identification nous a permis de classer nos isolats dans la division des Deuteromycota qui est considérée parmi celles auxquelles appartient la plupart des champignons endophytes (Saar *et al.*, 2001). Des études ultérieures, comme ceux de Halouane *et al.* (2013), relatent que les Deutéromycètes ou champignons imparfaits sont les plus employés en matière de lutte biologique contre les moustiques (*Beauvaria*, *Metarizium*, *Verticillium*, etc....).

Plusieurs études confirment la présence de ces champignons dans diverses plantes médicinales. En effet, les isolats appartenant au genre *Fusarium* (Bo1) ont été isolé en tant qu'endophyte à partir des racines, feuilles et tiges de *Hyoscyamus muticus* L. (Henbane Egyptien) (Abdel-Motaal *et al.*, 2010) ; et à partir des échantillons d'écorces fraîche d'*Acacia catechu* willd (Cachoutier) (Nagaraja et Devkar, 2010).

Ramesha *et al.* (2013), ont pu isoler aussi *Fusarium sp.*, *Fusarium semitectum* à partir des tiges et des fleurs de *Nerium oleander* L. (Laurier rose) et à partir des feuilles âgées et fraîches de la même plante (Laib *et al.*, 2015). Des fruits jeune de *Eugenia jambolana* (Ravelomanantsoa, 2004), des tiges et des racines et des feuilles de *Mentha spicata* (Menthe), *Petroselinum crispum* (Persil), *Apium graveolens* (Céleris) et *Coriandrum sativum* (Coriandre) (Chebil et Aouati, 2018), et à partir des racines des plants poussant en milieux salés (Kouadria *et al.*, 2018).

D'après Chabasse *et al.*, (2002), les champignons du genre *Penicillium* (dont Bo3 et Pt1) sont des champignons saprophytes très répandu dans l'environnement terrestre. Ce champignon a été isolé comme endophyte à partir des racines, des feuilles et des tiges d'*Hyoscyamus muticus* L. (Henbane Egyptien) (Abdel-Motaal *et al.*, 2010) ; des racines de *Potentilla fulgens* L. (Bhagobaty *et al.*, 2010) ; des feuilles des tiges et des racines de *Withania somnifera* (Ashwagandha) (Khan *et al.*, (2010) ; à partir des échantillons d'écorces fraîche d'*Acacia catechu* willd (Cachoutier) (Nagaraja et Devkar, 2010) ; des rameaux de *Retama raetam* (Zerroug, 2011) ; des fleurs *Nerium oleander* L. (Laurier rose) (Ramesha *et*

*al.*,2013); des racines de *Triticum durum* (blé) (**Sadrati et al., 2013**),des racines d'*Artemisia absinthium* (Absinthe)(**Aouarib et Lemsara, 2016**) ; des feuilles d'*Olea europaea* L.(Olivier d'Europe)(**Malhadas et al.,2017**)et à partir des feuilles de *Peganum harmala* (Harmel)(**Ouzid et al., 2018**).

Les champignons du genre *Cladosporium* (Bo2), sont largement retrouvé dans le sol et sur de nombreux végétaux (**Chabasse et al., 2002**).Ce champignon a aussi été isolé comme endophyte à partir de plusieurs plantes médicinales. **Huang et al. (2007)**, l'ont pu isoler à partir des tiges de *Nerium oleander* L. (Laurier rose). D'autres l'ont isolé à partir des feuilles des tiges et des racines de *Withania somnifera*(Ashwagandha) (**Khan et al., 2010**) ;à partir des racines, feuilles et tiges de *Hyoscyamus muticus* L. (Henbane Egyptien)(**Abdel-Motaal et al.,2010**); des échantillons d'écorces fraîche d'*Acacia catechu*(Cachoutier)(**Nagaraja et Devkar, 2010**); des rameaux de *Retama raetam* (**Zerroug,2011**); des feuilles de *Triticum durum* (Blé)(**Sadrati et al., 2013**), et à partir des feuilles de *Peganum harmala* (Harmel) (**Ouzid et al., 2018**).

Les *Aspergillus* (Pt2), sont des champignons cosmopolites, très répandu dans le milieu extérieur. Ce genre est capable de croitre sur presque tout type d'habitat (**Chabasse et al., 2002**). Mais il a été isolé comme endophyte à partir des échantillons d'écorces fraîche d'*Acacia catechu*(Cachoutier) par **Nagaraja et Devkar(2010)**; **Abdel-Motaal et al.(2010)**, l'ont isolé à partir des racines, feuilles et tiges de *Hyoscyamus muticus* L. (Henbane Egyptien) ; à partir des fleurs *Nerium oleander* L.(Laurier rose) (**Ramesha et al.,2013**) ;à partir des rameaux de *Retama raetam* (**Zerroug, 2011**);à partir des tiges, feuilles, fleurs et calice de *Moringa oleifera* Lam. (Moringa) (**Rajeswari et al ., 2016**) ; et à partir des racines d'*Artemisia absinthium* (Absinthe) (**Aouarib et lemsara,2016**).

### III.3. Résultats du test insecticide

Après 15 jour de contacte, les résultats des taux de mortalités corrigées des cinq solutions entomopathogènes : *Fusarium sp.* (Bo1); *Cladosporium sp.* (Bo2); *Penicillium sp1.* (Bo3); *Penicillium sp2.* (Pt1); *Aspergillus sp.* (Pt2) à différentes doses ( $10^7 \cdot 10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  et  $10^2$ ) contre les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Cs.longiareolata* (Macquart), sont illustrés dans les tableaux suivants (**Tab 08, 09, 10, 11 et 12**):

**Tableau 08.** Moyenne de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves de *Cs.longiareolata* traitées par *Fusarium sp.* (Bo1)

Ts	T	D5 ( $8,8 \times 10^2$ )	D4 ( $8,8 \times 10^3$ )	D3 ( $8,8 \times 10^4$ )	D2 ( $8,8 \times 10^5$ )	D1 ( $8,8 \times 10^6$ )	SM ( $8,8 \times 10^7$ )
1j	0	8,33 $\pm$ 1,67	8,33 $\pm$ 1,67	13,33 $\pm$ 1,67	13,33 $\pm$ 1,67	28,33 $\pm$ 4,43	100 $\pm$ 0
2j	0	8,33 $\pm$ 1,67	15 $\pm$ 0	18,33 $\pm$ 1,67	20 $\pm$ 0	35 $\pm$ 5,79	100 $\pm$ 0
3j	0	10 $\pm$ 0	20 $\pm$ 0	20 $\pm$ 0	28,33 $\pm$ 1,67	43,33 $\pm$ 10,17	100 $\pm$ 0
4j	0	18,33 $\pm$ 1,67	23,33 $\pm$ 1,67	30 $\pm$ 0	41,07 $\pm$ 2,89	60 $\pm$ 8,69	100 $\pm$ 0
5j	0	20 $\pm$ 0	28,33 $\pm$ 1,67	35 $\pm$ 0	43,33 $\pm$ 1,67	63,33 $\pm$ 7,28	100 $\pm$ 0
6j	6,66	25 $\pm$ 2,89	28,57 $\pm$ 1,67	35,72 $\pm$ 0	43,33 $\pm$ 1,67	66,07 $\pm$ 10,17	100 $\pm$ 0
7j	6,66	28,57 $\pm$ 4,42	30,36 $\pm$ 2,89	35,72 $\pm$ 0	46,43 $\pm$ 0	71,43 $\pm$ 10,17	100 $\pm$ 0
8j	6,66	30,36 $\pm$ 5,22	44,64 $\pm$ 1,87	44,64 $\pm$ 1,87	62,5 $\pm$ 1,26	98,21 $\pm$ 1,45	100 $\pm$ 0
9j	6,66	30,62 $\pm$ 4,42	44,64 $\pm$ 1,67	47,5 $\pm$ 1,67	77,5 $\pm$ 11,58	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
10j	11,11	30,62 $\pm$ 4,42	47,5 $\pm$ 1,67	50 $\pm$ 1,67	78,57 $\pm$ 11,58	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
11j	11,11	30,77 $\pm$ 5,79	49,37 $\pm$ 2,89	71,87 $\pm$ 14,47	81,25 $\pm$ 10,17	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
12j	13,33	33,93 $\pm$ 4,42	75 $\pm$ 13,05	75 $\pm$ 13,05	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
13j	13,33	73,08 $\pm$ 23,4	100 $\pm$ 0				
14j	13,33	100 $\pm$ 0					

Ts : temps ; j : jours ; T : témoin ; D : doses (spore/ml) ; SM : solution mère

(P<0.01)

**Tableau 09.** Moyenne de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de *Cs.longiareolata* traitées par *Cladosporium sp.* (Bo2)

Ts	T	D5 ( $3,5 \times 10^2$ )	D4 ( $3,5 \times 10^3$ )	D3 ( $3,5 \times 10^4$ )	D2 ( $3,5 \times 10^5$ )	D1 ( $3,5 \times 10^6$ )	SM ( $3,5 \times 10^7$ )
1j	0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	3,33 $\pm$ 1,67	5 $\pm$ 0	8,33 $\pm$ 1,67	18,33 $\pm$ 1,67
2j	0	0 $\pm$ 0	3,33 $\pm$ 1,67	5 $\pm$ 0	8,33 $\pm$ 1,67	10 $\pm$ 2,89	23,33 $\pm$ 1,67
3j	0	3,33 $\pm$ 1,67	8,33 $\pm$ 4,42	10 $\pm$ 2,89	15 $\pm$ 2,89	25 $\pm$ 2,89	30 $\pm$ 2,89
4j	0	3,33 $\pm$ 1,67	8,33 $\pm$ 4,42	13,33 $\pm$ 4,42	15 $\pm$ 2,89	33,33 $\pm$ 1,67	38,33 $\pm$ 1,67
5j	0	7,14 $\pm$ 4,42	12,15 $\pm$ 1,67	14,29 $\pm$ 0	25 $\pm$ 5,79	35,72 $\pm$ 2,89	40 $\pm$ 2,89
6j	6,66	7,14 $\pm$ 4,42	12,5 $\pm$ 1,67	17,86 $\pm$ 1,67	30,36 $\pm$ 5,79	38,33 $\pm$ 4,42	41,07 $\pm$ 0
7j	6,66	10 $\pm$ 5,79	13,33 $\pm$ 4,42	18,33 $\pm$ 1,67	30,36 $\pm$ 5,79	39,29 $\pm$ 1,67	46,43 $\pm$ 0
8j	6,66	14,29 $\pm$ 5,79	21,25 $\pm$ 2,89	25 $\pm$ 2,89	30,36 $\pm$ 5,79	41,07 $\pm$ 2,89	51,79 $\pm$ 2,89
9j	6,66	15,63 $\pm$ 5,79	23,21 $\pm$ 4,42	25 $\pm$ 4,42	30,62 $\pm$ 7,28	46,43 $\pm$ 5,79	62,5 $\pm$ 2,89
10j	11,11	19,65 $\pm$ 5,79	23,21 $\pm$ 4,42	28,57 $\pm$ 4,42	33,93 $\pm$ 7,28	53,12 $\pm$ 1,67	64,37 $\pm$ 1,67
11j	11,11	21,25 $\pm$ 2,89	25 $\pm$ 1,67	70 $\pm$ 15,94	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
12j	13,33	23,08 $\pm$ 1,67	63,46 $\pm$ 18,84	71,15 $\pm$ 14,47	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
13j	13,33	23,08 $\pm$ 1,67	63,46 $\pm$ 18,84	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0
14j	13,33	100 $\pm$ 0					

Ts : temps ; j : jours ; T : témoin ; D : doses (spore/ml) ; SM : solution mère

(P<0.01)

**Tableau 10.** Pourcentage de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de *Cs.longiareolata* traitées par *Penicillium* sp1. (Bo3)

Ts	T	D5 ( $49 \times 10^2$ )	D4 ( $49 \times 10^3$ )	D3 ( $49 \times 10^4$ )	D2 ( $49 \times 10^5$ )	D1 ( $49 \times 10^6$ )	SM ( $49 \times 10^7$ )
1j	0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	4,44 $\pm$ 1,72	11,11 $\pm$ 5,89
2j	0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	4,44 $\pm$ 2,23	7,69 $\pm$ 7,14	37,78 $\pm$ 21,26
3j	0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	4,44 $\pm$ 2,23	11,11 $\pm$ 5,89	66,66 $\pm$ 3,86
4j	0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	4,44 $\pm$ 2,23	13,11 $\pm$ 7,53	71,43 $\pm$ 3,87
5j	0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	2,38 $\pm$ 2,23	4,44 $\pm$ 2,23	13,33 $\pm$ 7,71	71,43 $\pm$ 3,87
6j	6,66	0 $\pm$ 0	2,38 $\pm$ 2,23	4,44 $\pm$ 7,71	7,14 $\pm$ 7,71	13,33 $\pm$ 7,71	73,33 $\pm$ 3,87
7j	6,66	0 $\pm$ 0	6,66 $\pm$ 0	4,77 $\pm$ 2,23	14,29 $\pm$ 3,85	14,29 $\pm$ 11,58	73,33 $\pm$ 3,87
8j	6,66	7,14 $\pm$ 0	14,29 $\pm$ 3,85	19,04 $\pm$ 9,71	35,72 $\pm$ 19,3	70 $\pm$ 15,44	78,57 $\pm$ 0
9j	6,66	24,99 $\pm$ 3,86	35,72 $\pm$ 15,43	35,72 $\pm$ 15,43	47,62 $\pm$ 19,42	70 $\pm$ 15,42	90 $\pm$ 5,89
10j	11,11	28,57 $\pm$ 3,86	40 $\pm$ 11,58	52,5 $\pm$ 25,12	69,22 $\pm$ 3,87	71,43 $\pm$ 3,87	90,47 $\pm$ 5,89
11j	11,11	45 $\pm$ 9,71	47,5 $\pm$ 7,71	52,5 $\pm$ 25,12	70 $\pm$ 3,87	71,43 $\pm$ 3,87	90 $\pm$ 5,89
12j	13,33	51,27 $\pm$ 5,9	53,84 $\pm$ 23,16	61,53 $\pm$ 0	70 $\pm$ 3,87	82,05 $\pm$ 9,71	92.3 $\pm$ 3,86
13j	13,33	74,36 $\pm$ 2,23	76,92 $\pm$ 0	82,05 $\pm$ 9,71	82,05 $\pm$ 9,71	84,6 $\pm$ 7,72	92.3 $\pm$ 3,86
14j	13,33	82,08 $\pm$ 2,22	82,05 $\pm$ 9,71	89,74 $\pm$ 5,89	89,74 $\pm$ 5,89	92.30 $\pm$ 3,86	<b>100<math>\pm</math>0</b>
15j	13,33	<b>100<math>\pm</math>0</b>	<b>100<math>\pm</math>0</b>	<b>100<math>\pm</math>0</b>	<b>100<math>\pm</math>0</b>	<b>100<math>\pm</math>0</b>	<b>100<math>\pm</math>0</b>

Ts : temps ; j : jours ; T : témoin ; D : doses (spore/ml) ; SM : solution mère

(P<0.01)

**Tableau 11.** Pourcentage de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Penicillium sp2.* (Pt1)

Ts	T	D5 (54×10 <sup>2</sup> )	D4 (54×10 <sup>3</sup> )	D3 (54×10 <sup>4</sup> )	D2 (54×10 <sup>5</sup> )	D1 (54×10 <sup>6</sup> )	SM (54×10 <sup>7</sup> )
1j	0	0±0	0±0	0±0	0±0	11,11±5,89	51,11±28,97
2j	0	0±0	4,44±2,23	4,44±2,23	17,78±2,23	20±3,85	73,33±15,44
3j	0	20±7,72	20±11,58	26,66±7,72	40±3,85	40±3,85	73,33±15,44
4j	0	40±0	46,66±11,58	57,77±5,9	64,44±5,89	71,11±2,23	77,78±13,56
5j	0	60±3,85	66,66±0	66,66±0	73,33±3,86	73,33±0	77,78±13,56
6j	6,66	64,28±7,72	69,04±2,23	76,19±2,23	83,32±2,22	83,33±2,23	85,7±0
7j	6,66	71,43±3,86	78,57±3,86	83,32±2,22	83,33±9,71	85,7±3,86	90,47±5,89
8j	6,66	78,57±3,86	78,57±3,86	83,32±2,22	85,7±0	90,47±5,89	92,85±3,86
9j	6,66	85,7±0	90±2,23	90±2,23	92,5±0	92,85±0	92,85±3,86
10j	11,11	90±2,23	90,47±5,89	90,47±5,89	92,5±0	97,5±2,23	100±0
11j	11,11	90±2,23	92,5±0	92,5±0	92,85±3,86	97,5±2,23	100±0
12j	13,33	92,3±0	97,43±2,23	97,43±2,23	97,43±2,23	100±0	100±0
13j	13,33	92,3±0	97,43±2,23	97,43±2,23	97,43±2,23	100±0	100±0
14j	13,33	97,43±2,23	97,44±2,23	97,44±2,23	100±0	100±0	100±0
15j	13,33	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0

Ts : temps ; j : jours ; T : témoin ; D : doses (spore/ml) ; SM : solution mère

(P<0.01)

**Tableau 12.** Moyenne de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Aspergillus sp.* (Pt2).

Ts	T	D5 (45×10 <sup>2</sup> )	D4 (45×10 <sup>3</sup> )	D3 (45×10 <sup>4</sup> )	D2 (45×10 <sup>5</sup> )	D1 (45×10 <sup>6</sup> )	SM (45×10 <sup>7</sup> )
1j	0	6,66±3,86	17,78±2,23	31,11±5,89	44,44±5,89	44,44±5,89	57,78±9,72
2j	0	20±0	31,11±2,23	44,44±5,89	51,11±9,72	71,11±9,72	77,78±9,72
3j	0	31,11±2,23	40±3,86	46,66±3,86	64,44±9,72	77,78±9,72	80±11,58
4j	0	44,44±5,89	51,11±5,89	57,77±5,9	66,66±7,72	77,78±9,72	84,44±9,72
5j	0	51,11±5,89	60±3,86	66,66±3,86	75,55±4,46	84,44±5,89	86,66±7,72
6j	6,66	54,77±2,23	64,28±7,72	71,43±3,86	83,32±2,23	85,7±3,86	92,85±3,86
7j	6,66	61,9±2,23	71,43±7,71	83,32±5,89	85,7±3,86	85,7±3,86	97,62±2,23
8j	6,66	64,28±0	80,95±4,45	85,7±3,86	90,47±5,89	90,47±5,89	97,62±2,23
9j	6,66	71,43±0	83,32±2,23	85,7±3,86	92,85±3,86	97,62±2,23	100±0
10j	11,11	82,49±2,23	90±2,23	90±2,23	92,5±3,86	97,5±2,23	100±0
11j	11,11	91,11±3,86	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0
12j	13,33	97,43±2,23	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0
13j	13,33	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0	100±0

Ts : temps ; j : jours ; T : témoin ; D : doses (spore/ml)

(P<0.01)

D'après les résultats illustrés sur les tableaux 8, 9, 10, 11 et 12, nous avons remarqué que les larves L4 de *Cs.longiareolata* montrent une sensibilité importante à la totalité des solutions entomopathogènes, cependant le pourcentage de mortalité et de mortalité corrigée varie en fonction des doses, du temps et de l'espèce du champignon endophytes.

En effet, nous avons enregistré une évolution verticale et horizontale dans le taux de mortalité corrigé (Mc). Ce dernier paramètre, varie proportionnellement en fonction du temps et des doses (plus le temps et la dose augmente, plus la mortalité des larves est importante).

D'après le tableau 8, nous avons remarqué que la totalité (100%) des larves L4 de *Cs.longiareolata* se sont montrés sensibles à la dose la plus élevée ( $D_{SM} = 8,8 \cdot 10^7$  spore/ml) de *Fusarium sp.* (Bo1) après le premier jour de contact (24h). Pour les autres doses ( $D_1 = 8,8 \cdot 10^6$ ;  $D_2 = 8,8 \cdot 10^5$ ;  $D_3 = 8,8 \cdot 10^4$ ;  $D_4 = 8,8 \cdot 10^3$ ;  $D_5 = 8,8 \cdot 10^2$  spore/ml), ce taux de mortalité n'a été obtenu qu'après les 9<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> jours respectivement). La valeur de P est hautement significative ( $P < 0.01$ ).

Le tableau 09 montre que l'effet de *Cladosporium sp.* (Bo2) a commencé dès le 1<sup>ier</sup> jour pour la solution mère ( $3,5 \cdot 10^7$ ) ainsi que pour les dilutions doses ( $D_1 = 3,5 \cdot 10^6$ ;  $D_2 = 3,5 \cdot 10^5$ ;  $D_3 = 10^4$  spores/ml) avec un pourcentage varie de 18,33%; 8,33%; 5%; 3,33% respectivement. Aucune mortalité n'a été observée pour D4 et D5. Cependant le 100% de mortalité n'a été obtenue qu'après le 11<sup>ème</sup> jour pour la SM, D1 et D2, le 13<sup>ème</sup> jour pour D3 et le 14<sup>ème</sup> jour pour D4 et D5. La valeur de P est hautement significative ( $P < 0.01$ ).

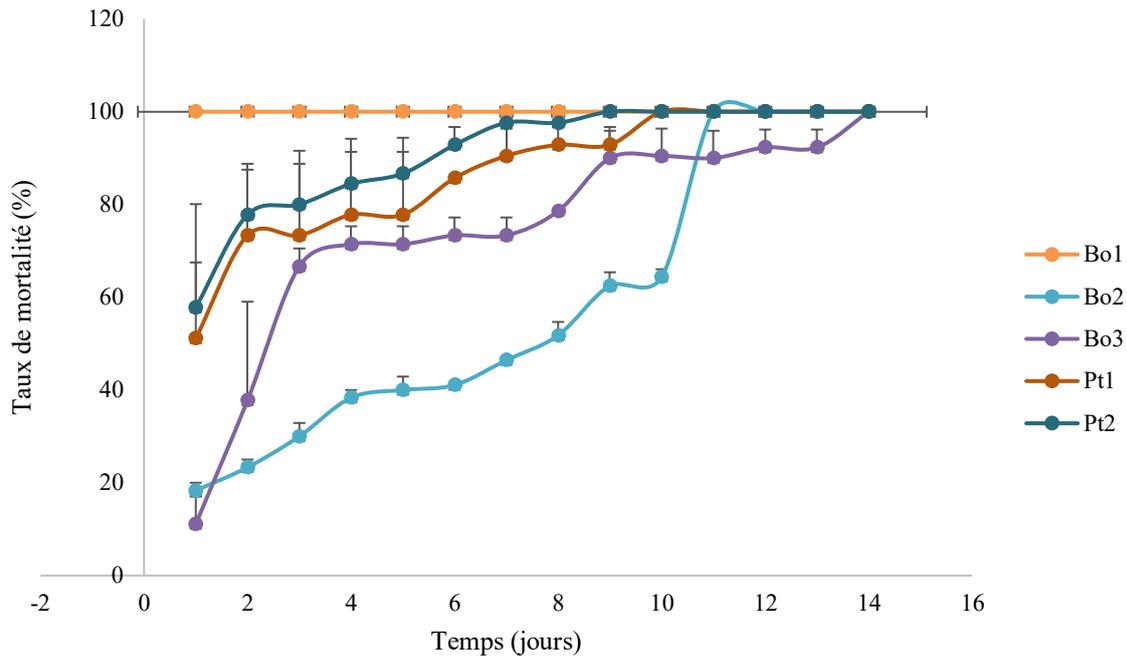
Pour ce qui est de *Penicillium sp.1* (Bo3), le tableau 10 montre que l'effet a atteint son maximum après le 14<sup>ème</sup> jour pour la solution mère et après les 15 jours pour les autres doses. La valeur de P est hautement significative ( $P < 0.01$ ).

Quant à *Penicillium sp.2* (Pt1), le tableau 11 montre que la totalité de la population larvaire s'est montrée sensible à l'effet de la solution entomopathogène SM ( $D = 54 \cdot 10^7$  spore/ml) après les 10<sup>ème</sup> jours. La valeur de P est hautement significative ( $P < 0.01$ ).

Le tableau 12 montre que l'effet d'*Aspergillus sp.* (Pt2) est tout de suite aperçu au bout du 1<sup>ier</sup> jour de traitement avec toutes les solutions entomopathogènes. Cet effet larvicide est plus prononcé au fur et à mesure qu'on avance dans le temps ce qu'est mis en évidence une progression vertical et horizontal pour arriver jusqu'un taux de mortalité de 100%, le

9<sup>ème</sup> jours pour la concentration la plus élevée  $10^7$  spores/ml ; et 11<sup>ème</sup> jours pour les doses ( $10^6$  ;  $10^5$  ;  $10^4$  ;  $10^3$  spores/ml). La valeur de P est hautement significative ( $P < 0.01$ ).

La cinétique de mortalité des larves L4 de *Culiseta longiareolata* traitées par cinq solutions mères des champignons endophytes : *Fusarium sp.* (Bo1), *Cladosporium sp.* (Bo2), *Penicillium sp1.* (Bo3), *Penicillium sp2.* (Pt1) et d'*Aspergillus sp.* (Pt2) après 15j de contact est illustré dans la figure suivante:

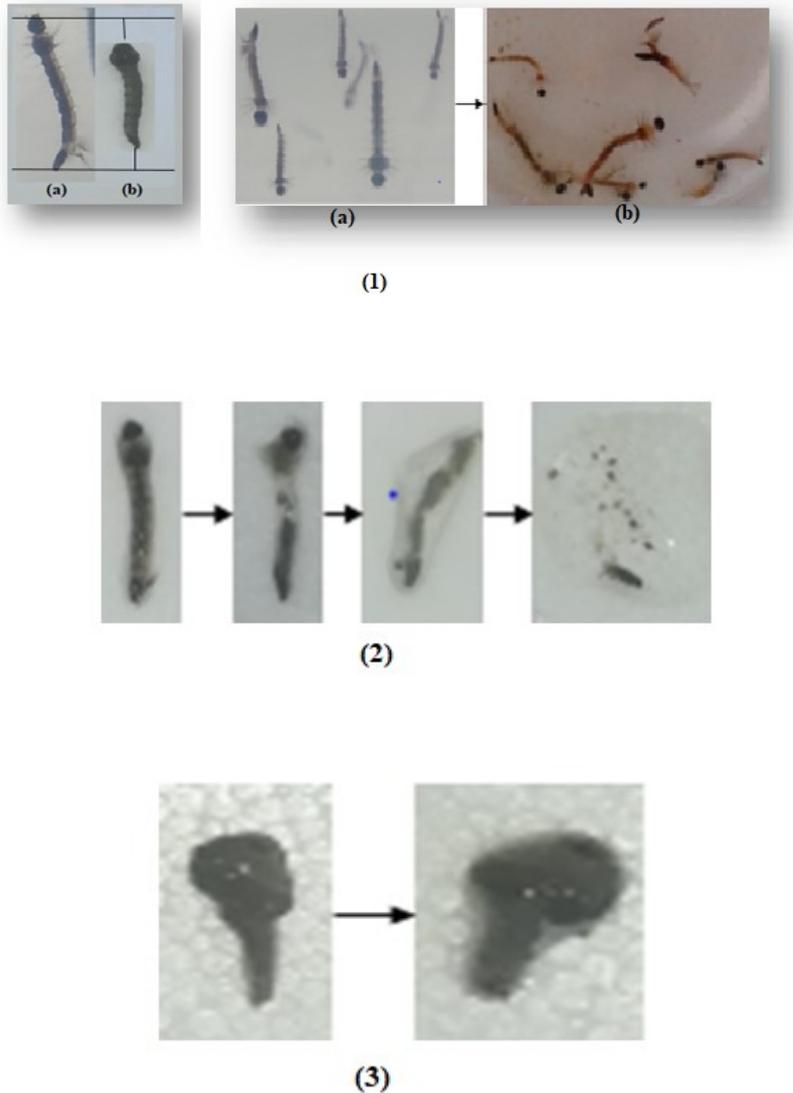


**Figure 18.** Taux de mortalité corrigée ( $\pm$ ESM) des larves L4 de *Culiseta longiareolata* traitées par cinq solutions entomopathogènes en fonction de temps.

Bo1: *Fusarium sp.*; Bo2: *Cladosporium sp.*; Bo3: *Penicillium sp1.* Pt1: *Penicillium sp2.* ;Pt2: *Aspergillus sp.*

D'après cette courbe, nous avons remarqué que la meilleure activité bioinsecticide est attribuée au champignon entomopathogène *Fusarium sp.*(Bo1) qui a entraîné le 100% de mortalité après 24h de traitement, suivi par *Aspergillus sp.* (Pt2) et *Penicillium sp2.* (Pt1) puis *Cladosporium sp.* (Bo2). Une faible activité larvicide est enregistrée pour *Penicillium sp1.* (Bo3). Ces résultats de traitement montrent que les cinq champignons agissent différemment sur les larves de *Cs.longiareolata*.

Il est à signaler également que les larves présentant une sensibilité aux solutions entomopathogènes ont subi soit une régression de la taille (*Fusarium sp.*(Bo1),*Cladosporium sp.*(Bo2),*Penicillium sp.*1(Bo3),*Penicillium sp.*2(Pt1)) (1) soit changement de couleur(*Fusarium sp.*(Bo1)) (1),soit une dégénérescence totale dans le corps de l'insecte (*Fusarium sp.*(Bo1),*Cladosporium sp.*(Bo2),*Penicillium sp.*1(Bo3),*Penicillium sp.*2(Pt1))(2) d'autres ont stoppé complètement la métamorphose (*Aspergillus sp.* (Pt2))(3)(Fig.19(1,2 ,3)).



**Figure 19.**L'effet des champignons endophytes (*Fusarium sp.*; *Cladosporium sp.*; *Penicillium sp.*1. *Penicillium sp.*2. ; *Aspergillus sp.*) sur les larves L4 de *Cs. longiareolata*.

### III.3.2. Calcul de la DL<sub>50</sub>

Afin de déterminer la DL<sub>50</sub> (dose létale suffisante pour tuer 50% des individus), nous avons transformé le pourcentage de mortalité corrigée après 2<sup>ème</sup> jours de traitement en Probits et les doses des cinq champignons (*Fusarium sp.* ; *Cladosporium sp.* ; *Penicillium sp.1* ; *Penicillium sp.2* ; *Aspergillus sp.*) en logarithme népérien (**Annexe 4**).

Le traçage des droites de régression Probits=  $f(\log \text{ doses})$ , nous a permis d'obtenir les valeurs de DL<sub>50</sub> à partir des équations de droites de régression relatifs à chaque champignon. Les valeurs sont mentionnées dans le tableau suivant (**Tab.13**).

**Tableau 13.** Equations des droites de régressions et valeurs des DL<sub>50</sub> pour chaque champignon après 2j de traitement.

Champignons endophytes	Equations	Coefficients de détermination (R <sup>2</sup> )	DL <sub>50</sub> (spore/ml)
<i>Fusarium sp.</i> (Bo1)	$Y=0,700x+0,935$	0,616	$6,45 \times 10^5$
<i>Cladosporium sp.</i> (Bo2)	$Y=0,264x+2,147$	0,944	$6,30 \times 10^{10}$
<i>Penicillium sp1.</i> (Bo3)	$Y = 0,72x - 1,6935$	0,915	$1,99 \times 10^9$
<i>Penicillium sp2.</i> (Pt1)	$Y = 0,563x + 0,281$	0,851	$2,39 \times 10^8$
<i>Aspergillus sp.</i> (Pt2)	$Y=0,320x+2,998$	0,987	$5,75 \times 10^7$

A partir de ce tableau, les valeurs de la DL<sub>50</sub> obtenues après 2j et qui causent 50% de mortalité des L4 sont de l'ordre croissant  $6,45 \times 10^5$  spore/ml (*Fusarium sp.*) ;  $5,75 \times 10^7$  spore/ml (*Aspergillus sp.*) ;  $2,39 \times 10^8$  spore/ml (*Penicillium sp2.*) ;  $1,99 \times 10^9$  spore/ml (*Penicillium sp1.*) et  $6,30 \times 10^{10}$  spore/ml (*Cladosporium sp.*). Ces résultats nous ont permis de déduire que *Fusarium sp.* Et *Aspergillus sp.* ont une forte activité larvicide sur les L4 de *Cs. longiareolata*.

### III.3.3. Calcul de la TL<sub>50</sub>

Le calcul des TL<sub>50</sub> (temps létal au bout duquel on obtient 50% de mortalité) des cinq champignons (*Fusarium sp.*; *Cladosporium sp.*; *Penicillium sp.1*; *Penicillium sp.2*; *Aspergillus sp.*) testés sur les L4 de *Cs. longiareolata* nous renseigne sur la variation du temps provoqué par la variation de la dose. Pour cela nous avons effectué la transformation des pourcentages de mortalité en Probits et celles des temps en logarithme népérien (**Annexe 05**).

Les résultats des valeurs de TL<sub>50</sub> relatifs aux cinq doses sont représentés dans les tableaux 14 ; 15 ; 16 ; 17 et 18.

**Tableau 14.** Equations des droites de régressions et valeurs des TL<sub>50</sub> pour chaque dose de *Fusarium sp.*

Doses	Equations	Coefficient de détermination (R <sup>2</sup> )	TL <sub>50</sub> (jours)
<b>D1 (8,8×10<sup>6</sup>sp/ml)</b>	Y= 4,072x+3,316	0,797	<b>3</b>
<b>D2 (8,8×10<sup>5</sup>sp/ml)</b>	Y=3,759x+2,752	0,684	4
<b>D3 (8,8×10<sup>4</sup>sp/ml)</b>	Y=3,239x+2,763	0,549	5
<b>D4 (8,8×10<sup>3</sup>sp/ml)</b>	Y=3,395x+2,542	0,545	5
<b>D5 (8,8×10<sup>2</sup>sp/ml)</b>	Y=2,776x+2,569	0,442	7

**Tableau 15.** Equations des droites de régressions et valeurs des TL<sub>50</sub> pour chaque dose de *Cladosporium sp.*

Doses	Equations	Coefficient de détermination (R <sup>2</sup> )	TL <sub>50</sub> (jours)
<b>D1 (3,5×10<sup>6</sup>sp/ml)</b>	Y=4,226x+2 ,282	R <sup>2</sup> =0,638	<b>4</b>
<b>D2 (3,5×10<sup>5</sup>sp/ml)</b>	Y=4,436x+1,894	R <sup>2</sup> =0,600	5
<b>D3 (3,5×10<sup>4</sup>sp/ml)</b>	Y=3,877x+1,839	R <sup>2</sup> =0,571	6
<b>D4 (3,5×10<sup>3</sup>sp/ml)</b>	Y=4,821x+0,486	R <sup>2</sup> =0,717	9
<b>D5 (3,5×10<sup>2</sup>sp/ml)</b>	Y=5,519x-0,596	R <sup>2</sup> =0,729	10

**Tableau 16.** Equations des droites de régressions et valeurs des TL<sub>50</sub> pour chaque de *Penicillium sp1*.

Doses	Equations	Coefficient de détermination R <sup>2</sup>	TL <sub>50</sub> (jours)
D1 (54.10 <sup>6</sup> sp/ml)	Y= 3,9918x + 3,0913	R <sup>2</sup> = 0,9148	3
D2 (54.10 <sup>5</sup> sp/ml)	Y = 5,3593x + 1,4719	R <sup>2</sup> = 0,891	4
D3 (54.10 <sup>4</sup> sp/ml)	Y = 5,4325x + 1,1855	R <sup>2</sup> = 0,9257	5
D4 (54.10 <sup>3</sup> sp/ml)	Y = 5,5097x + 1,0545	R <sup>2</sup> = 0,9404	5
D5 (54.10 <sup>2</sup> sp/ml)	Y= 6,3538x + 0,0244	R <sup>2</sup> = 0,8924	6

**Tableau 17.** Equations des droites de régressions et valeurs des TL<sub>50</sub> pour chaque dose de *Penicillium sp.2*

Doses	Equations	Coefficient de détermination (R <sup>2</sup> )	TL <sub>50</sub> (jours)
D1(49.10 <sup>6</sup> sp/ml)	Y= 3,3771x + 2,2349	R <sup>2</sup> = 0,6903	6
D2(49.10 <sup>5</sup> sp/ml)	Y = 5,1552x + 0,3121	R <sup>2</sup> = 0,8565	7
D3(49.10 <sup>4</sup> sp/ml)	Y = 9,0325x - 3,9045	R <sup>2</sup> = 0,8774	9
D4(49.10 <sup>3</sup> sp/ml)	Y = 6,9908x - 2,3406	R <sup>2</sup> = 0,7852	11
D5(49.10 <sup>2</sup> sp/ml)	Y = 6,7904x - 2,7125	R <sup>2</sup> = 0,6538	13

**Tableau 18.** Equations des droites de régressions et valeurs des TL<sub>50</sub> pour chaque dose d'*Aspergillus sp.*

Doses	Equations	Coefficient de détermination (R <sup>2</sup> )	TL <sub>50</sub> (jours)
<b>D1 (45×10<sup>6</sup>sp/ml)</b>	Y= 2,973x+4,295	R <sup>2</sup> =0,799	<b>2</b>
<b>D2 (45×10<sup>5</sup>sp/ml)</b>	Y=3,193x+3,942	R <sup>2</sup> =0,769	2
<b>D3 (45×10<sup>4</sup>sp/ml)</b>	Y= 3,495x+3,521	R <sup>2</sup> =0,754	3
<b>D4 (45×10<sup>3</sup>sp/ml)</b>	Y=3,866x+3,079	R <sup>2</sup> =0,777	3
<b>D5 (45×10<sup>2</sup>sp/ml)</b>	Y=3,789x+2,712	R <sup>2</sup> =0,786	4

Les tableaux 14, 15, 16, 17 et 18, montrent que le temps le plus court qui a provoqué la moitié de mortalité (TL<sub>50</sub>) est enregistré après le 2<sup>ème</sup>, le 3<sup>ème</sup> et le 3<sup>ème</sup> jours à partir de la dose D1 (10<sup>6</sup>sp/ml) des solutions entomopathogènes d'*Aspergillus sp.* ; *Fusarium sp.* et *Penicillium sp.* 2 successivement. Pour les autres solutions ces valeurs sont beaucoup plus prolongées dans le temps. 4<sup>ème</sup> jours pour *Cladosporium sp.* et 6<sup>ème</sup> pour *Penicillium sp.* 1. (D1= 10<sup>6</sup>spore/ml). Les valeurs de TL<sub>50</sub> sont inversement proportionnelles aux doses appliquées et qui nous ont permis d'expliquer la rapidité d'action des solutions entomopathogènes.

Dans cette étude nous avons testé cinq souches fongiques endophytes (*Fusarium sp.* (Bo1); *Cladosporium sp.* (Bo2); *Penicillium sp.* 1. (Bo3) ; *Penicillium sp.* 2. (Pt1) ; *Aspergillus sp.* (Pt2)) isolées pour la première fois à partir de deux plantes médicinales *Borago officinalis* L. et *Pittosporum tobira* (Thumb) W.Aiton contre les larves du 4<sup>ème</sup> stade de *Culiseta longiareolata* avec différentes doses (D1 ; D2 ; D3 ; D4 ; D5).

D'après les recherches bibliographiques, aucun travail n'a été réalisé pour étudier l'effet bioinsecticide de ces cinq champignons endophytes sur les larves de *Cs.longiareolata*. Par contre des larges études sont disponibles sur l'effet d'autres champignons entomopathogènes qui sont utilisées pour contrôler la population de moustique.

Les champignons et leurs produits sont une alternative virulente et prometteuse à la lutte chimique contre les larves et les adultes de moustiques. Le premier rapport sur la pathogénicité de *Metarizium anisopliae* IP chez adulte *Anophèles gambiae* et *Anophèles arabiensis* a le potentiel d'être un agent de biocontrôle pour les espèces vectrices du paludisme en Afrique. *Metarizium anisopliae* IP a été testé pour sa capacité à réduire la survie

des adultes mâles et femelles d'*Anophèles gambiae* et d'*Anophèles arabiensis*. Une exposition de 6 heures à ce champignon recouvert sur du papier test à une concentration de  $3,3 \times 10^6$  conidies/cm<sup>2</sup> réduisait la survie des deux espèces de moustiques. Le risque de décès étant plus élevé à *Anophèles gambiae* par rapport à *Anophèles arabiensis* (Mnyone et al., 2009).

Dans le présent travail, la meilleure activité bioinsecticide est attribuée à *Fusarium sp.* (Bo1) qui a enregistré le 100% de mortalité dès le premier jour de traitement par la solution mère (D<sub>SM</sub>= $8,8 \times 10^7$  sp/ml) avec des valeurs de DL<sub>50</sub>=  $6,45 \times 10^5$  spore/ml et TL<sub>50</sub>= 3 jours. De même, Singh et Prakash (2011), ont montré que les filtrats de culture quand ils ont été combinés, dans les rapports 1: 1: 1 de *Fusarium oxysporum*, *Lagenidium giganteum*, *Trichophyton ajelloi* présentent une mortalité considérable pour contrôler les adultes de *Culex quinquefasciatus*.

Par ailleurs, Govindarajan et al. (2005), ont montré que le taux de mortalité des filtrats de culture de *Fusarium vasinfectum* isolé à partir du sol sur les larves de 3<sup>ème</sup> stade de *Culex quinquefasciatus* soit observée après 24 heures avec une concentration létale (CL<sub>50</sub> =50,03 mg/ml). Des études menées par Rezende et al. (2009), contre *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) par l'utilisation d'un filtrat de *Cladosporium sp.* a donné comme résultat 95% de mortalité pour les larves et 100% pour les adultes de cet insecte. Laib (2014), a isolé également ce champignon (*Cladosporium sp.*) à partir des feuilles de Laurier rose *Nerium oleander* L. (Apocynaceae, Gentianales) et qui a montré que les filtrats de ce champignon endophyte sont dotés d'une bonne activité insecticide contre *Acanthoscelides obtectus* avec un taux de mortalité de 84% a été enregistré 48 heures après la pulvérisation de la préparation à 100%.

*Penicillium citrinum* est l'une des espèces du genre *Penicillium*, quia révélé un effet très agressive vis-à-vis des larves (L2 et L4) de *Culex pipiens*, *Aedes aegypti* et *Anophèles stephensi*. *Penicillium citrinum* tue les larves de moustiques sans se multiplier dans l'hôte, probablement grâce à un processus toxémique. L'agressivité de *Penicillium citrinum* à l'égard des larves de 2<sup>ème</sup> stade d'*Aedes aegypti* traitées par des suspensions conidiennes titrant 10<sup>7</sup> sp/ml avec un taux de mortalité total de 100% et TL<sub>50</sub>=1 jour (Riba et al., 1984).

Par ailleurs, Russell et al. (2001), ont conclu après des travaux réalisés en Australie que le champignon *Penicillium citrinum* a contribué à réduire la viabilité des œufs d'*Aedes aegypti*. Lara da Costa et al. (1998), ont réalisés des essais biologiques *in vitro* afin d'évaluer le pouvoir pathogène de 13 souches de *Penicillium* chez des larves de 2<sup>ème</sup> stade *Aedes*

*aegypti*, *Aedes fluviatilis*, *Anophèles aquasalis* et *Culex quinquefasciatus*. Les taux de mortalité ont commencé dans les 24 premières heures, allant de 0 à 100%. De plus, **Govindarajan et al. (2005)**, ont montré que le filtrat de *Penicillium falicum* a un effet sur les larves de 3<sup>ème</sup> stade de *Culex quinquefasciatus*. Les résultats ont montré que la mortalité larvaire pouvait être observée sur 24 heures avec une concentration létale ( $CL_{50} = 44,97 \text{ mg/L}$ ). **Ragavendran et al. (2017)**, visait à vérifier le potentiel larvicide des mycéliums fongiques (avec un solvant à base d'acétate d'éthyle) extrait de *Penicillium daleae* à l'égard des larves des stades 1-5 de *Culex quinquefasciatus* et *Aedes aegypti* à une concentration plus élevée (1000 mg/ml) d'extrait, la mortalité commence à 18h d'exposition et atteint 100% de mortalité après 48 h d'exposition. Dans l'ensemble, l'activité dépend de la dose et du temps d'exposition au traitement.

Dans la littérature, plusieurs travaux montrent les effets insecticides de différentes espèces d'*Aspergillus*. Mais souvent les auteurs ont utilisé la biomasse microbienne dans les tests de toxicité. **De Moraes et al., (2001)**, ont mis en évidence l'efficacité de plusieurs espèces d'*Aspergillus* dont *Aspergillus flavus* contre *Aedes fluviatilis*. Cependant, ces mêmes souches ont été testées sur *Culex quinquefasciatus* mais sans succès, avec des concentrations en spores de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6$  spore/ml. Par contre, **Bawin et al. (2016)**, ont réalisé un test de toxicité avec une concentration en spores de  $10^6$  spore/ml d'*Aspergillus flavus* contre *Culex quinquefasciatus*. Au bout de 5 jours d'incubation, la mortalité était de 83%. La  $LC_{50}$  étant de  $1,8 \times 10^8$  spore/ml pour un temps d'incubation de 72 heures.

C'est suite à la découverte d'une souche d'*Aspergillus oryzae* XJ-1 sur *Locusta migratoria* (criquet) que cette espèce d'*Aspergillus* a fait l'objet d'une étude de toxicité contre ce même insecte au stade 3. Les  $CL_{50}$  pour le 10<sup>ème</sup>, 13<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> jours issus de cette étude sont  $3,3 \times 10^8$ ;  $1,7 \times 10^7$  et  $7,2 \times 10^6$  spore/ml respectivement (**Zhang et al., 2015**).



**Conclusion**

**Et**

**Perspectives**

## Conclusion

La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique d'une part, et la lutte contre les maladies transmises par leurs piqûres d'autre part, font de ces Arthropodes un matériel d'étude important pour les biologistes. Les champignons endophytes sont une alternative attrayante aux pesticides chimiques car ils peuvent fournir des alternatives pour la gestion.

Le présent travail s'articule essentiellement autour de deux axes principaux. Le premier vise à isoler et identifier les différents champignons endophytes à partir des segments de feuille de deux plantes médicinales *B. officinalis* L. et *P. tobira* récoltés dans la wilaya de Boumerdès au niveau de l'université de Mohamed Bougara. Le deuxième est consacré à l'évaluation de l'effet bio insecticide des isolats fongiques sur les larves de moustique de quatrième stade (L4) *Culiseta longiareolata*.

Les examens macroscopiques, microscopiques, nous permis d'identifier pour la première fois divers champignons endophytes à partir des feuilles de deux plantes *B. officinalis* L. et *P. tobira*. Les résultats obtenus montrent une dominance des Moniliaceae, représentée essentiellement par quatre espèces, à savoir, *Fusarium sp.* ; *Penicillium sp1.* ; *Penicillium sp2.* ; *Aspergillus sp.* Suivi par les Dematiaceae avec une seule espèce *Cladosporium sp.*

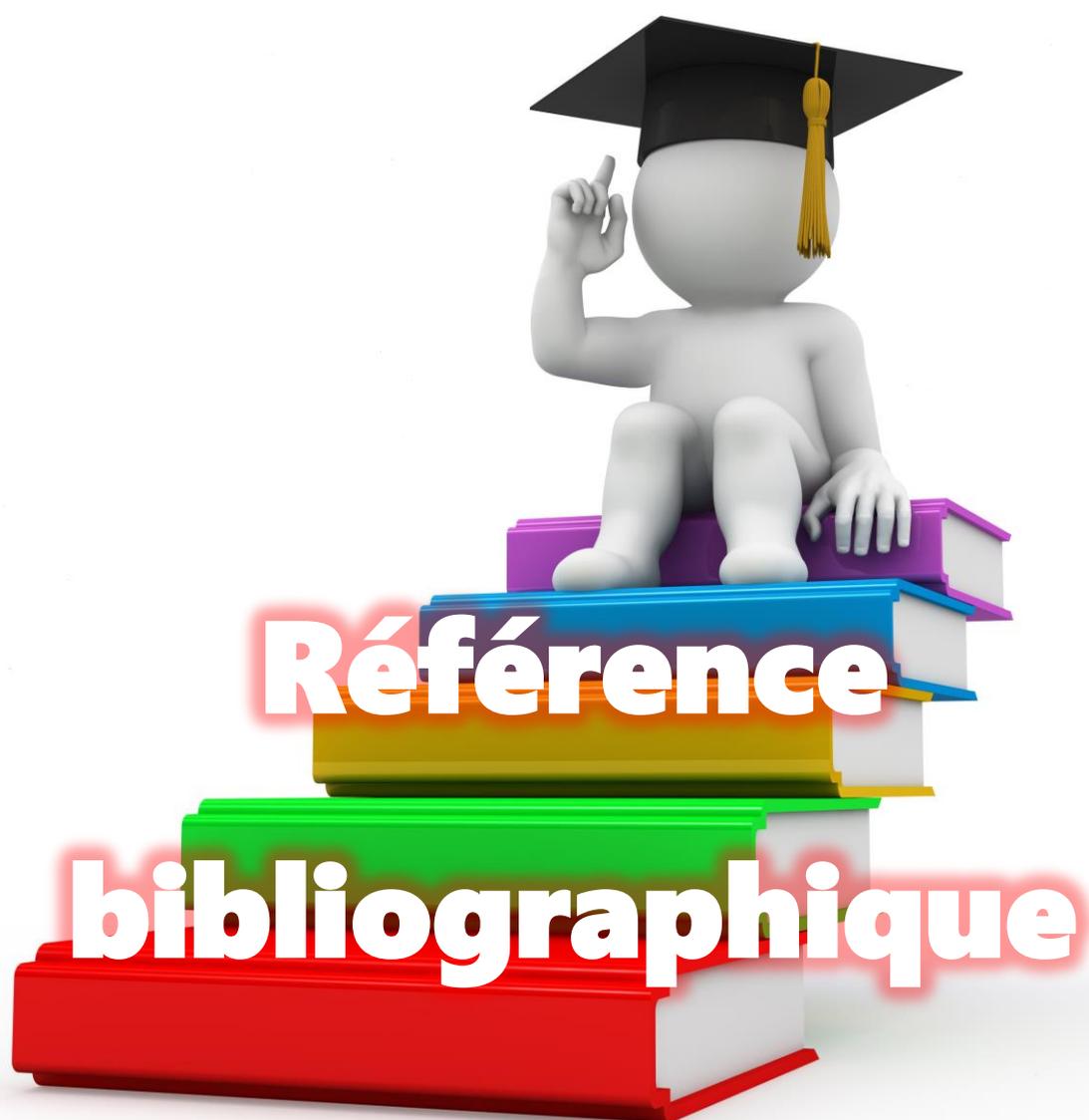
Par ailleurs, les trois champignons endophytes : *Fusarium sp.* ; *Penicillium sp1.* ; *Cladosporium sp.* ont été isolés à partir de la plante *B. officinalis* (TC= 71, 43%). Les autres isolats fongiques (*Penicillium sp2.* et *Aspergillus sp.*) sont par contre détectés dans *P. tobira* avec un taux de colonisation TC= 28,57%. La fréquence d'isolement (FI) de ces champignons endophytes est de 28,57% pour *Fusarium sp.* (Bo1) et *Penicillium sp1.* (Bo2), et de 14,28% pour les autres.

Concernant l'effet insecticide, les résultats des bios tests effectués sur les larves de quatrième stade de *Cs.longiareolata*, ont révélés que la meilleure activité larvicide est attribuée à *Fusarium sp.* ( $DL_{50} = 6,45 \times 10^5$  spore/ml ;  $TL_{50} = 3$  jours) et *Aspergillus sp.* ( $DL_{50} = 6,45 \times 10^7$  spore/ml ;  $TL_{50} = 2$  jours) suivi de *Penicillium sp.2* ( $DL_{50} = 2,39 \times 10^8$  spore/ml ;  $TL_{50} = 6$  jours) ; *Penicillium sp1.* ( $DL_{50} = 1,99 \times 10^9$  spore/ml ;  $TL_{50} = 3$  jours) et enfin *Cladosporium sp.* ( $DL_{50} = 6,30 \times 10^{10}$  spore/ml ;  $TL_{50} = 4$  jours).

Il ressort de ce travail que les deux plantes médicinales *B. officinalis* L. et *P. tobira*. Sont une niche de plusieurs champignons endophytes pouvant avoir une importance biotechnologique. En perspectives, il serait souhaitable de poursuivre les recherches afin :

## ***Conclusion***

- D'isoler et d'identifier d'autres champignons et d'autres microorganismes à partir des différentes parties des deux plantes (racines, tiges et fleurs) ;
- D'évaluer l'effet des métabolites secondaires extraites des champignons endophytes ;
- D'identifier les isolats fongiques en effectuant des techniques moléculaire en se basant sur les analyses des séquences nucléotidiques ADNr 18S des gènes et comparaison des séquences d'ADN avec la banque de données « Genbank » ;
- D'Utiliser les champignons endophytes dans la lutte biologique contre d'autres espèces de moustique et d'autre insectes ;
- d'apprécier l'effet de ces microorganismes ; en augmentant la culture des gammes des champignons endophytes.



## Références bibliographiques

- **Abagli, A. Z., Alavo, T. B. C., & Brodeur, J. (2014).** Microorganismes entomopathogènes, prédateurs et parasites des moustiques: Perspectives pour la lutte raisonnée contre les vecteurs du paludisme en Afrique sub-saharienne. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(1), 340-354.
- **Abbott, W. S. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of economic Entomology*, 18(2), 265-267.
- **Abdel-Motaal F. F., Nassar M. S. M., El-Zayat S. A., El-Sayed M. A. and Ito S. I. (2010)-** Antifungal activity of endophytic fungi isolated from egyptian henbane (*Hyoscyamus muticus* l.). *Pakistan Journal of Botany*. 42: pp 2883-2894.
- **Adisso, D. N., & Alia, A. R. (2005).** Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net® et Permanet® dans les conditions de terrain. Mémoire de fin de formation en. Mémoire de fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou. 79p.
- **Alice, M.(2018).** Helichrysum italicum et ses micromycetes Endophytes : diversité et biotransformations. Thèse Pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Toulouse Iii Paul Sabatier Faculté Des Sciences Pharmaceutiques.132p.
- **Asadi-Samani, M., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014).** The chemical composition, botanica characteristic and biological activities of *Borago officinalis*: a review. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S22-S28.
- **Bawin, T., Seye, F., Boukraa, S., Zimmer, J. Y., Delvigne, F., & Francis, F. (2015).** La lutte contre les moustiques (Diptera: Culicidae): diversité des approches et application du contrôle biologique. *The Canadian Entomologist*, 147(4), 476-500.
- **Bawin, T., Seye, F., Boukraa, S., Zimmer, J. Y., Raharimalala, F. N., Zune, Q., ... & Francis, F. (2016).** Production of two entomopathogenic *Aspergillus* species and insecticidal activity against the mosquito *Culex quinquefasciatus* compared to *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 26(5), 617-629.
- **Becker, N. (1997).** Microbial control of mosquitoes: management of the Upper Rhine mosquito population as a model programme. *Parasitology Today*, 13(12), 485-487.
- **Benserradj, O. (2014).** Evaluation de *Metarhizium anisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de doctorat en Biotechnologies, Biologie et Environnement, Université Constantine1, 179p.

## Références bibliographiques

- **Bhagobaty R. K., Joshi S. R. and Kumar R, (2010).** *Penicillium verruculosum* RS7PF: A root fungal endophyte associated with an ethno-medicinal plant of the indigenous tribes of Eastern India. *African Journal of Microbiology Research*. 4: pp 766-770.
- **Bissaad, F. Z., Youcef, M., & Doumandji-Mitiche, B. B. (2010).** Effet d'un champignon entomopathogène *Metarhizium Anisopliae* Var. *Acridum* sur la cuticule de criquet pèlerin (*Schistocerca Gregaria*, Forskål, 1775).
- **Bouderhem, A. (2015).** Effet des huiles essentielles de la plante *Lauru nobilis* sur l'aspect toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Thèse de master en Biochimie appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar D'El Oued. 46p.
- **Boukraa, S., Baba Aissa, N., Abdelaziz, B., Lounaci, Z., Doumandji, S., & Francis, F. (2013).** Moustiques (Diptera: Culicidae) de la région du M'Zab-Ghardaïa, Algérie: biodiversité et importance médico-vétérinaire.
- **Canard, B et Sénéquier-Croze, A. (2016).** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et Production de molécules d'intérêt thérapeutique. Thèse d'exercice Présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie. Université Grenoble Alpes .102p.
- **Cattel, J. (2016).** Utilisation des bactéries *Wolbachia* pour lutter contre une espèce invasive et ravageuse de cultures, *Drosophila suzukii* (Doctoral dissertation, Université de Lyon).
- **Cavalier M. (1976).** *Cours de phytopharmacie*. Ed. Institut National Agronomique, T.1, El- Harrach, 514 p.
- **Chabasse D., Bouchara J.P., DE Gentile L., Brun S., Cimon B., Penn P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation n° 25.159P.
- **Chebil, B et Aouati, C.(2018).** Criblage des activités antagoniste des quelques souches endophytes contre des champignons phytopatogène .Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie, Option : Microbiologie Appliquée. Université Larbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi. 56p.
- **Chung, I. M., Seo, S. H., Kang, E. Y., Park, W. H., & Moon, H. I. (2010).** RETRACTED: Larvicidal effects of the major essential oil of *Pittosporum tobira*

## Références bibliographiques

- against *Aedes aegypti* (L.). *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 25(3), 391-393.
- **Crespo, R., Pedrini, N., Juárez, M. P., & Dal Bello, G. M. (2008).** Volatile organic compound released by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Microbiological research*, 163(2), 148-151.
  - **Druart, F. (2017).** Production de micro-organismes entomopathogènes pour lutter contre les moustiques et caractérisation de leurs métabolites.
  - **Dufresne, C et Ouellet, Ch (2009).**Filière Des Plantes Médicinales Biologiques Du Québec. *La bourrache*, Guide de production sous régie biologique, Québec, 26 p.
  - **El Dib, R. A., Eskander, J., Mohamed, M. A., & Mohammed, N. M. (2015).** Two new triterpenoid estersaponins and biological activities of *Pittosporum tobira* 'Variegata' (Thunb.) WT Aiton leaves. *Fitoterapia*, 106, 272-279.
  - **Fall, A.G. (2013).**Techniques de capture et d'identification des moustiques (Diptera: Culicidae) vecteurs de la fièvre de la vallée du Rift.
  - **George J., Jenkins N., Blanford S., Thomas M. & Baker T., (2013).** Malaria Mosquitoes Attracted by Fatal Fungus. e62632. *PLoS ONE* 8(5).
  - **Goulu, M. (2015).** Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies: utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en réduisant les doses utilisées (Doctoral dissertation, Angers).
  - **Govindarajan, M., Jebanesan, A., & Reetha, D. (2005).** Larvicidal effect of extracellular secondary metabolites of different fungi against the mosquito, *Culex quinquefasciatus* Say. *Tropical biomedicine*, 22(1), 1-3.
  - **Gupta, M., & Singh, S. (2010).** *Borago officinalis* Linn. An important medicinal plant of Mediterranean region: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5(1), 27-34.
  - **Halouane, F., Bissaad, F. Z., Doumandji, M. B., Benzina, F., Chahbar, N., & Hamid, S. (2013).** Study of the effect of *Beauveria bassiana* (Vuil.) on the biochemistry and structure of the cuticle of *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Annals of Biological Research*, 4(12), 68-74.

## Références bibliographiques

- **Hamdani, H. et Bourega H.E. (2018).** Effet insecticide de l'huile essentielle de *Pittosporum tobira* (Pittosporaceae) sur l'insecte ravageur du blé en post-récolte «*Tribolium castaneum*»(Herbst).
- **Hamid, S. O. N. I. A., Halouane, F. A. T. M. A., Bissaad, F. Z., & Benzina, F. A. R. I. D. A. (2013).** Study about the effect of *Beauveria bassiana* (Vuillemin IN 1912) on the aquatic stages of *Culex pipiens* (LINNÉ, 1758). *Int. J. Bio-Technol. Res*, 3(3), 31-42.
- **Hamilton, C. E., Bever, J. D., Labbé, J., Yang, X., & Yin, H. (2016).** Mitigating climate change through managing constructed-microbial communities in agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 216, 304-308.
- **Huang W.Y.,Cai Y.Z.,Kevin D., Hyde H.C.,&Sun M.,(2007).**Endophytic fungi from *Nerium oleander* L (Apocynaceae):main constituents and antioxidant activity. *World Journal of Microbiol Biotechnology*.,23:1253-1263.
- **Karimi, E., Oskoueian, E., Karimi, A., Noura, R., & Ebrahimi, M. (2018).**Borago officinalis L. flower: a comprehensive study on bioactive compounds and its health-promoting properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 826-838.
- **Khan. R, Shahzad. S, Choudhary. M. I, Khan. S. A and Ahmad. A, (2010).** Communities of endophytic fungi in medicinal plant *Withania somnifera*. *Pakistan Journal of Botany*; 42: pp1281-1287.
- **Kouadria, R. (2019).** Contribution des champignons endophytes à la tolérance aux facteurs adverses (biotiques et abiotiques) des espèces cultivées: isolement des champignons endophytes et étude de leur contribution à la tolérance à la salinité ou à des polluants (Doctoral dissertation, Plant Archives Vol. 18 No. 2, 2018 pp. 1835-1840-e ISSN: 2581-6063 (online).
- **Kouadria, R., Bouzouina, M., & Lotmani, B. (2018).** Isolation And Identification Of Endophytic Fungi On Plants Growing In Salt Environments, Using Its And 18s Molecular Methods. A Plant Protection Laboratory, Abdelhamid Ibn Badis University, Mostaganem, BP300, 27000, Algeria. B Molecular Genetic Laboratory, Ain Shams University, Cairo, Egypt..).

## Références bibliographiques

- **Lage de Moraes, A. M., Lara da Costa, G., Ziccardi de Camargo Barcellos, M., Lourenço de Oliveira, R., & Cunha d'Oliveira, P. (2001).** The entomopathogenic potential of *Aspergillus spp.* in mosquitoes vectors of tropical diseases. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 41(1), 45-49.
- **Laib, Dj. (2014).** Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Cladosporium sp.* isolé du Laurier rose *Nerium oleander* L. (Apocynaceae, Gentianales) sur la bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae). *Nature & Technology*,(10), 39.
- **Laib, Dj., Lombarkia, N, et Bensaci, O .A. (2015).** Utilisation des filtrats du champignon endophyte *Fusarium sp* de *Nerium oleander* L. dans la lutte biologique contre *Sitophilus zeamais* en Algérie. *Revue Agriculture*.( 10) 38 – 43
- **Laib, Dj.(2016).** Bioprospection des activités insecticides des champignons endophytes isolés à partir du laurier rose *Nerium oleander* L. (Apocynaceae, Gentianales) vis-à-vis des Coléoptères des denrées entreposées. Thèse de magister En sciences Agronomiques. Université de Batna I.139P.
- **Lara da Costa, G., Lage de Moraes, A. M., & Cunha de Oliveira, P. (1998).**Pathogenic action of *Penicillium* species on mosquito vectors of human tropical diseases. *Journal of Basic Microbiology: An International Journal on Biochemistry, Physiology, Genetics, Morphology, and Ecology of Microorganisms*, 38(5-6), 337-341.
- **Larbi Cherif, Y.(2016).** Diversité et Caractérisation des habitats des Diptères (Diptera, Culicidae) de la région de Chetouane (Tlemcen (Doctoral dissertation).
- **Lecellier, A. (2013).**Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. *Reims: Université de Reims Champagne-Ardenne*, 195.
- **Lugtenberg, B. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016).**Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(12).
- **Malhadas, C., Malheiro, R., Pereira, J. A., de Pinho, P. G., & Baptista, P. (2017).**Antimicrobial activity of endophytic fungi from olive tree leaves. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(3), 46.
- **Messai, N., & Berchi, S (2017).** *Etude de la bioécologie et de la structure du peuplement des moustiques (diptera: culicidae) dans les zones humides des hautes plaines du sud constantinois* (Doctoral dissertation).

## Références bibliographiques

- **Milcent, J.P. (2010).** Tela Botanica-Accueil. <https://.tela-botanica.org>.
- **Mnyone, L. L., Russell, T. L., Lyimo, I. N., Lwetoijera, D. W., Kirby, M. J., & Luz, C. (2009).** First report of *Metarhizium anisopliae* IP 46 pathogenicity in adult *Anopheles gambiae* ss and *An. arabiensis* (Diptera; Culicidae). *Parasites & Vectors*, 2(1), 59.
- **Moloinyane, S., & Nchu, F. (2019).** The Effects of Endophytic *Beauveria bassiana* Inoculation on Infestation Level of *Planococcus ficus*, Growth and Volatile Constituents of Potted Greenhouse Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Toxins*, 11(2), 72.
- **Nadji, h. (2011).** Contribution à l'étude des moustiques de la région de Biskra: aspects systématique, écologique, biochimique et énergétique (doctoral dissertation, université Mohamed khider-biskra).
- **Nagaraja. T. G. and Devkar. P. G, (2010)**-Seasonal occurrence of endophytic mycoflora of inner bark of medicinal plant *Acacia catechu* willd. *The Bioscan*.5: pp 243-245
- **O.M.S. (1963).** Méthodes à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. In Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, Sér .Rapp.techn.256, p 55-60.
- **Organisation Mondial De La Santé.(2017).** Maladies à transmission vectorielle.
- **Oudainia,W.(2015).** Etude bioécologique et systématique des Culicidae de la région d'Oum El Bouaghi. Effet de la température sur l'agressivité et la biologie de *Culex pipiens*. Thèse de Doctorat L.M.D (3ème cycle) en Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar Annaba.
- **Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N., & Houali, K. (2018).** Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganum harmala* of Dayate aiat (Laghouat, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10(1), 147-157.
- **Pates, H., & Curtis, C. (2005).** Mosquito behavior and vector control. *Annu. Rev. Entomol.*, 50, 53-70.

## Références bibliographiques

- **Petrini O., Sieber T.N., Toti L., & Viret O., (1992).** Ecology, metabolite production and substrate utilization in endophytic fungi. *Natural Toxins.*, 1:185-196.
- **Petrini, O., Stone, J., & Carroll, F. E. (1982).** Endophytic fungi in evergreen shrubs in western Oregon: a preliminary study. *Canadian Journal of Botany*, 60(6), 789-796.
- **Poupardin, R. (2011).** Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides (Doctoral dissertation, Université de Grenoble).
- **Ragavendran, C., Mariappan, T., & Natarajan, D. (2017).** Larvicidal, histopathological efficacy of *Penicillium daleae* against larvae of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* plus biotoxicity on *Artemia nauplii* a non-target aquatic organism. *Frontiers in pharmacology*, 8, 773.
- **Rajeswari, S., Umamaheswari, S., Arvind Prasanth, D., & Rajamanikandan, K. C. P. (2016).** Bioactive potential of endophytic fungi *Aspergillus flavus* (SS03) against clinical isolates. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci*, 8(9), 37-40.
- **Rakshith, D., Santosh, P., & Satish, S. (2013).** Isolation and characterization of antimicrobial metabolite producing endophytic *Phomopsis* sp. from *Ficus pumila* Linn.(Moraceae). *International Journal of Chemical and Analytical Science*, 4(3), 156-160.
- **Ramesha A., Sunitha V.H., & Srinivas C., (2013).** Antimicrobial activity of secondary metabolites from endophytic fungi isolated from *Nerium oleander* L. *International Journal of Nerium oleander* L (Apocynaceae): main constituents and antioxidant activity. *World Journal of Microbiol Biotechnology.*, 23:1253-1263. *Pharma and Bio Sciences.*, 4(1):683-693.
- **Rapport du groupe d'étude de l'Organisation mondiale de la santé sur le paludisme : lutte anti vectorielle et protection individuelle (2006).** Programme des Nations Unies pour l'environnement. Deuxième réunion Genève.
- **Ravelomanantsoa, S, H (2004).** les endophytes de *Eugenia jambolana* Lam.(Myrtaceae) : un modèle de relation plante-microorganismes .mémoire pour l'obtention du diplôme d'études approfondies en biologie et écologie végétale. Université d'antananarivo, p 88
- **Rebiai, G. (2017).** Etude de l'activité larvicide d'une plante *Rutagraveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation).

## Références bibliographiques

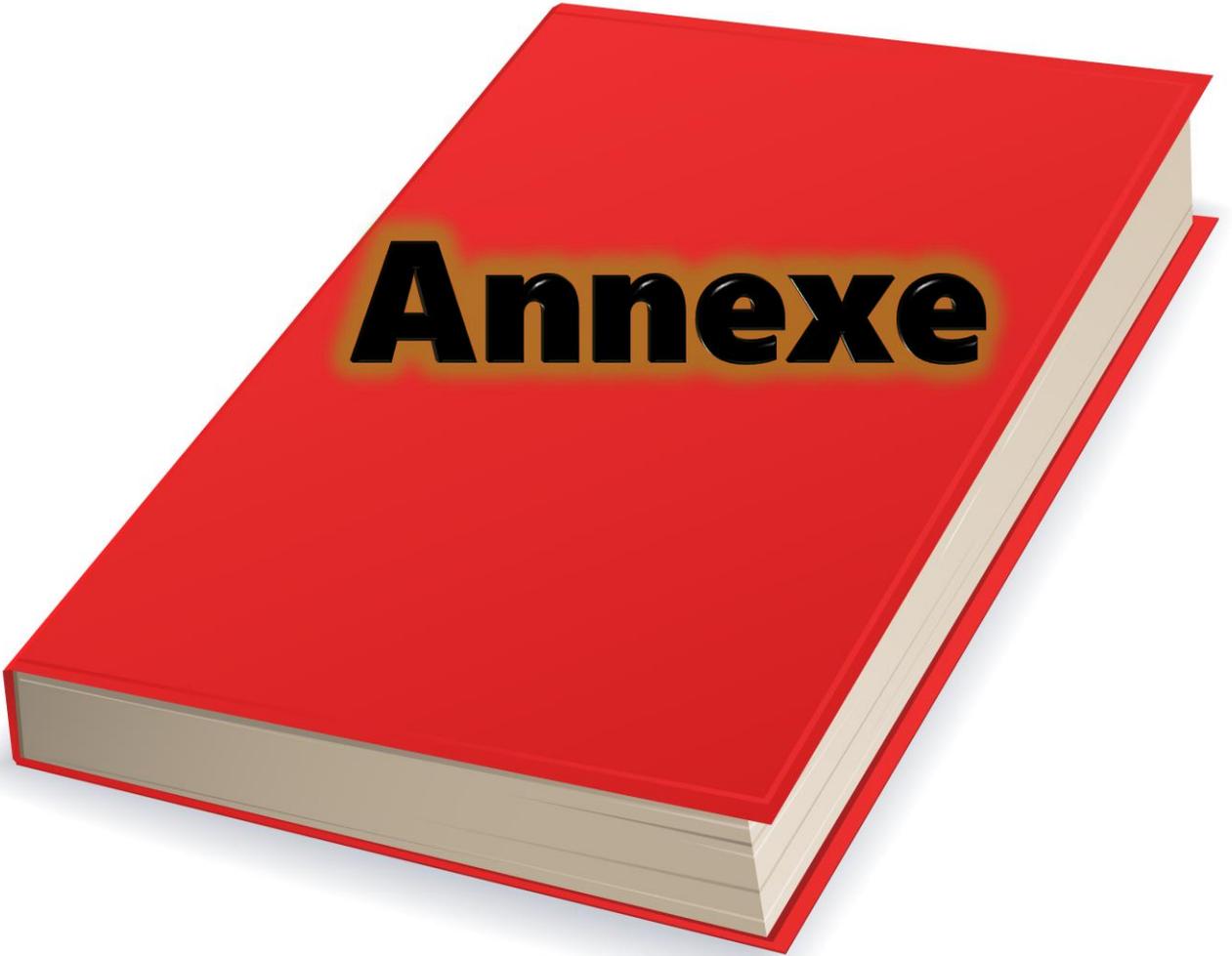
- **Reiter, B., Pfeifer, U., Schwab, H., & Sessitsch, A. (2002).** Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *Atroseptica*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(5), 2261-2268.
- **Rezende, S. R. F., Curvello, F. A., Fraga, M. E., Reis, R. C. S., Castilho, A. M. C., & Agostinho, T. S. P. (2009).** Control of the *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae) with entomopathogenic fungi. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 11(2), 121-127.
- **Riba, G., Keita, A., & Vincent, J. J. (1984).** Sensibilité des larves de moustiques à différentes espèces d'Hyphomycètes entomopathogènes. *Cah. ORSTOM Ser. Entomol. Med. Parasitol*, 22, 271-276.
- **Rjeibi, I., Ncib, S., Saad, A. B., & Soud, S. (2017).** Evaluation of nutritional values, phenolic profile, aroma compounds and biological properties of *Pittosporum tobira* seeds. *Lipids in health and disease*, 16(1), 206.
- **Rozendaal, J. A., & World Health Organization. (1999).** La lutte anti vectorielle: Méthodes à usage individuel et communautaire.
- **Russell, B. M., Kay, B. H., & Shipton, W. (2001).** Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) eggs in surface and subterranean breeding sites during the northern Queensland dry season. *Journal of medical entomology*, 38(3), 441-445.
- **Saar, D. E., Polans, N. O., Sørensen, P. D., & Duvall, M. R. (2001).** Angiosperm DNA contamination by endophytic fungi: detection and methods of avoidance. *Plant Molecular Biology Reporter*, 19(3), 249-260.
- **Sadallah, N., Belkhaouni, A. (2016)** .Étude biométrique sur des larves de *culex pipiens* exposées aux extraits des plantes. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en évolution et contrôle des populations d'insecte. Université des Frères Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature.
- **Sadrati, N., Daoud, H., Zerroug, A., Dahamna, S., & Bouharati, S. (2013).** Screening of antimicrobial and antioxidant secondary metabolites from endophytic fungi isolated from wheat (*Triticum durum*). *Journal of plant protection research*, 53(2), 128-136.
- **Sakhri, A. (2012)** .Isolement des mycètes producteurs de lastérigmatocystine à partir d'aliment (maïs) et étude de son effet toxique sur *Wistar albinos*. Thèse de magister en Biochimie, Technologie des Explorations Biochimiques. D'université : Mentouri Constantine.64p.

## Références bibliographiques

- **Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hevry J.P., Rhaiem A & Brnhes J. (2001).** Moustique d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
- **Sérandour, J. (2007).** Contribution à l'étude des moustiques anthropophiles de France: le cas particulier du genre *Coquillettidia* (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- **Singh, G., & Prakash, S. (2011).** Studies on fungal cultural filtrates against adult *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) a vector of filariasis. *Journal of parasitology research*, 2011.
- **Soltani, N. (2015).** Les moustiques: risques sanitaires, bio essais et stratégies de contrôle. In *1er séminaire national sur l'entomologie médicale et la lutte biologique; Conférence introductive, Tébessa, Algérie* (pp. 19-20).
- **Tabti, N. (2017).** Étude comparée de l'effet de *BACILLUS THURINGIENSIS* sur les populations purifiées et des populations des gîtes artificiels de *CULEX PIPPIENS* (*DIPTER-CULICIDAE*) dans la ville de Tlemcen. A (Doctoral dissertation).
- **Toubal, S., Bouchenak, O., Elhaddad, D., Yahiaoui, K., Boumaza, S., & Arab, K. (2018).** MALDI-TOF MS Detection of Endophytic Bacteria Associated with Great Nettle (*Urtica dioica* L.), Grown in Algeria. *Polish journal of microbiology*, 67(1), 67-72.
- **Toubal, S., Elhaddad, D., Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Sadaoui, N., & Arab, K. (2019).** L'importance des extraits d'*Urtica dioica* L. dans la lutte contre *Culex pipiens* (Linné, 1758). *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*, 5(1)
- **Vangoethem, V. (2017).** Caractérisation des composés organiques volatils émis par *Fusarium Culmorum* et *Cochliobolus Sativus* en stress et étude du potentiel en lutte biologique.
- **Vega, F.E.; Goettel, M.S.; Blackwell, M.; Chandler, D.; Jackson, M.A; Keller, S.; Koike, M. (2009).** Fungal entomopathogens new insights on their ecology, *Fungal Ecology*, 2: 149-159.
- **Wang, L., Ren, L., Li, C., Gao, C., Liu, X., Wang, M., & Luo, Y. (2019).** Effects of endophytic fungi diversity in different coniferous species on the colonization of *Sirex noctilio* (Hymenoptera: Siricidae). *Scientific reports*, 9(1), 5077.

## ***Références bibliographiques***

- **Wang, Y., & Dai, C. C. (2011).** Endophytes: a potential resource for biosynthesis, biotransformation, and biodegradation. *Annals of Microbiology*, 61(2), 207-215.
- **Wang, Y., Wu, X. M., & Zhu, Y. P. (2012).** Inhibition effects and mechanisms of the endophytic fungus *Chaetomium globosum* L18 from *Curcuma wenyujin*. *Acta Ecologica Sinica*, 32, 2040-2046.
- **www.wilaya-boumerdes.dz**
- **Zemmouri, H.(2015).**Etude des activités biologiques et effets comparatifs de *borago officinalis* & *urtica dioica* sur l'inflammation bronchique dans un modèle d'asthme expérimental chez les rats de la souche wistar.Thèse de doctorat en biochimie appliquée.université badji mokhtar annaba.198p.
- **Zerroug, A. (2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.).Thèse de magister en microbiologie, Université Ferhat Abbas –Sétif, 70p.
- **Zhang, P., You, Y., Song, Y., Wang, Y., & Zhang, L. (2015).** First record of *Aspergillus oryzae* (Eurotiales: Trichocomaceae) as an entomopathogenic fungus of the locust, *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Biocontrol science and technology*, 25(11), 1285-1298.



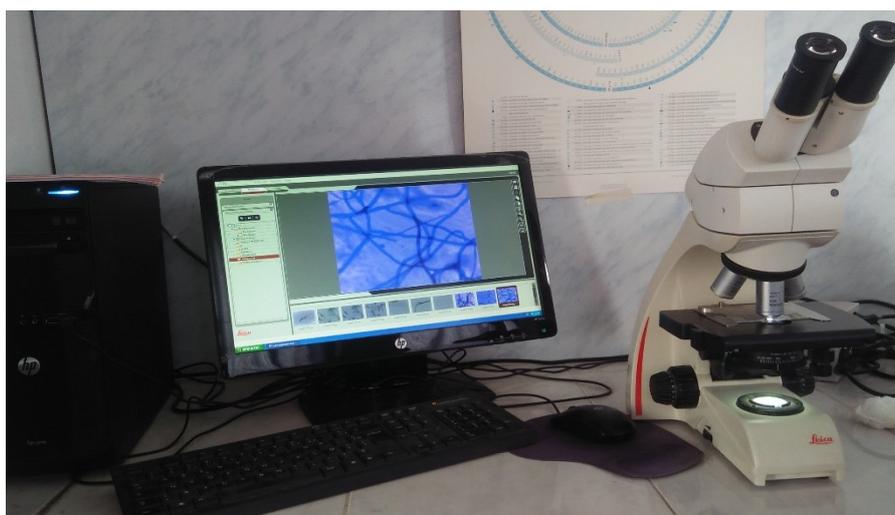
**Annexe 01.** PDA (Potato dextrose agar):

200g de pomme de terre

20g de glucose

25g d'agar

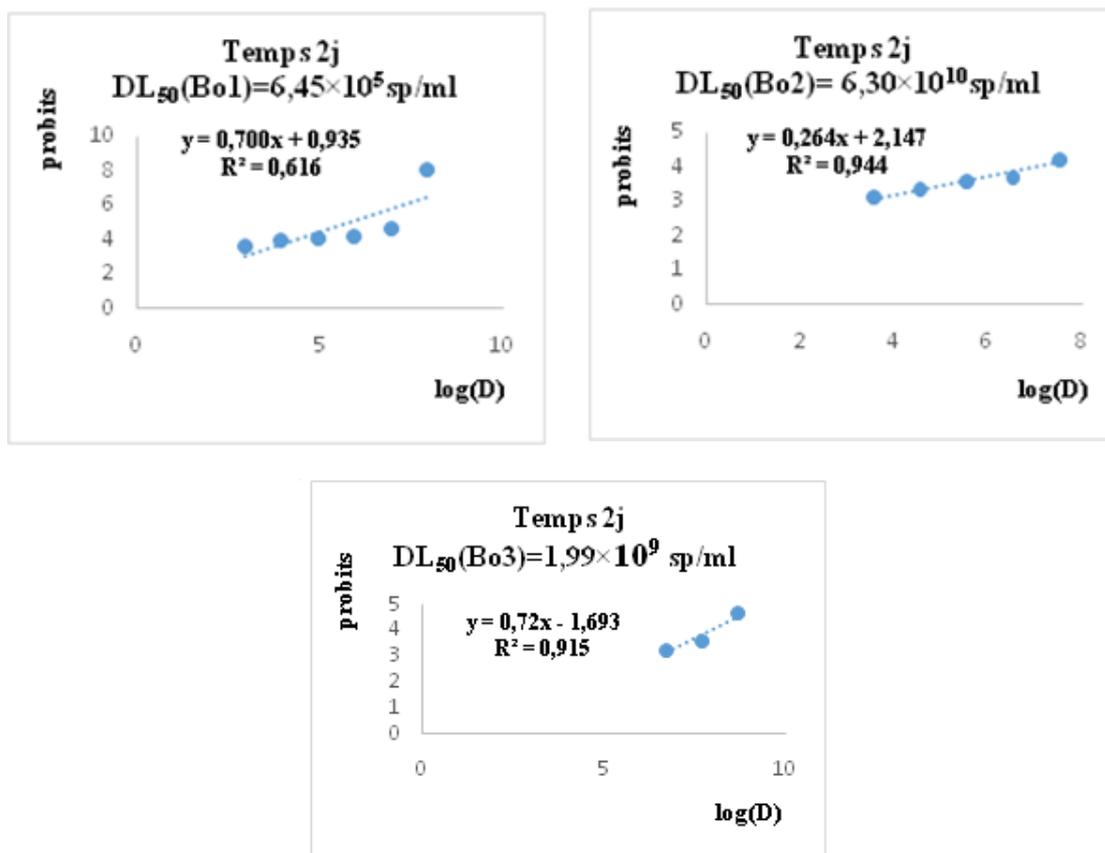
**Annexe 02.** Microscope optique (**Leica, Allemagne**) associé à un ordinateur (**Leica application suite**) au niveau de laboratoire (**VALCORE**) à l'université de Mohamed bougera Boumerdès.



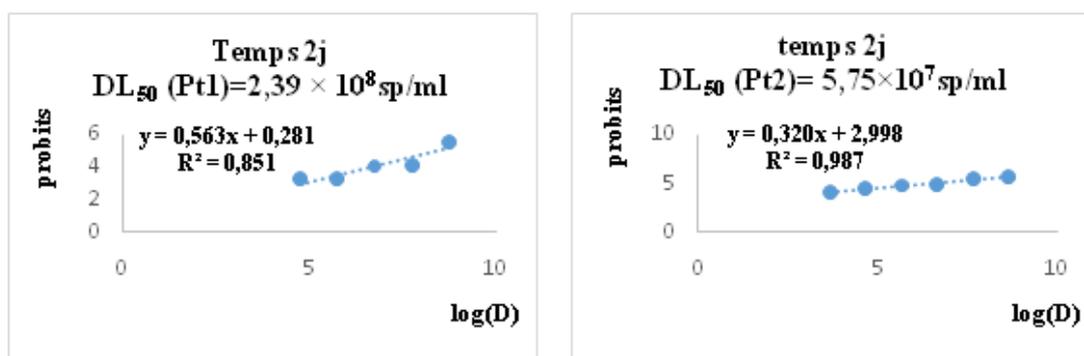
**Annexe 03.** Table des Probits (**Cavelier, 1976**)

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09

## Annexe 4

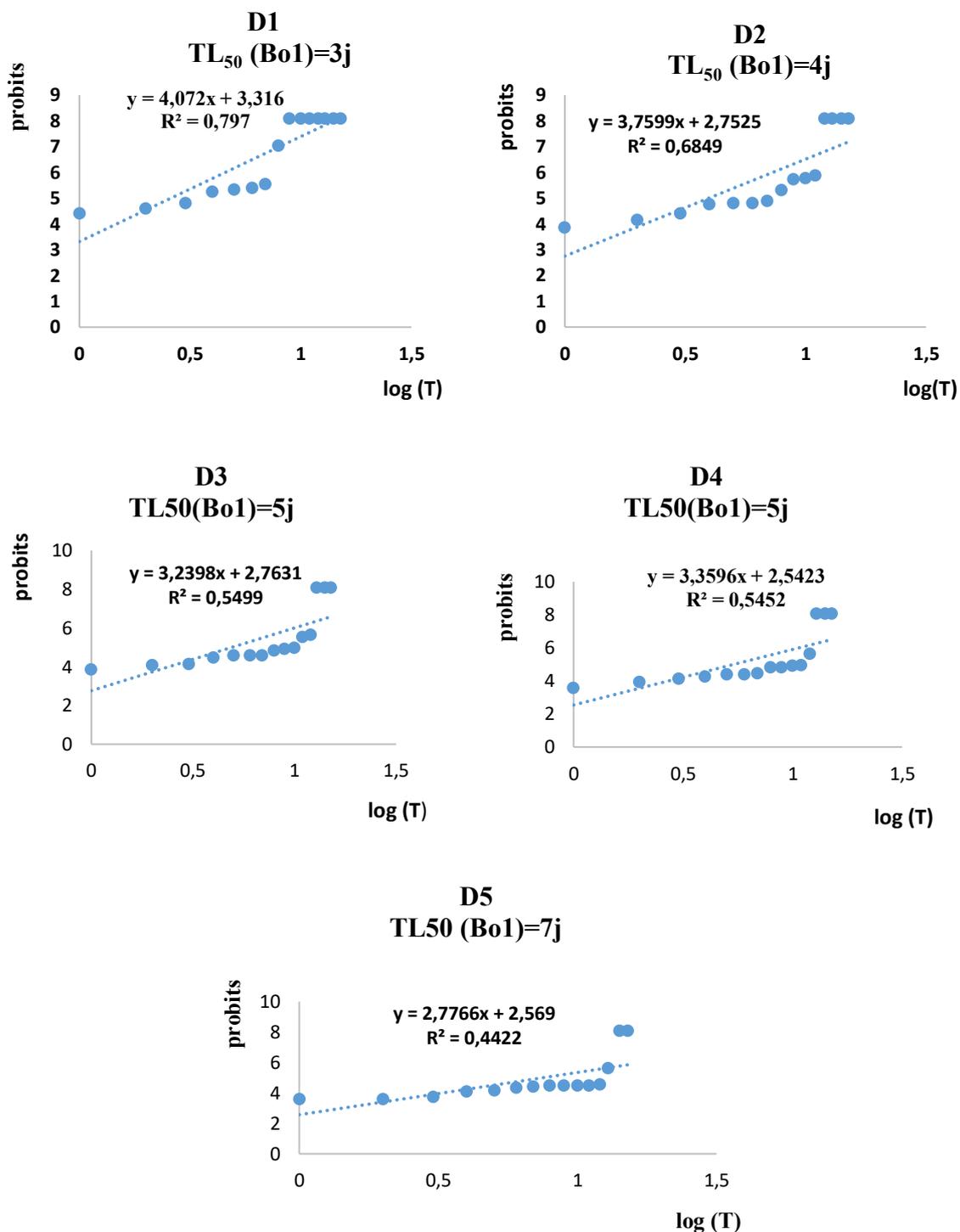


**Figure 01.** Droites de régression des larves L4 traitées par *Fusarium sp.* (Bo1) ; *Cladosporium sp.* (Ba2) ; *Penicillium sp.1* (Bo3) après 2j de contact.



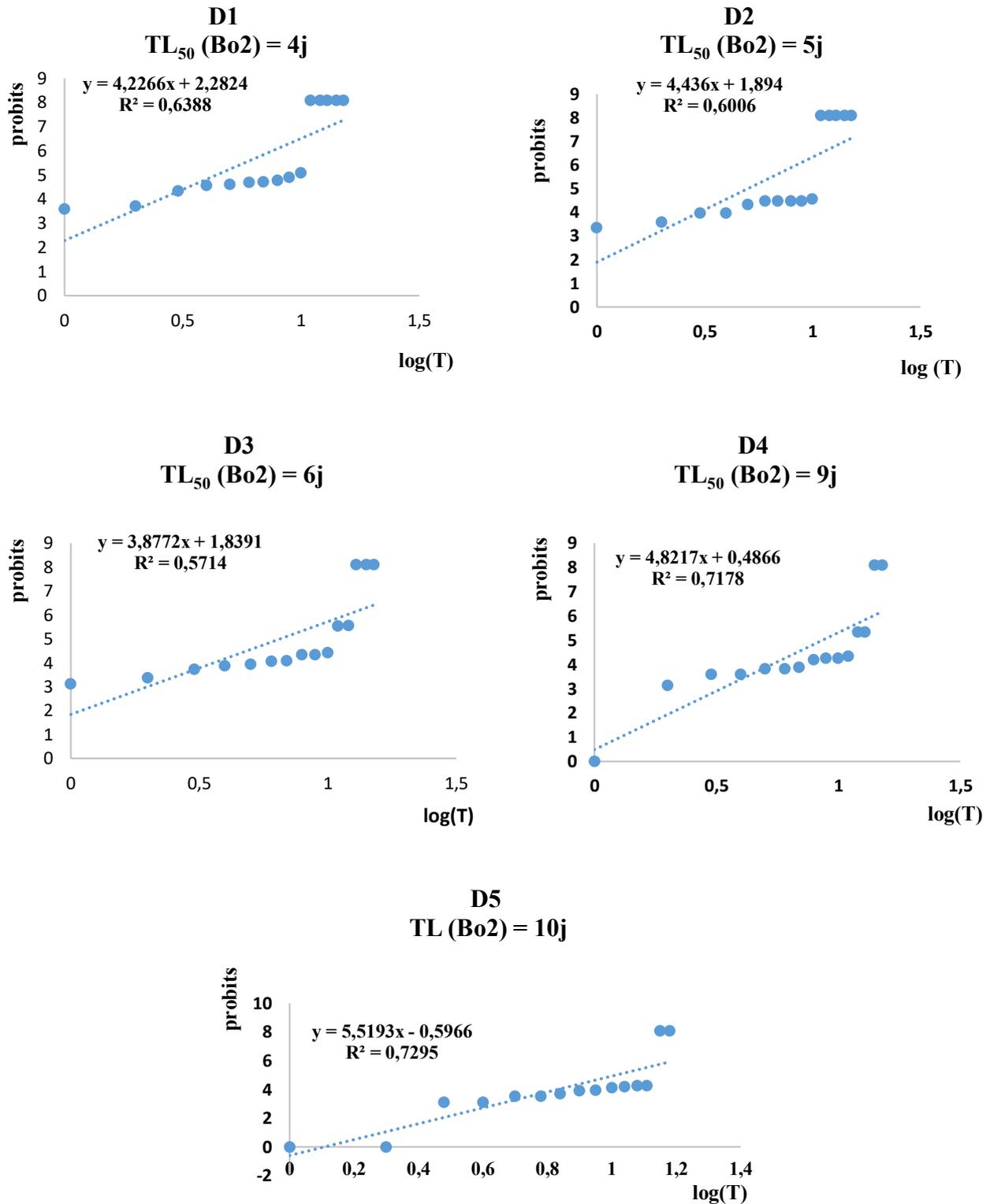
**Figure 02.** Droites de régression des larves L4 traitées par *Penicillium sp.2* (Pt1) ; *Aspergillus sp.* (Pt2) après 2j de contact.

## Annexe 05-A



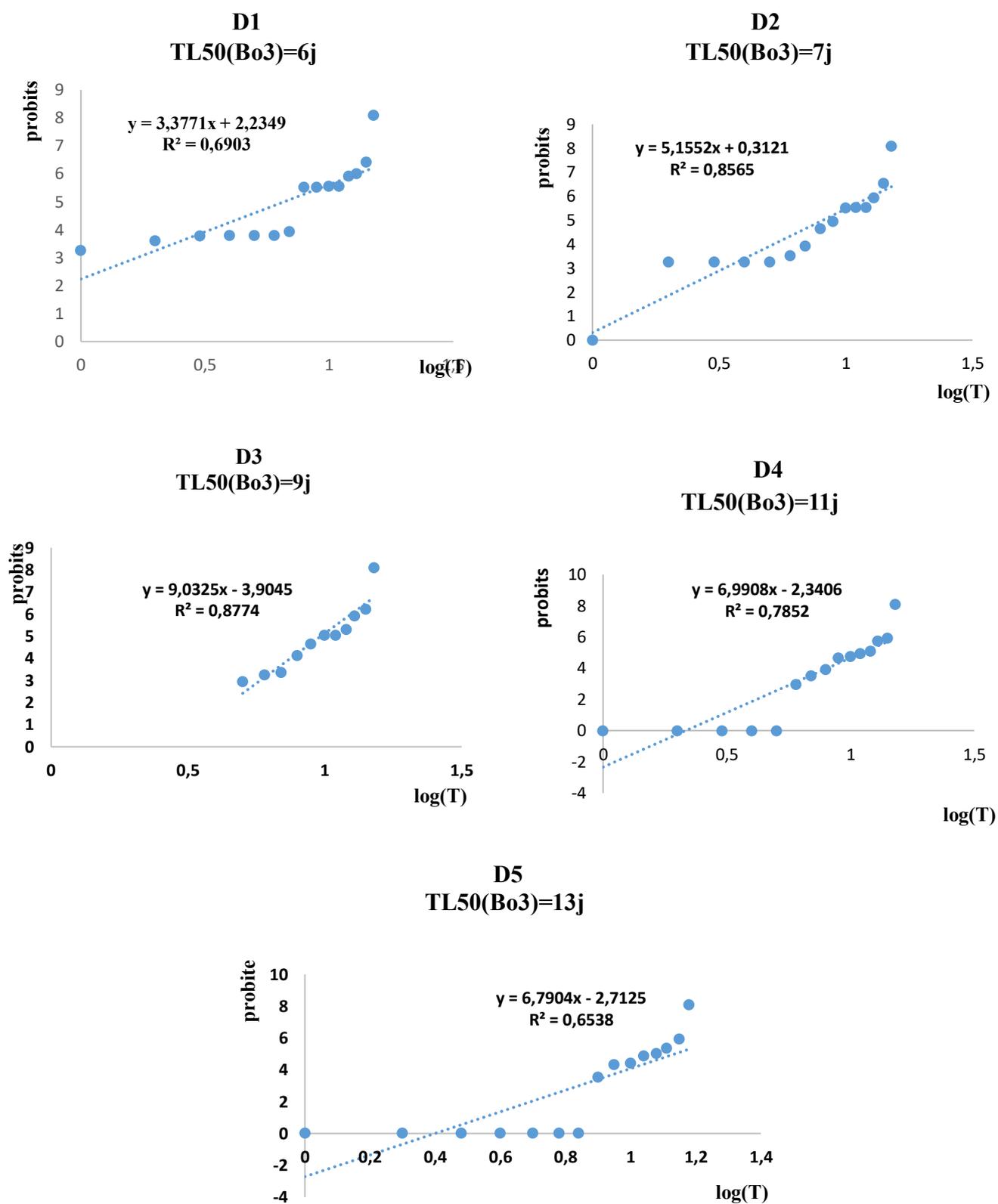
**Figure 01.** Droites de régressions des Probits en fonction du log temps des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Fusarium sp.* (Bo1) de différentes doses D1, D2, D3, D4 et D5

## Annexe 05-B



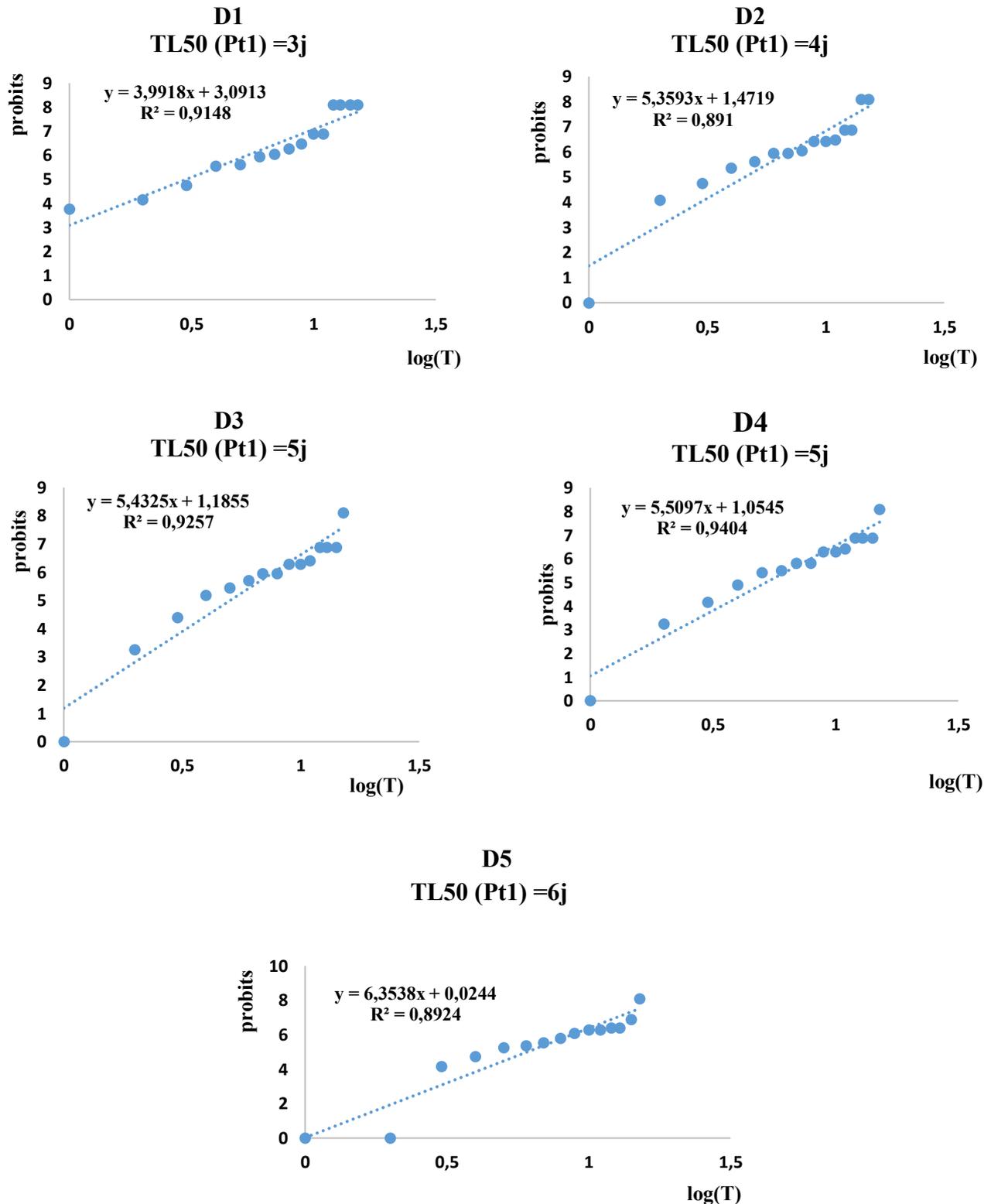
**Figure 02.** Droites de régressions des Probits en fonction du log des temps des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Cladosporium sp.* (Bo2) de différentes doses D1, D2, D3, D4 et D5.

## Annexe 05-C



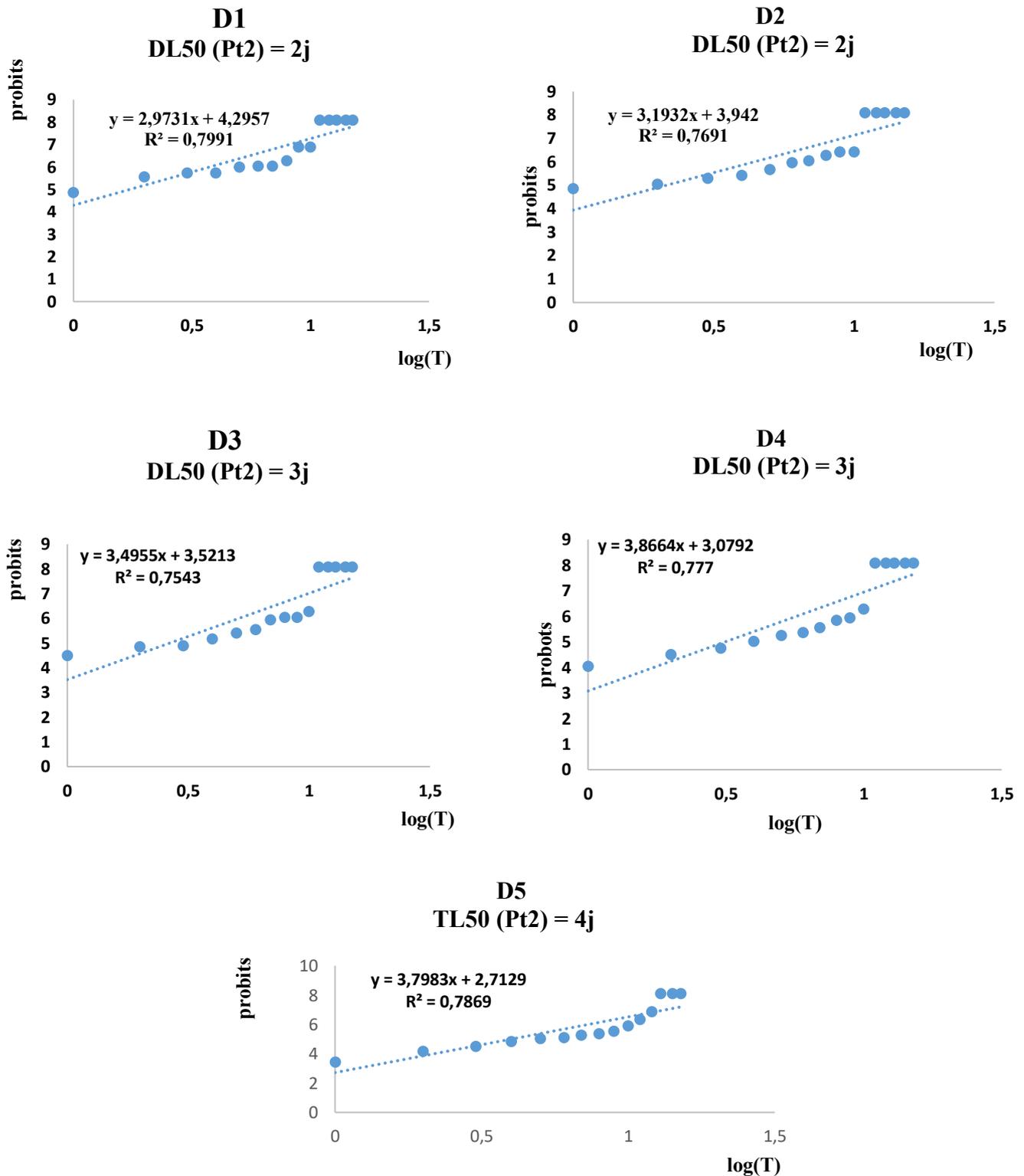
**Figure 03.** Droites de régressions des Probits en fonction du log des temps des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Penicillium sp.1*(Bo3) de différentes doses D1, D2, D3, D4 et D5.

## Annexe 05-D



**Figure 04.** Droites de régressions des Probits en fonction du log des temps des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Penicillium sp.2* (Pt1) de différentes doses D1, D2, D3, D4 et D5.

## Annexe 05-E



**Figure 05.** Droites de régressions des Probits en fonction du log des temps des larves L4 de *Cs. longiareolata* traitées par *Aspergillus* sp. (Pt2) de différentes doses D1, D2, D3, D4 et D5.

