



Réf : 2022/2023/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE M'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

MANSOURI Nadia & SALI Ahlam

Thème

**Extrait chloroformique de *Nerium oleander* et *Hyoscyamus niger*
et leur effet insecticides et fongicides (comme exemple de chimie
verte)**

Noms

Grade

Mme BEN SMAIL Souhila	MCB	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
Mme DJENADI Katia	MCB	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>
Mme DJOUAHRA Djamila	MCB	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
Mme HAMID Sonia	MCA	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-promotrice</i>

REMERCIEMENT



Remerciements

En premier lieux nous remerciant le bon Dieu, Pour la volonté et la patience qu'il nous a donnée pour réaliser ce travail.

On voudrait adresser toute nos reconnaissances à notre Promotrice Mme DJOUAHRA Djamila, merci de nous avoir fait bénéficier de votre pédagogie, votre écoute, votre ouverture d'esprit.

Nos vifs remerciements vont à Mme BEN SMAIL Souhila de nous avoir fait l'honneur de présiderce jury.

Nous remercions également Mme DJANEDI Katia d'avoir fait partie du jury et d'examiner ce présent travail.

Nos remerciements iront aussi à notre Co-promotrice Mme HAMID Sonia pour son orientation.

Nous remercions aussi tous les enseignants de la faculté SNV ST de l'université de Bouira pour tous les effortsconsacres pour nous transmettre le savoir.

À toute personne ayant participé de près ou de loin à notre formation et à tous ceux qui nous ont apporté leurs soutiens et encouragements durant la réalisation de ce travail.

Nadia



Ahlam

DEDICACES

DEDICACES

À la mémoire de mon cher oncle, que dieu l'accueille dans son vaste paradis,.

Je dédie ce travail à ma grand-mère Vakhi qui m'a toujours soutenu et pour son amour, sacrifice, soutien et patience durant toute ma vie. Trouve dans ce travail, tout le respect et l'amour que je te porte, Tu étais et tu resteras ma grande fierté ;

À mes très chers parents Rachid et Kahina que j'aime trop, sans lesquels je ne serai jamais arrivée là où j'en suis. Aucun mot, aucune dédicace ne serait exprimer mon respect, ma considération et l'amour éternel pour les sacrifices que vous avez déployés pour mon instruction et mon bien être dans les meilleures conditions ;

*À mes anges : Ania, Islam, Asser, Howa , Milina,
Zaki,*

À mes grands-pères : Massouda, Said, Mohammed

À mes chers frères: Nacer et Mohand

À mes oncles et mes tantes;

À ma chère belle-mère Djazira et son fils Zindin pour leur soutien ; que dieu les protège

À mes chères : Malak, Houda, Wassila, Ikram, Lilya , Lamia, Imen, Salma, Ilham, Sara, Nadjat, Thiziri, Nadia, Fatima , Yasmina, Basma, Taous, Romaisa.

À toute la promotion Biotechnologie microbienne (Enseignants et étudiants)

Spécial dédicace à celui qui m'a toujours aidée, soutenue et encouragée en me donnant la volonté, la ténacité et la confiance en soi, merci pour ta patience, ta compréhension et les sacrifices que tu as fait pour moi .Merci Zami Slimane.

À mon cher binôme Nadia avec qui j'ai partagé de bons moments

Ahlam

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à ma mère, pour l'amour qu'elle m'a toujours donné, son encouragement et toute l'aide qu'elle m'a apportée durant mes études. Puisse Dieu l'accorder santé, bonheur et longue vie

à mes très chères sœurs Nabila, Mounira, Dalila

A mon mari Hicham pour son aide et soutien

A mes nièces Ilina, Aya, Silina

A mes neveux : Adem, Anir

A Mes amies : Liza, Nawel, Taous, Samira, Ouassila

*A Tous mes camarades de promotion Biotechnologie Microbienne
2023 surtout mon binôme Ahlam.*

Nadia

SOMMAIRE

Liste des figures

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....01

CHAPITRE I : Description des plantes utilisées *Nerium oleander* et *Hyoscyamus niger*

1.	présentation de <i>Nerium oleander</i>	03
1.1.	Classification taxonomique de <i>Nerium oleander</i>	03
1.2.	Répartition géographique	04
1.3.	Description botanique.....	04
1.4.	Composition biochimique	05
1.5.	L'utilisation traditionnelle	05
1.6.	L'utilisation pharmacologique	06
2.	Présentation de <i>Hyoscyamus niger</i>	06
2.1.	Description botanique de <i>Hyoscyamus niger</i>	06
2.2.	Répartition géographique	07
2.3.	Composition biochimique	08
2.4.	L'utilisation traditionnelle	08
2.5.	L'utilisation pharmacologique	08

Chapitre II : Les alcaloïdes

1.	Définition des alcaloïdes	09
1.1.	Sources d'alcaloïdes	09
1.1.1.	Source végétale	09
1.1.2.	Source animale	10
1.1.3.	Micro-organismes	10
2.	Biosynthèse des alcaloïdes	10
3.	Classification des alcaloïdes	11
3.1.	Les alcaloïdes vrais	11
3.2.	Les pseudos alcaloïdes.....	12
3.3.	Les proto- alcaloïdes.....	13

4. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes	13
5. Méthodes d'études des alcaloïdes	14
6. Pharmacologie des alcaloïdes.....	14
7. Rôle des alcaloïdes dans la plante	15

Chapitre III : Les insectes et les champignons

1. Présentation du moustique <i>Culex pipiens</i>	16
1.1. Position systématique.....	16
1.2. Caractères morphologiques	17
1.2.1. Les œufs	17
1.2.2. Larve	18
1.2.3. La nymphe	19
1.2.4. Adulte (Imago).....	19
1.3. Cycle de développement de moustique.....	20
1.4. Habitat	21
1.5. Les principales nuisances causées par <i>Culex pipiens</i>	21
1.6. Moyens de lutte contre <i>Culex pipiens</i>	21
1.6.1. Lutte écologique.....	21
1.6.2. Lutte génétique	22
1.6.3. Lutte chimique	22
2. Les champignons phytopathogènes	23
2.1. Définition du genre <i>Fusarium</i>	23
2.1.1. La position taxonomique	24
2.1.2. Répartition géographique	24
2.2. Cycle de vie généralisé de <i>Fusarium</i>	24
2.3. Pouvoir pathogène	25
2.4. Identification macroscopiques et microscopiques du genre <i>Fusarium</i>	26
2.5. Moyens de lutte contre le <i>Fusarium</i>	26

Matériels et Méthodes

1. Matériel.....	28
1.1. Matériel biologique.....	28
1.1.1. Matériel végétal	28
1.1.2. Matériel entomologique.....	28

1.2. Appareils et réactifs (matériels non biologique).....	29
1.2.1. Méthodes	29
2. Préparation de l'échantillon végétal	30
3. Méthodes d'extraction des alcaloïdes.....	30
4. Screening phytochimique.....	32
4.1. Préparation de l'infusé à 5%	32
5. Analyse quantitative des extraits alcaloïdiques des deux plantes « <i>Hyoscyamus niger</i> » et « <i>Nerium oleander</i> »	33
6. Activité antifongique des extraits alcaloïdiques des plantes <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i>	34
7. Activité insecticide des extraits alcaloïdiques des plantes <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i>	35
7.1. Récolte des nymphes et des stades larvaires	35
7.2. Le tri des stades larvaires	36
7.3. Préparation de l'extrait pour l'activité insecticide	37
7.4. Mode de traitement	37
7.5. Traitement des données.....	38

Résultats et discussion

1. Résultats de screening phytochimique.....	39
2. Analyse quantitative des extraits chloroformique (alcaloïdique) des deux plantes <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i>	42
3. La toxicité des extraits alcaloïdiques des deux plantes (<i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i>) sur les stades aquatiques L2, L3, L4 et nymphe.....	43
4. Symptomatologie de mortalité de <i>Culex pipiens</i>	48
5. Activité antifongique	49
Conclusion et perspectives.....	55

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : La plante <i>Nerium oleander</i>	04
Figure 02 : La plante de <i>Hyoscyamus niger</i>	07
Figure 03 : Structures moléculaires de quelques alcaloïdes vrais	12
Figure 04 : Structures moléculaires de quelques pseudo-alcaloïdes	12
Figure 05 : Structures moléculaires de quelques proto-alcaloïdes	13
Figure 06 : les œufs de <i>Culex pipiens</i>	18
Figure 07 : Larve de <i>Cx. Pipiens</i>	18
Figure 08 : Aspect général d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i>	19
Figure09 : adulte de <i>Culex pipiens</i>	20
Figure 10 : cycle de développement du <i>Culex pipiens</i>	20
Figure11 : Cycle de vie généralisé de <i>Fusarium</i>	25
Figure 12 : Carte géographique de la wilaya de Bouira (Algérie), illustrant Ahl Al Kasr la région de collecte	28
Figure 13 : Schéma expérimentale	29
Figure14 : Protocole d'extraction des alcaloïdes	31
Figure15 : Gite larvaire utilisé dans l'étude	35
Figure 16 : le tri des stades aquatiques (L2, L3 et L4) et les nymphes.....	36
Figure 17 : Histogramme des rendements d'extraction des substances alcaloïdiques pour <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i>	42
Figure 18 : Histogramme de mortalité des larves (L2, L3 et L4) et les nymphes traitées par la solution alcaloïdiques (C1, C2 et C3) de plante <i>Hyoscyamus niger</i>	45
Figure 19 : Histogramme de mortalité des larves (L2, L3 et L4) et les nymphes traitées par la solution alcaloïdiques (C1, C2 et C3) de plante <i>Nerium oleander</i>	46

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

Tableau I : Classification de <i>Nerium oleander</i>	03
Tableau II : Classification de <i>Hyoscyamus niger</i>	07
Tableau III : position systématique de moustique culex pipiens	17
Tableau IV : Classification de <i>Fusarium</i>	24
Tableau V : les différentes méthodes du Screening phyto-chimique effectuées	32
Tableau VI : Le nombre et la taille de différent stade de <i>Culex pipiens</i>	36
Tableau VII : Les résultats de screening phyto-chimique de <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Neriumoleander</i>	39
Tableau VIII : les mortalités enregistré des larves et nymphes traité par <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i>	44
Tableau IX : Effet des deux extraits alcaloïdiques des deux plantes <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i> sur les stades aquatiques du <i>Culex pipiens</i>	48
Tableau X : Présentant les résultats obtenus après l'application de différentes concentrations des extraits des plantes (culture de 14 jours sur milieu OGA à 30°C)	50
Tableau XI : Effet d'extrait de <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i> sur le champignon <i>Fusarium graminearum</i>	53
Tableau XII : Effet d'extrait de <i>Hyoscyamus niger</i> et <i>Nerium oleander</i> sur le champignon <i>Fusarium culmorum</i>	53

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

CL : concentration létale

FeCl₃ : Le chlorure ferrique

HCl : Acide chlorhydrique

H₂SO₄ : L'acide sulfurique

L2 : Larve stade 2

L3 : Larve stade 3

L4 : Larve stade 4

OGA : Gélose à l'oxytétracycline

pH : Potentiel hydrogène

INTRODUCTION

Les moustiques, sont des arthropodes, qui ont toujours été considérés comme une source de nuisance liée à leur hémato-phagie .Ils jouent un rôle fréquent en tant que vecteurs de diverses maladies pour les humains et les animaux. Les espèces les plus dangereuses peuvent être regroupées dans les trois genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex*. Cependant, les méthodes utilisées pour lutter contre ces insectes nuisibles et ont souvent entraîné des conséquences néfastes sur l'environnement, la santé humaine et animale en raison de leur composition chimique (**Benhissen et al ., 2017**).

En parallèle, les champignons sont largement répandus dans l'environnement, ils colonisent tous les continents et écosystèmes terrestres et aquatiques. Au cours de leur évolution, ils peuvent développer des interactions avec les bactéries, les plantes et les animaux, agissant ainsi en tant que dépendants, partenaires ou parasites (Després ., 2018). (**Després ., 2018**).

Pour lutter contre ces organismes et ces insectes nuisibles, divers produits chimiques sont utilisés mais malheureusement, ils peuvent souvent entraîner des conséquences néfastes sur l'environnement et sur la santé humaine et animale (**Benhissen et al ., 2017**).

Le Tebuconazole, le Ziram, le Pendiméthaline, le Cyperméthrine et le N,N-diéthyl-3-méthylbenzamide (DEET) sont généralement utilisés pour lutter contre les champignons . Cependant, ils entraînent de nombreux problèmes tels que l'infertilité, les cancers et les intoxications aiguës. Elles affectent également l'environnement en provoquant des déséquilibres dans les écosystèmes, des risques d'incendie, d'explosion et de pollution (**Amiard., 2011**).

Il est à signaler aussi que l'utilisation excessive d'insecticides et de fongicides de synthèse entraînent des résistances des insectes et des champignons à ces produits chimiques, afin de résoudre ces problèmes les scientifiques ont exploré des alternatives telles que les plantes pesticides et fongicides qui offrent des approches durables et écologiques pour lutter contre les nuisibles, tout en réduisant les effets néfastes sur les écosystèmes et la santé globale. Il est toutefois important de noter que certains extraits de plantes, tels que la nicotine, ont marqué leur effets toxiques à certaines doses sur certains organismes vivants (**Yarou et al ., 2017 ; Behrayan et al ., 2017**).

Plusieurs plantes comme *Anthyllis vulneraria*, *Nerium albus*, le Ficus, datura, le croton, sont alors utilisées comme une alternative à l'utilisation des produits chimiques, cette voie (appelé la chimie verte) a pour but de «concevoir des produits et des procédés chimiques permettant de réduire ou d'éliminer l'utilisation et la synthèse de substances dangereuses ». Elle s'applique aussi bien à la préparation de nouveaux produits ou procédés plus écologiques qu'à la recherche de solutions alternes ou encore à l'amélioration d'approches déjà existantes

(Hamiche A ; Aït yahia S, 2013)

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui vise la valorisation de deux plantes ; *Nerium oleander* et *Hyuscyamus niger* récoltées dans la région d'Ahl Al Kasr (Bouira). Notre étude s'est accentuée sur l'extraction des alcaloïdes à partir des feuilles sèches de ces deux plantes ensuite l'évaluation in vitro et in vivo de leur effet fongicide vis-à-vis des souches fongiques phytopathogènes du genre, *Fusarium* et de leur effet insecticide sur les larves de moustique *Culex pipiens*

Pour cela on a réparti notre travail en deux parties :

- Une recherche bibliographique sur les deux plantes *Hyuscyamus niger et Nerium oleander*, les alcaloïdes et le moustique *Culex pipiens* et les champignons du genre *Fusarium*.
- Une deuxième partie réservée aux travaux expérimentaux pour la description du matériel et méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale et quelques perspectives.

CHAPITRE I:

Nerium oleander ET Hyoscyamus niger

CHAPITRE I : Nerium oleander et Hyoscyamus niger

Durant ce chapitre nous allons parler de deux plantes réputés comme toxique, la première c'est *Nerium oleander* de la famille des Apocynaceae et la deuxième c'est *Hyoscyamus niger* de la famille de Solanaceae et selon **Gupta.,2018**, une plante nocive est peut être dangereuse ou mortelle pour une entité organique ou toute plante capable d'évoquer une réponse toxique ou potentiellement mortelle.

1. présentation de *Nerium oleander*

Elle appartient à la famille des *Apocynaceae* comprenant 180 genres et 1 700 espèces se rencontrent principalement dans les régions tropicales et tempérées. (**de Aquino et al., 2013**). Certains genres sont connus pour leurs propriétés médicinales. (**Autrey.,2005**).

La plante *Nerium oleander* a différentes dénominations communes selon les Régions et les pays considérés : son nom arabe El-defla, nom kabyle Iili, nom français laurier rose, nom anglais rose-bay, nom espagnol laurel rosa nom italien oleandro nom allemand rosenlorbeer. (**François, & Eva., 2013**).

1.1. Classification taxonomique de *Nerium oleander*

Nerium oleander est la seule espèce actuellement classée dans le genre *Nerium* (**Al-Obaidi., 2014**). Selon **Kiran & Prasad., (2014)**, sa classification est résumée dans le tableau 01. El-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018).

Tableau 01 : Classification de *Nerium oleander*. (Kiran & Prasad., 2014).

Règne	Végétale
Règne	Plantae
Division	Magnophytes
Classe	Subphyllum-Angiospermes
Sous-classe	Astéridés
Ordre	Gentianales
Famille	<i>Apocyanaceae</i>
Genre	<i>Nerium</i>
Espèce	<i>Oleander</i>

1.2. Répartition géographique

Le *Nerium oleander* se développe notamment dans les pays du pourtour du bassin méditerranéen et en Asie subtropicale. Il serait originaire du Proche-Orient. (Garima& Amlal., 2010).

En Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocaillieux. Il pousse le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (Kadri et Yahia ., 2015)

1.3. Description botanique

Nerium oleander est un arbuste à feuilles persistante qui peut arriver de 4 à 5 mètres de hauteur (Chaudhari et Singh., 2023). Sa tige est dressée, inflexible, à écorce grisâtre. Ses feuilles sont en paires ou verticilles de trois, épaisses et coriaces, vert foncé, longuement lancéolées étroites, 5–21 cm de long et 1–3,5 cm de large, et avec une marge entière. Ses fleurs poussent en grappes à l'extrémité de chaque branche rose éclatant (rarement blanches), de 2,5 à 5 cm de diamètre Ils sont souvent, mais pas toujours, parfum, avec une corolle en cylindre rond et creux et 5 lobes autour du tube central de la corolle. (Kiran & Prasad., 2014 ; Yogeshwari et al ., 2022) .Son fruit est une longue capsule étroite, qui s'ouvre à maturité pour libérer de nombreuses graines duveteuses. (Khare., 2008). Sa floraison est depuis le mois du juin à septembre François.(Couplan., 2015).



Figure 01 : La plante *Nerium oleander* (Originale, 2023)

1.4. Composition biochimique

La nocivité de *Nerium oleander* est due aux glycosides stéroïdes ajoutés aux cardénolides cardiotoniques, présents dans toutes les parties de la plante à des taux compris entre 1,5 et 2 %.(**Hammiche et al ., 2013**).Les principes actifs à activité cardiotonique présents chez *Nerium oleander* sont l'oléandrine (ou folinérine), la nérine et la digitoxigénine, Les feuilles renferment environ 1,5% de cardénolides, dont 0.02% à 0.43% d'oléandrine. Ces concentrations varient selon des considérations génétiques et environnementales. (**Bruneton., 1999. Moulisma et al ., 2000**) Beaucoup de constituants toxiques ont déjà été isolés du laurier rose avec un domaine d'activité très large (insecticide, antimittotique, propriétés cardiotoniques). (**Moulisma et al ., 2000**).

Toute la plante est dangereuse, ni l'ébullition ni la dessiccation des feuilles ne permettent d'inactiver les toxines constituées essentiellement d'hétérosides cardénolides. Les mécanismes responsables de la toxicité sont à superposer à ceux des hétérosides digitaliques classiques agissant principalement sur l'inhibition de l'Atp ase Na-K membranaire et par l'élévation du calcium intracellulaire (**Bruneton., 1999**).

1.5. L'utilisation traditionnelle

Le laurier-rose L est utilisée comme traitement de : malpropreté, fièvre de la jungle, maladies vénériennes, morsures de serpent, la lutte contre les insectes en est les principaux signes.

La décoction de feuilles est connue depuis un certain temps pour traiter le diabète, les irritants ; il est également utilisé comme packs pour toutes les dermatoses, affections cutanées, calvitie et douleurs cérébrales.

Une grande partie de ces usages, relevés en Algérie, se retrouvent en Tunisie et au Maroc où le laurier-rose est également utilisé comme traitement d'appoint des rhumatismes et des tourments articulaires, comme points de feu. . (**Hammiche et al., 2013**)

1.6. L'utilisation pharmacologique

Quelques arrangements (poudre, extrait) ainsi que l'oléandrine sont apparus dans des pharmacopées spécifiques mais sont aujourd'hui désertés ; nonobstant, les fins coutumières demeurent.

Quelques recherches ont montré un mouvement antibactérien des feuilles séparées contre *Pseudomonas*. Les extraits de feuilles, de racines et de tiges ont affiché un mouvement cytotoxique marqué contre les cellules leucémiques HL60 et K562 à des fixations aussi faibles que 50 µg/ml. Les extraits de feuilles et de racines sont plus dynamiques que les extraits de tiges. L'action anticancéreuse semble, le plus souvent, liée à certains monoglycosides cardénolides dihydroxylés. (Hammiche *et al.*, 2013).

2. Présentation de *Hyoscyamus niger*

Hyoscyamus Niger appartient à la famille de Solanaceae qui compte 90 genres et plus de 2000 espèces.(Egamberdieva.,Tiezzi., 2019). Cette importante famille de plantes est principalement tropicale et subtropicale, contient plusieurs plantes toxiques, dont beaucoup sont mortelles en petites quantités, notamment le tabac, la belladone, le datura, la jusquiame et la mandragore. Elles sont dangereuses car elles contiennent des alcaloïdes très nocifs. (hyoscyamine, atropine, scopolamine, nicotine).

Ils sont entourés de légumes bien connus comme la tomate, la pomme de terre, l'aubergine, le poivron et l'assaisonnement le plus populaire d'entre eux, le piment. Presque toutes les plantes appartient à la famille des Solanacées contiennent des alcaloïdes , du moins dans leurs parties vertes, même si les parties que nous ingérons sont essentiellement inoffensives pour l'homme. (Feuilles, tiges, pousses, fruits avant maturité). La solanine, qui peut entraîner des problèmes gastro-intestinaux, neurologiques et cardiovasculaires, est probablement la plus répandue (Couplan., 2015).

2.1. Description botanique de *Hyoscyamus niger*

Hyoscyamus niger est une plante annuelle ou biennale qui appartient à la famille de Solanaceae à une hauteur de 30–80 cm. Sa tige est unique, dressée et très feuillée. Ses Feuilles sont allongées, triangulaires, verts sombres grisâtres et douces au toucher. Ses fleurs sont grandes jaunâtres veinées de brun violet, à gorge d'un pourpre noire. Son fruit appelé pyxide.

CHAPITRE I : Nerium oleander et Hyoscyamus niger

Sa période de floraison est comprise entre le mois de mai à septembre. Elle possède plusieurs dénominations en arabe : Sikrane ; en français : jusquiame, jusquiame noire ; en anglais : Black henbane ; en allemand Bilsenkraut ; en italien : guisquiamo ; en kabyle : Bounarjoug (**Iserin., 2001**).

Tableau 02 : Classification de *Hyoscyamus niger* (**Alizadeh et al.,2014**).

Règne	Végétale
Ordre	Angiospermes
Sous ordre	Solanales
Famille	<i>Solanacées</i>
Genre	<i>Hyoscyamus</i>
Espèce	<i>Hyoscyamus niger</i>



Figure 02 : La plante de *Hyoscyamus niger*

2.2. Répartition géographique

Hyoscyamus niger est d'origine d'Asie mineure et d'Europe du Sud, elle pousse aujourd'hui en Europe centrale et occidentale, ainsi que dans les deux Amériques. Elle privilégie les sols sablonneux et elle pousse dans les décombres. Bien qu'elle soit assez rare en Algérie, on la trouve surtout dans les hautes terres (**Iserin., 2001**).

2.3. Composition biochimique

Hyoscyamus niger contient de 0,045 à 0,14% d'alcaloïdes à noyau tropane, en particulier l'hyoscyamine et la scopolamine. Ces constituants sont communs aux autres membres de la famille des Solanacées, mais le taux relativement élevé de hyoscyamine dans la composition de la Jusquiame produit un effet sédatif supérieur à ses parentes, le datura (*Datura stramonium*) et la belladone (*Atropa belladonna*) (Iserin., 2001).

2.4. L'utilisation traditionnelle

Les feuilles ou les graines peuvent être infusées ou macérées pour traiter des affections telles que les hémorroïdes, les mycoses, les pédiculoses, les douleurs dorsales et les crampes musculaires. L'application directe des feuilles est recommandée pour les plaies récentes et les problèmes oculaires. En outre, la poudre de graines peut être mélangée au beurre et incorporée à de la mie de pain pour fabriquer de grosses "pilules". Dans le contexte du Sahara central, ces méthodes sont conseillées pour traiter des problèmes tels que la toux, l'asthme, les troubles urinaires, les palpitations, les spasmes divers et l'anxiété. Ces utilisations traditionnelles de la plante peuvent offrir des options de traitement naturel dans ces conditions spécifiques (Hammiche *et al.*, 2013).

2.5. L'utilisation pharmacologique

Hyoscyamus niger est un parasympatholytique léger qui a également des qualités sédatives. Bien que la jusquiame noire soit rarement utilisée aujourd'hui, sa feuille, son extrait et sa teinture sont répertoriés dans la pharmacopée française comme antispasmodiques, antiasthmatiques, analgésiques locaux, antiparkinsoniens et antinévralgiques qui étaient utilisés jusqu'au début des années 1990 (khare. 2008).

CHAPITRE II :
LES ALCALOIDES

Les métabolites secondaires sont des petites substances organiques produites par les plantes qui les rendent compétitives dans leur propre environnement. Ces petites molécules exercent un large éventail d'effets sur la plante elle-même et sur d'autres organismes vivants. Ils induisent la floraison, la nouaison et l'abscission, maintiennent une croissance pérenne ou signalent un comportement caducifolié. Ils agissent comme antimicrobiens et jouent le rôle d'attractants ou, à l'inverse, de répulsifs. Plus de 50 000 métabolites secondaires ont été découverts dans le règne végétal. Les herbes médicinales et de nombreux médicaments modernes dépendent des métabolites secondaires des plantes pour leurs actions (**Teoh., 2015**).

En fonction de la structure des composés, les métabolites secondaires sont classés en cinq grandes classes : terpénoïdes, phénols, alcaloïdes, polycétides et les glucides (**Singh., 2022**).

1. Définition des alcaloïdes

Les alcaloïdes représentent l'une des plus grandes classes de métabolites secondaires, caractérisés par la présence d'au moins un atome d'azote, et sont connus pour leur activité biologique. Ils sont largement répandus dans le règne végétal. D'un point de vue biosynthétique, ces composés dérivent généralement de quelques acides aminés communs, tels que la lysine, le tryptophane et la tyrosine. La quantité d'alcaloïdes identifiés chez les plantes dépasse les 12 000, et ils se retrouvent principalement dans les tissus végétaux sous forme de sels hydrosolubles d'acides organiques, tels que l'acide acétique, citrique, lactique, oxalique, malique et tartrique. Ils peuvent également se présenter sous forme d'esters et de glycosides de sucre, tels que le glucose, le galactose et le rhamnose. De plus, ils peuvent se combiner avec des tanins (**Sharma A.K et Sharma A., 2022 ; Donatien., 2009**).

1.1. Sources d'alcaloïdes

1.1.1. Source végétale

Les alcaloïdes sont des composés essentiellement présents chez les angiospermes. Certaines familles ont une tendance marquée à élaborer des alcaloïdes, c'est vrai aussi bien chez les monocotylédones (ex : *Amaryllidaceae*, *Colchicaceae*) que chez les dicotylédones (ex : *Annonaceae*, *Lauraceae*, *Loganiaceae*, *Solanaceae*, etc.) (**Jean., 2009**). Certains alcaloïdes sont trouvés chez les champignons (moisissures) (ex : *spordiesmines*, *roquefortine*, *psilocine* etc) (**Bruneton., 1999**).

1.1.2. Source animale

Les scientifiques ont découvert que certains animaux contiennent des structures riches en alcaloïdes. Dans certains cas, ce sont des produits formés à partir des alcaloïdes contenus dans les végétaux inclus dans la ration alimentaire de l'animal : c'est le cas de la castoramine issue de la métabolisation des alcaloïdes des nénuphars que consomme le castor. Dans d'autres cas, les alcaloïdes issus du métabolisme propre des animaux : c'est en particulier le cas chez des amphibiens urodèles (*Salamandres*), ou arthropodes qui sécrètent les alcaloïdes à faible quantité dans leurs glandes exocrines. Ces alcaloïdes sont à bas poids moléculaire (*pyrrolidines, les pipéridines, les pyrroles, indolizidines, pyrazines*), ils sont suffisamment volatils pour former des signaux chimiques, les éléments de défense (*allomones*) et de communication (*phéromones*) (Jean., 2009).

1.1.3. Micro-organismes

Il existe de nombreux alcaloïdes qui proviennent de micro-organismes, tel que la mitomycine qui est principalement utilisée comme antibiotique ; la maytansine produit par *Nocardia sp.* Utilisée comme anticancéreux et la *Rifamycine Sp* est un agent antituberculeux (Funayama et Cordell., 2014).

2. Biosynthèse des alcaloïdes

Le réticulum endoplasmique est l'endroit où les alcaloïdes sont biosynthétisés, et la majorité de ces alcaloïdes doivent être compartimentés en vacuoles cellulaires en raison de leur basicité et de leurs propriétés antimétabolites (Bruneton., 1999 ; Raven., 2000).

En raison de la grande partie de l'utilisation de composants identifiables et de certains processus de dégradation, les voies de base de la production des alcaloïdes sont connues. Cependant, certains mécanismes biogénétiques et certaines réactions intermédiaires restent toutefois hypothétiques. Les éléments constitutifs de la production de nombreux alcaloïdes comprennent le tryptophane, la phénylalanine, la tyrosine et les acides aminés diamines

ornithine et lysine. La décarboxylation des acides aminés par certaines décarboxylases est toujours la première étape (**Bruneton., 1999**).

La biosynthèse de l'alcaloïde peut nécessiter l'intervention d'une seule molécule d'acide aminé (hygrine, cathine), de deux molécules du même acide aminé (quinolizidines, benzyloisoquinoléines), plus rarement de deux acides aminés différents (tubulosine) ou de plusieurs molécules du même (spartéine). La tyrosine et la phénylalanine, composés à l'origine du noyau aromatique sont les précurseurs de l'important groupe des alcaloïdes isoquinoléiques (**Richter., 1993 ; Bruneton., 1999**).

3. Classification des alcaloïdes

Le nombre de composés d'alcaloïdes connus et leur diversité structurale ont fait de leur classification une tâche difficile à établir et pour cela leur classification est basée sur plusieurs critères : l'origine biologique, l'activité écologique la voie biosynthétique, et la structure chimique. Ils sont classés en trois grands types : les alcaloïdes vrais, les pseudo- alcaloïdes et les proto-alcaloïdes (**Willstätter et al., 2023**).

3.1. Les alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais sont présents dans un nombre limité d'espèces et de familles de plantes à l'état libre, sous forme de sels et de N-oxydes, et sont produits à la suite de la condensation d'acides aminés décarboxylés avec un groupe structurel non azoté. Ce sont des substances cristallines hautement réactives, généralement des solides blancs .ce sont des composés qui possèdent une activité biologique significative même à faibles doses.

Certain des alcaloïdes véritables les plus célèbres sont la cocaïne, la quinine, la dopamine et la morphine (figure02) (**Sharma A.K et Sharma A., 2022**).

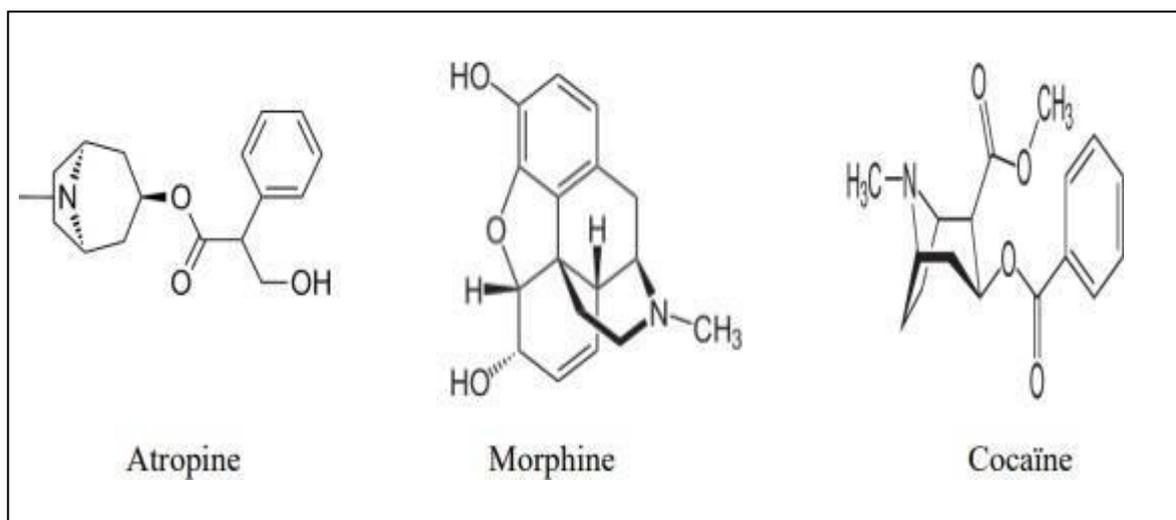


Figure 03 : Structures moléculaires de quelques alcaloïdes vrais. (Bruneton ., 2009).

3.2. Les pseudos alcaloïdes

Les pseudoscalcoïdes sont les composés du squelette de carbone élémentaire qui sont dérivés des précurseurs ou post curseurs des acides aminés ainsi que des précurseurs non aminés. De bons exemples de ce type d'alcoïdes sont la coniine, la capsaïcine, l'éphédrine, la solanidine, la caféïne, la théobromine et la pinidine (figure 03) (Sharma A.K et sharma A ., 2022).

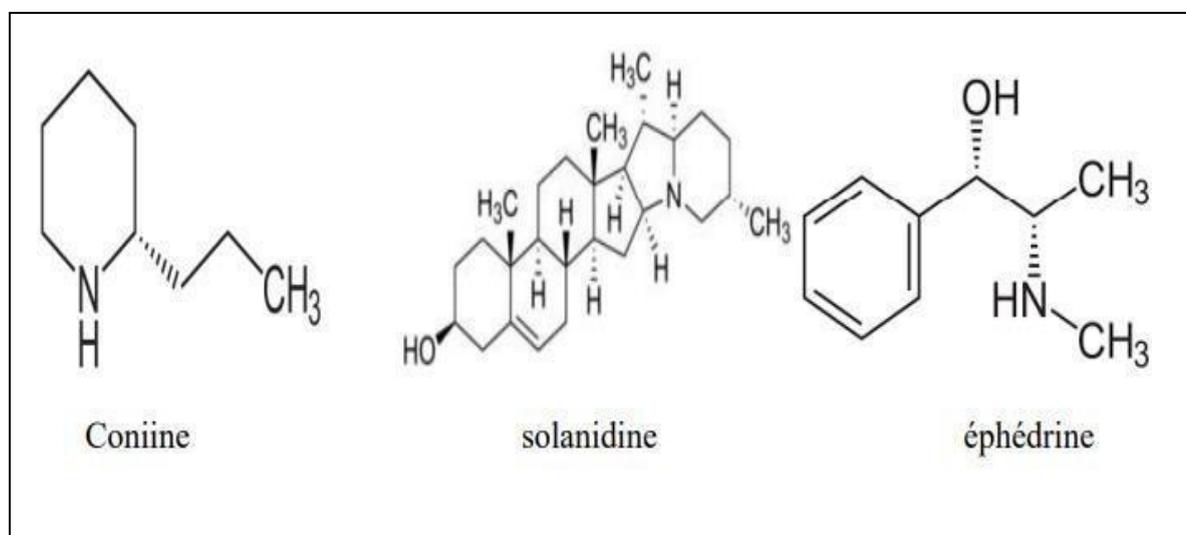


Figure 04 : Structures moléculaires de quelques pseudo-alcoïdes (Bruneton .,2009).

3.3. Les proto- alcaloïdes

Les proto-alcaloïdes (figure 04) sont des amines simples, dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. il ont une réaction basique et sont élaborées *in vivo* à partir d'acides aminés. Diveres substances répondent à cette définition : des amines simples comme la sérotonine, la mescaline du peyotl ou la cathinone du thé des Abyssins mais aussi les bétaine (Sharma A.k et sharma A ., 2022).

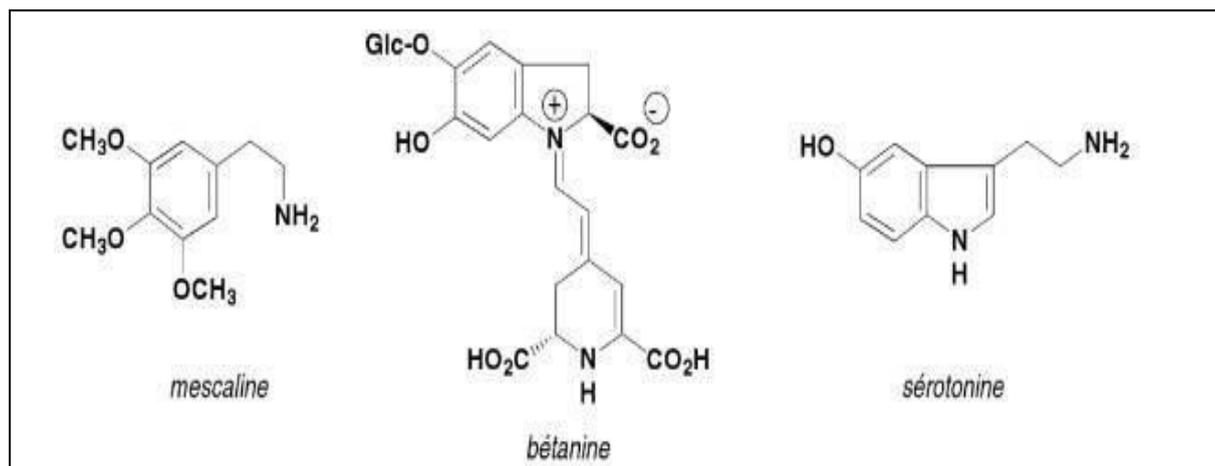


Figure 05 : Structures moléculaires de quelques proto-alcaloïdes. (Bruneton ., 2009).

4. Propriétés physico-chimiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés solides incolores, cristallins et non volatils. Leur solubilité dans l'eau est généralement faible, mais ils se dissolvent facilement dans des solvants organiques tels que l'éthanol, l'éther et le chloroforme. Certains alcaloïdes dépourvus d'atomes d'oxygène dans leur structure sont liquides à température ambiante, comme la nicotine, la spartéine et la coniine. En revanche, ceux qui contiennent des atomes d'oxygène présentent une structure cristalline, comme la berbérine qui possède une couleur jaune caractéristique. La plupart des alcaloïdes sont optiquement actifs et ont une configuration lévogyre (gauche), sauf les alcaloïdes du groupe des purines. La basicité des alcaloïdes dépend de la présence de paires d'électrons isolées sur l'atome d'azote, ainsi que du type d'hétérocycle et des substituants présents dans la molécule. Les alcaloïdes ont la capacité de former des sels avec des acides minéraux tels que l'acide chlorhydrique (HCl), l'acide sulfurique (H₂SO₄) et l'acide nitrique (HNO₃), ainsi qu'avec des acides organiques tels que les tartrates, les sulfamates et les maléates.. (Vollhardt et Schore., 2011).

5. Méthodes d'études des alcaloïdes

a) Extraction

L'extraction des alcaloïdes repose sur leur solubilité dans l'eau et les solvants organiques. Les méthodes courantes d'extraction comprennent l'extraction par Soxhlet, l'extraction par solvant à température ambiante, l'extraction par ultrasons, la macération, et d'autres méthodes (Djilani *et al.*, 2006).

b) Purification et caractérisation

Les alcaloïdes se trouvent généralement sous forme de mélanges. Les méthodes de séparation couramment utilisées reposent sur des principes tels que la différence de solubilité de la substance à séparer, qui peut être exploitée en utilisant des variations de température pour recristalliser ou en utilisant différents solvants pour réaliser une précipitation séquentielle. D'autres méthodes incluent l'utilisation de solvants à deux phases pour l'extraction liquide-liquide et la distribution à contre-courant liquide-liquide, ainsi que des techniques d'adsorption telles que l'extraction traditionnelle au charbon actif ou en phase solide. De plus, la taille moléculaire de la substance et sa capacité de dissociation peuvent également influencer les méthodes de purification utilisées. (Yubin *et al.*, 2014).

6. Pharmacologie des alcaloïdes

Les alcaloïdes présentent fréquemment des propriétés pharmacologiques marquées, beaucoup sont responsables de la toxicité des drogues qui les renferment. Les alcaloïdes ont de nombreuses utilisations en milieu thérapeutique comme des antitumoraux, des antiparasitaires, des curarisants, des anesthésiques locaux, etc. peuvent avoir des effets toxiques, inhibiteurs ou répulsifs sur les animaux et les microbes. Selon la nature des alcaloïdes concernés, l'effet toxique peut être grave chez l'homme ou chez l'animal. Les symptômes d'intoxication sont les mêmes que celles d'une surdose : rougeur de la face, soif intense, tachycardie, mydriase et état nauséeux avec fatigue. Il peut même y avoir coma et arrêt respiratoire (Chebili, 2012).

CHAPITRE II : LES ALCALOIDES

CHAPITRE II : LES ALCALOÏDES

des antitumoraux, des antiparasitaires, des curarisants, des anesthésiques locaux, etc. peuvent avoir des effets toxiques, inhibiteurs ou répulsifs sur les animaux et les microbes. Selon la nature des alcaloïdes concernés, l'effet toxique peut être grave chez l'homme ou chez l'animal. Les symptômes d'intoxication sont les mêmes que celles d'une surdose : rougeur de la face, soif intense, tachycardie, mydriase et état nauséeux avec fatigue. Il peut même y avoir coma et arrêt respiratoire (Chebili, 2012).

7. Rôle des alcaloïdes dans la plante

Les plantes contiennent des alcaloïdes dont la fonction n'est pas encore entièrement comprise et leur rôle dans le métabolisme des plantes demeure peu défini. On a suggéré qu'ils pourraient simplement être des produits résiduels des processus métaboliques, mais des preuves suggèrent qu'ils peuvent remplir des fonctions biologiques spécifiques. Chez certaines plantes, la concentration d'alcaloïdes augmente juste avant la formation des graines, puis diminue lorsque la graine est mûre, ce qui suggère un possible rôle des alcaloïdes dans ce processus. De plus, les alcaloïdes peuvent protéger certaines plantes contre les dommages causés par certains insectes (Willstätter *et al.*, 2023).

En outre, les alcaloïdes jouent un rôle protecteur pour les plantes exposées aux dommages causés par les rayons ultraviolets (UV) du soleil. Ils peuvent également servir de réserves de substances qui fournissent de l'azote ou d'autres fragments nécessaires au développement des plantes. (Dewick *et al.*, 2001; Bhat *et al.*, 2005).

CHAPITRE III :
LES INSECTES ET LES
CHAMPIGNONS

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

1. Présentation du moustique *Culex pipiens*

Les moustiques, appartenant à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères, sont des Insectes Ptérygotes holométaboles. Ils se caractérisent par leurs longues antennes composées de plus de six articles et leur corps mince. Leur apparence est marquée par de longues et fines pattes. La capacité d'hématophagie, c'est-à-dire se nourrir de sang, est présente uniquement chez les femelles. Les moustiques de la famille des Culicidae, dont fait partie *Culex*, sont reconnaissables par leurs ailes écailleuses. Les adultes de cette famille possèdent une trompe de la même taille que la tête et le thorax réunis (Kettle.,1995).

Culex pipiens est une espèce de moustique faisant partie de la variété commune des moustiques européens (*Culex*). Il est également connu sous d'autres noms tels que maringouin, ou moustique domestique.

Comme pour d'autres espèces de moustiques, seules les femelles piquent pour pondre leurs œufs. Ainsi, la consommation de sang est nécessaire à la reproduction de cette espèce. Pour lutter contre ce moustique, des insecticides sont utilisés ou bien on procède à la réintroduction de prédateurs naturels. (Pierrick., 2014

1.1 .Position systématique

La position systématique de moustiques *Cx pipiens* a été proposée par Linné, (1758) est présentée dans le tableau suivant :

Tableau03 : position systématique de moustique *culex pipiens*

<i>Règne</i>	<i>Animalia</i>
Embranchement	Arthropoda
Sous Embranchement	Antennata
Classe	Insecta
Sous Classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous Ordre	Nematocera
Famille	<i>Culicidae</i>
Sous Famille	Culicinae
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Pipiens</i>

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

1.2. Caractères morphologiques

Les individus de la famille des Culicidés se distinguent par leurs longues antennes fines composées de plusieurs articles. Les femelles de cette famille sont dotées de longues pièces buccales en forme de trompe rigide, caractéristiques des moustiques piqueurs-suceurs. (Carnvale et Robert., 2009).

1.2.1 Les œufs

Elles mesurent environ 1 mm de long et ont une forme fusiforme. Au moment de la ponte, ils sont de couleur blanchâtre, mais deviennent plus sombres par la suite (**figure06**). À l'extrémité inférieure de l'œuf se trouve une structure en forme de corolle. Ces œufs sont déposés dans l'eau, regroupés en groupes de 200 à 400 individus, et placés dans un panier spécialement conçu pour les rendre insubmersibles (ANONYME., 1983).



Figure 06: les œufs de *Culex pipiens* (Berchi 2000)

1.2.1 Larve

La larve de *Culex pipiens* se développe sans distinction dans des eaux pures ou contaminées. Son corps est composé de trois parties : la tête, un thorax trapu dépourvu d'appendices locomoteurs, et un abdomen souple. Elle a une apparence vermiforme. Sa taille varie de 2 mm à 12 mm en moyenne, en fonction de ses stades de développement (**figure07**). Bien qu'elle ne possède pas d'appareil locomoteur, cela ne l'empêche pas de se déplacer. À son extrémité caudale, elle possède un siphon long et étroit. Ce tube est équipé de cinq valves qui s'ouvrent sur deux orifices, permettant à l'air d'entrer lorsque la larve remonte à la surface de l'eau et de se replier lorsqu'elle descend vers les profondeurs. Les pièces buccales de la larve sont broyeuses et adaptées à un régime saprophyte, c'est-à-dire à la consommation de particules organiques en décomposition. (Kettle., 1995 et Andreo., 2003)



Figure 07 : Larve de *Cx. pipiens* (Brunhes et al., 1999)

1.2.2 La nymphe

C'est une pupe mobile (**figure08**) qui a une forme généralement de virgule ou de point d'interrogation qui vit dans l'eau, mais ne se nourrit pas. Elle est constituée d'un céphalothorax globuleux sur lequel sont attachées des trompettes respiratoires pour obtenir de l'oxygène. La cuticule du céphalothorax est transparente, ce qui permet de distinguer clairement les ébauches des appendices locomoteurs, des antennes, de l'appareil buccal et des futurs yeux composés des adultes en devenir (Becker et al., 2003).



Figure 08 : Aspect général d'une nymphe de *Culex pipiens* (Berchi., 2000).

1.2.3 Adulte (Imago)

Le moustique *Culex pipiens* (**figure09**), d'une taille d'environ 9 mm et de couleur brun clair, se compose de trois parties principales : la tête, le thorax et l'abdomen (**Becker et al., 2003**). La tête présente une coloration sombre avec des écailles dressées et fourchues, ainsi que des écailles blanches et des poils bruns. Les femelles ont des pièces buccales piqueuses-suceuses à l'avant de la tête (**Andreo., 2003 ; Kettel., 1995**).

Le thorax a une forme globuleuse avec des soies insérées et est composé de trois segments : le prothorax, le mésothorax et le métathorax (**Carnevale et Robert., 2009**).

L'abdomen, quant à lui, est constitué de dix segments, dont huit sont visibles à l'extérieur. Chaque segment de l'abdomen présente des soies et des écailles de différentes couleurs et configurations, reliées par une membrane souple sur les côtés. Chez les mâles, le dernier segment abdominal abrite les organes génitaux et effectue une rotation de 180 degrés après leur émergence (**Seguy., 1950 et Limoges., 2002**). La compréhension de ces différentes parties est essentielle pour l'étude et la classification de l'espèce en systématique.

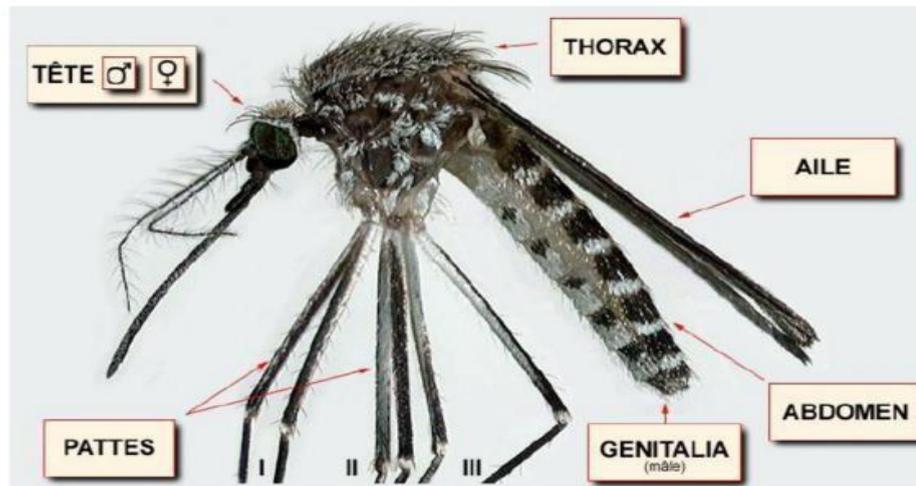


Figure09 : adulte de *Culex pipiens* (Schaffner et al., 2001).

1.3. Cycle de développement de moustique

Les moustiques sont des insectes holométaboles, ce qui signifie qu'ils passent par plusieurs stades de développement. Les premiers stades de développement comprennent les œufs, les larves et les nymphes, qui se déroulent dans un environnement aquatique. Cependant, une fois qu'ils atteignent le stade adulte, ils mènent une vie aérienne (figure10). La durée de vie de l'adulte est généralement d'environ douze à vingt jours (KLOWDEN., 1990). Il dure environ douze à vingt jours (Adisso et alia., 2005).

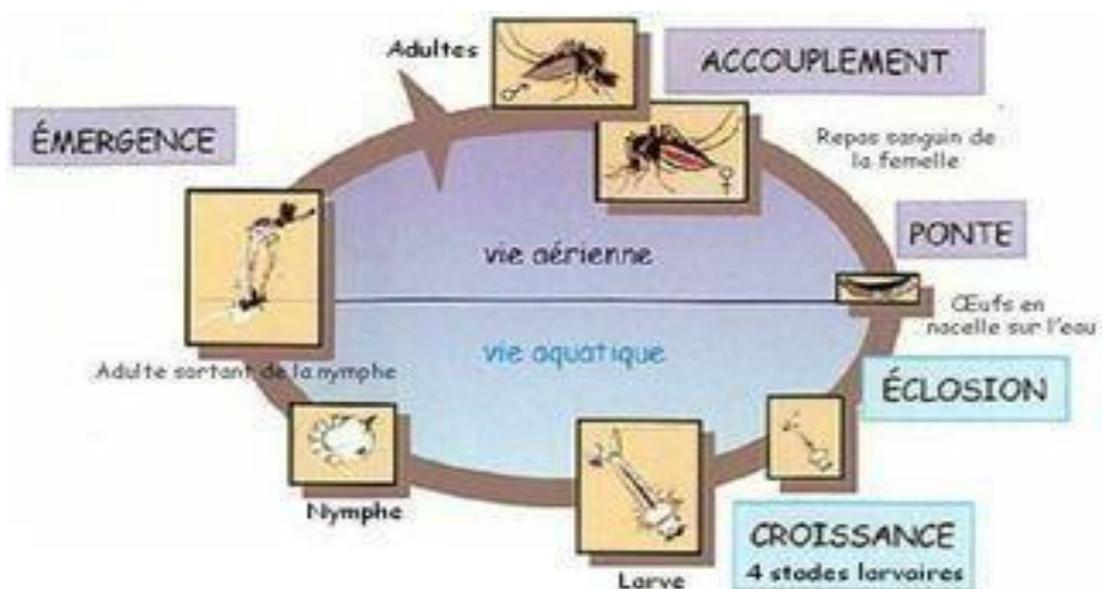


Figure 10 : cycle de développement du *Culex pipiens* (Duvallet., 2022)

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

1.4.Habitat

Dans les pays chauds, les culex sont très répandus où on les trouve toute l'année. Ils sont fréquents dans les climats tempérés, en particulier en été et en automne. Ils sont très hygrophiles, ils ont une activité nocturne, et leur développement est dépendant de la présence d'eau (**Bussieras et al., 1991**).

1.5. Les principales nuisances causées par *Culex pipiens*

Les piqûres de moustiques provoquent des lésions circulaires et des démangeaisons. Elles peuvent déclencher des réactions allergiques. Les moustiques infectés sont la principale source de transmission de maladies telles que le virus du Nil occidental et la fièvre de la Vallée du Rift. Pour le virus du Nil occidental, les moustiques se contaminent en se nourrissant sur des oiseaux infectés et transmettent le virus lors de leurs repas ultérieurs. Dans le cas de la fièvre de la Vallée du Rift, les moustiques héritent le virus de leur mère infectée et le propagent en contaminant les animaux sauvages. Les moustiques qui préfèrent se nourrir de sang humain peuvent ensuite infecter les humains. Une autre voie de transmission possible pour cette maladie est le contact direct avec des aérosols émis lors de l'abattage d'animaux malades. Ainsi, les piqûres de moustiques peuvent causer des désagréments et transmettre des maladies dangereuses pour les humains et les animaux (**Candace et al .,2001 ; Linthicum et al . , 1985 ;OMS .,2011**) .

1.6.Moyens de lutte contre *Culex pipiens*

1.6.1. Lutte écologique

Les mesures de contrôle environnemental visent à perturber la reproduction des moustiques et à modifier leur environnement de manière à le rendre peu propice à leur survie. Ces mesures peuvent empêcher la reproduction des moustiques ou entraîner l'élimination des gîtes larvaires. (**Azondekon., 2006**). Cela peut inclure le drainage et l'assèchement des zones d'eau stagnante, ainsi que la gestion appropriée des déchets et des engrais provenant des exploitations agricoles. Une gestion adaptée des sites de stockage des récoltes peut également être mise en place pour réduire les habitats favorables à la reproduction des moustiques (**Balenghien., 2009**).

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

1.6.2. Lutte génétique

Des stratégies de lutte génétique sont en cours de développement pour contrôler les moustiques vecteurs de maladies. Ces approches comprennent la libération de mâles stériles, ce qui empêche la fécondation des femelles piqueuses de sang, ainsi que la manipulation génétique des femelles en insérant des fragments d'ADN qui les rendent incapables de transmettre des maladies (réduction de leur capacité vectorielle). Cependant, ces méthodes de lâcher de moustiques peuvent entraîner des problèmes significatifs (**Goislard., 2012**).

1.6.3. Lutte chimique

Dans le cadre de la lutte chimique contre les larves de moustiques et les moustiques adultes, on utilise des produits chimiques synthétiques. Initialement, des pesticides de première génération étaient utilisés, comprenant des composés tels que l'arsenic, le soufre, la chaux dérivée du pétrole, le fluor ou des substances végétales comme la nicotine. Ces compositions étaient caractérisées par leur simplicité. (**Philogene., 1991**)

Les pesticides utilisés se caractérisent par leur persistance dans l'environnement ou leur dégradation lente, ainsi que par leur toxicité relativement élevée pour les organismes non ciblés. Par la suite, des produits chimiques synthétiques de deuxième génération ont été développés, tels que les composés organochlorés, les organophosphates et les carbamates. (**Philogene., 1991**).

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

2. Les champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes sont responsables de graves maladies des plantes qui pourraient affecter négativement la productivité des cultures. Certains de ces champignons sont également documentés comme des agents pathogènes humains opportunistes pouvant provoquer des infections chez les personnes immunodéprimées (**Marin-Felix et al., 2019**).

À cet égard, l'interaction fongique avec d'autres organismes est d'un grand intérêt puisque les champignons utilisent un éventail de stratégies biochimiques et mécaniques pour infecter leur hôte afin d'accéder aux nutriments. Au cours de l'infection, des enzymes dégradant les polymères ou des métabolites secondaires sont produits comme facteurs de virulence (**Salvatore et al., 2021**).

Les champignons phytopathogènes ont la capacité de produire des toxines, qui sont principalement des métabolites secondaires de faible poids moléculaire. Même à de faibles concentrations, ces toxines peuvent altérer les fonctions physiologiques normales des plantes, entraînant ainsi l'apparition de symptômes spécifiques tels que le flétrissement, l'inhibition de la croissance, la chlorose, la nécrose et les taches foliaires. En outre, ils ont également suscité l'intérêt en tant qu'agents de lutte biologique contre les ravageurs, ainsi que pour leur capacité à produire divers composés ayant des activités biologiques diverses. Parmi ces activités figurent notamment des propriétés herbicides, antibiotiques et antifongiques. Cette polyvalence dans les activités biologiques offre des opportunités pour leur utilisation potentielle dans des applications agricoles et médicales (**Peng et al., 2021**).

Parmi les genres de champignons phytopathogènes mentionnés, on trouve *Bipolaris*, *Boeremia*, *Calonectria*, *Cladosporium*, *Colletotrichum*, *Pilidium*, *Plonodomus*, *Venturia* et *Wilsonomyces*. Un autre genre important parmi ces genres est *Fusarium* (**Marin-Felix et al., 2017**).

2.1. Définition du genre *Fusarium*

Les *Fusarium* sont des champignons filamenteux qui sont connus pour leurs capacité à causer des maladies chez les plantes (**Ma et al., 2013**). Ils ont été décrits pour la première fois par Link en 1809. Ce groupe se trouve dans la nature et vivent principalement comme des saprophytes (**Hocquette et al., 2005 ; Wather et al., 2020**). Certaines espèces sont pathogènes et peuvent produire des toxines dangereuses appelées mycotoxines, qui

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

contaminent les denrées alimentaires et provoquent des maladies graves chez les herbivores (Carter *et al.*, 2000).

2.1.1 La position taxonomique : La classification de *Fusarium* est menée par Link., 1809 (tableau 04).

Tableau 04 : Classification de *Fusarium* (Link., 1809).

Règne	<i>Fungi</i>
Embranchement	Ascomycota
Classe	Sordariomycetes
Ordre	Hypocreales
Famille	Nectriaceae
Genre	<i>Fusarium</i>

2.1.2 Répartition géographique

Les *Fusarium* sont présents dans divers environnements à travers le monde, notamment dans les zones tropicales, les régions tempérées, les zones désertiques, les régions montagneuses, et même dans des régions arctiques (Hocquette *et al.*, 2005).

2.2 Cycle de vie généralisé de *Fusarium*

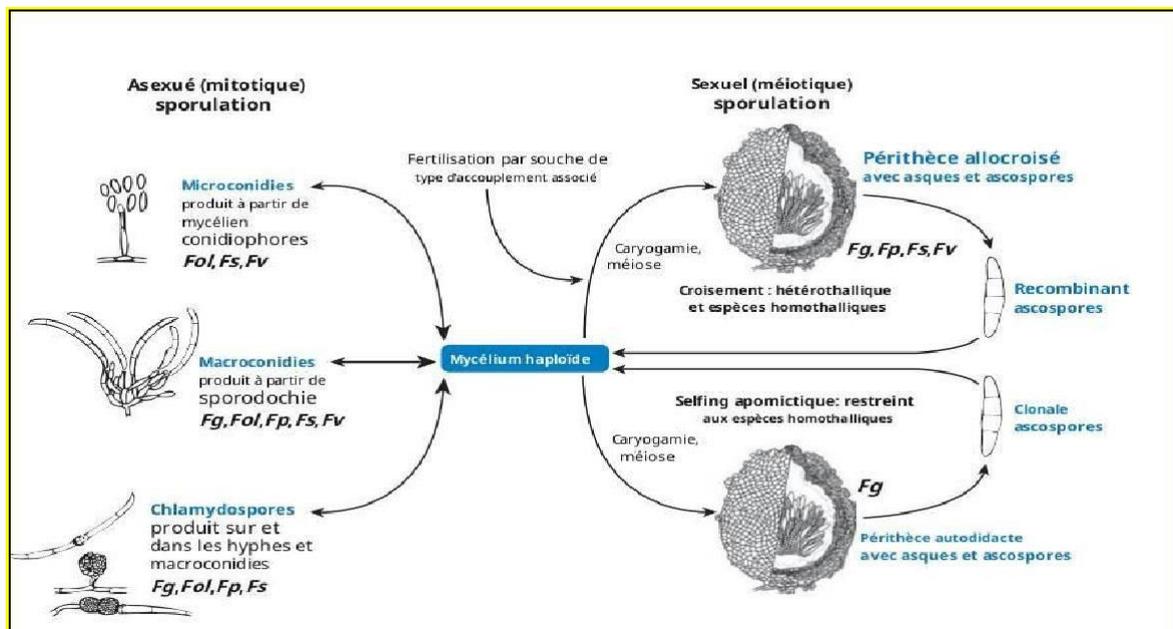


Figure 11 : Cycle de vie généralisé de *Fusarium*. (Ma *et al.*, 2013)

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

Fg : *F. graminearum*. *Fol* : *F. oxysporum* *F. sp. lycopersici*. *Fp* : *F. pseudograminearum*.

Fs : *F. solani* *F. sp. pisi*. *Fv* : *F. verticillioïdes*

2.3 Pouvoir pathogène

Les *Fusarium* comprennent plusieurs espèces phytopathogènes qui affectent de nombreuses plantes et céréales essentielles pour l'alimentation humaine et animale. (Hocquette., 2005 ; Askun., 2018). Ces champignons sont responsables de diverses maladies telles que la flétrissure vasculaire, la pourriture des racines et des tiges, la brûlure des semis, la pourriture des épis de céréales et la pourriture des fruits. Certaines souches de *Fusarium* sont capables de synthétiser plusieurs mycotoxines, qui peuvent s'accumuler dans les plantes infectées avant la récolte ou dans les produits agricoles stockés ou transformés. (Logrieco *et al.*., 2003).

Les *Fusarium*, en particulier certaines espèces, sont responsables d'infections chez l'homme qui peuvent être superficielles, localement invasives ou diffuses. Ces infections comprennent la fusariose, qui se caractérise par des infections des ongles des mains ou des pieds, la kératite (après un traumatisme) et parfois des mycétomes dans les régions tropicales. Certaines espèces de *Fusarium* ont la capacité de coloniser de grandes lésions de brûlures, ce qui peut entraîner une péritonite chez les patients en dialyse ou des infections systémiques (comme *F. solani* et *F. moniliforme*) chez les personnes atteintes de tumeurs hématologiques malignes. Il convient de noter que les *Fusarium* peuvent également être responsables de manifestations allergiques, toxiques et infectieuses locales ou généralisées chez l'homme. . (Chabasse *et al.*, 2002 ; Hocquette *et al.*, 2005).

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

2.4 Identification macroscopiques et microscopiques du genre *Fusarium*

L'identification est basée sur des caractéristiques culturales et morphologiques.

- **Les caractéristiques macroscopiques** : telles que la forme et la couleur des colonies, la vitesse de croissance et la production de pigments diffusibles pendant le développement sur des boîtes de Pétri, ont été initialement utilisées pour l'identification et la classification des espèces appartenant au genre *Fusarium*. (Jeunot., 2005 ; Heit., 2015).
- **Les caractéristiques microscopiques** : telles que la présence ou l'absence de microconidies, leur forme et leur arrangement, la localisation (diviseurs ou terminaux) et l'abondance des chlamydospores, la forme et la taille des macroconidies, ainsi que la forme de la cellule basale, sont utilisées pour l'identification des espèces de *Fusarium* (Jeunot., 2005 ; Heit., 2015).

2.5 Moyens de lutte contre le *Fusarium*

✓ La lutte chimique

Consiste à utiliser des fongicides pour éliminer, affaiblir ou inhiber les champignons. Il existe maintenant plusieurs fongicides appartenant à différentes classes chimiques qui peuvent être utilisés pour traiter la fusariose de l'épi. Par exemple, une combinaison de prothioconazole et de tébuconazole s'est avérée plus efficace pour réduire les symptômes de la

CHAPITRE III : LES INSECTES ET LES CHAMPIGNONS

fusariose de l'épi, avec une réduction moyenne des symptômes de 52 % et une réduction de 52 % de la brûlure (**Paul *et al.*, 2008**).

L'apparition de la résistance chez les populations de champignons, le coût élevé des fongicides et l'interdiction croissante de leur utilisation ont suscité un intérêt croissant pour les alternatives. L'interdiction croissante de l'utilisation des fongicides a amplifié la recherche de substituts et d'alternatives. (**Btissam *et al.*, 2013**).

✓ **La lutte culturelle**

visée à limiter la multiplication de l'inoculum dans le sol. Elle implique les mesures suivantes :

- ❖ Utilisation de semences saines.
- ❖ Utilisation rationnelle de la fumure azotée, comme recommandé par **Mauler *et al.*, 1997**).
- ❖ Élimination des résidus de culture contaminés par incinération ou enfouissement profond.
- ❖ Mise en place de rotations culturales d'au moins deux ans en dehors des cultures céréalières, en alternant avec des légumineuses.

Ces pratiques sont mises en œuvre pour réduire la présence et la propagation des *Fusarium* dans les cultures, contribuant ainsi à la lutte contre ces champignons phytopathogènes. (**Gilbert & Tekauz., 1995**)

✓ **La lutte biologique**

La lutte biologique contre les *Fusarium* fait appel à divers agents de biocontrôle disponibles sur le marché. Le concept clé repose sur l'hyperparasitisme, où certains champignons agissent en tant que parasites d'autres champignons. Des études ont exploré des approches alternatives en matière de lutte biologique, en se concentrant notamment sur l'utilisation des métabolites secondaires des plantes tels que les alcaloïdes. On suppose que les extraits de ces plantes présentent des propriétés antifongiques et antibactériennes (**Thangavelu *et al.*, 2004**).

MATERIEL ET METHODES

Notre travail a porté sur l'étude phytochimique des feuilles de deux plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*, ainsi que l'extraction des alcaloïdes et l'évaluation de leurs activités insecticides et fongicides.

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de Biochimie et laboratoire de Microbiologie, Département des sciences Biologiques de Bouira.

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des plantes de *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander* récoltés de la région d'Oulad Rached de Ahl Leksar, de la wilaya de Bouira (Algérie) (figure 12) en mois de mars 2023.



Figure 12 : Carte géographique de la wilaya de Bouira (Algérie), illustrant Ahl Al Kasr la région de collecte.

1.1.2. Matériel entomologique

- ✓ ***Culex pipiens*** : l'étude de l'activité biologique de nos souche identifiées été conduite sur les stades aquatiques (L2, L3, L4 et les nymphes) de moustique domestique *Culex Pipiens*.
- ✓ **Les souches des champignons** : dans notre étude nous avons utilisé deux genres de champignons de *Fusarium*.

1.2. Appareils et réactifs (matériels non biologique)

L'ensemble des appareils et des réactifs utiliser pour réaliser cette étude est résumé dans le tableau 1 (annexe 1).

1.2.1. Méthodes

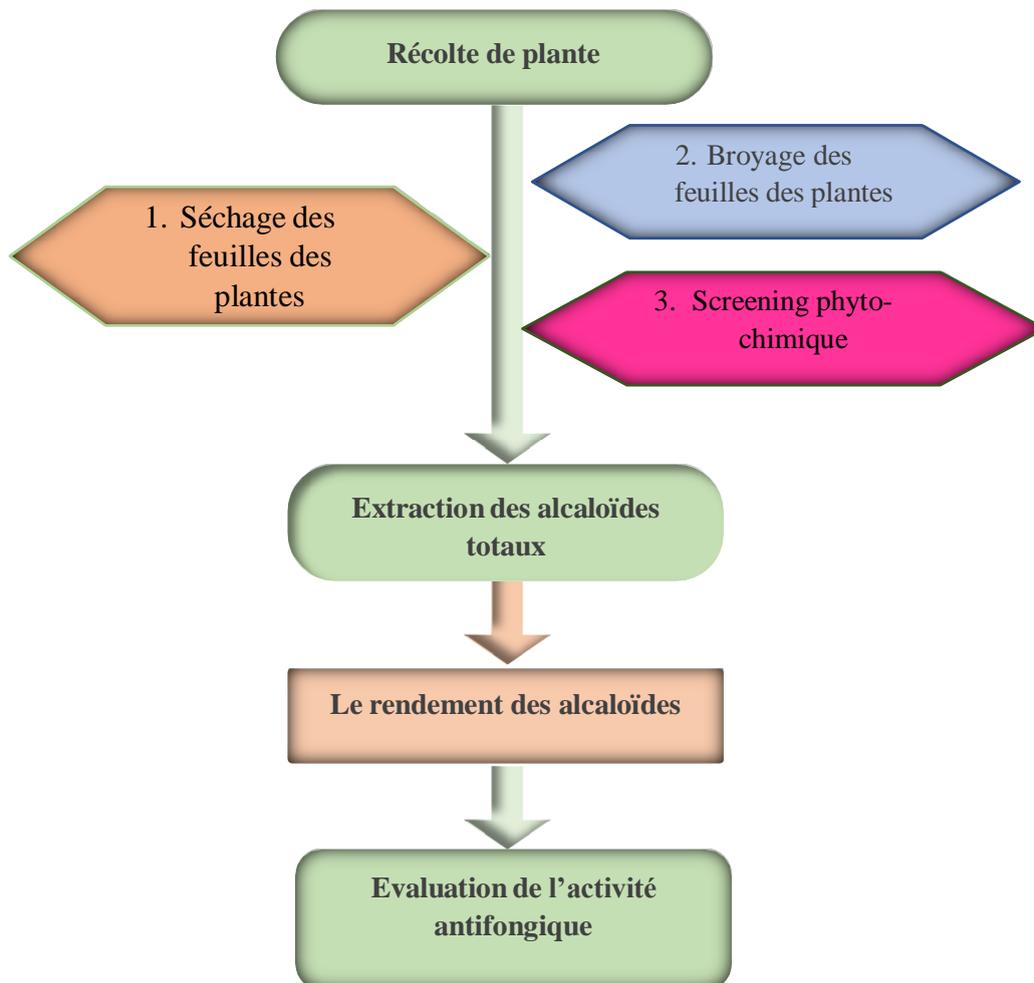


Figure : Protocole suivie durant la partie expérimentale.

2. Préparation de l'échantillon végétal

- **Récolte :** les feuilles des deux plantes (*Hyoscyamus niger* et *Nerium oléander*) ont été récoltées à la fin du mois de février 2023 de la région d'Ahl Leksar de wilaya de Bouira.
- **Le séchage :** les parties aériennes (feuilles) des plantes ont été séchées à l'air libre et à l'abri de l'humidité et de la lumière pendant 3 semaines.
- **Broyage :** L'échantillon végétal a été broyé dans un broyeur électrique (Moulinex) pour obtenir une poudre fine.
- **Conservation :** Les poudres des plantes sont conservées dans des flacons en vert, à une température ambiante et à l'abri de lumière et de l'humidité.

3. Méthodes d'extraction des alcaloïdes

L'extraction des alcaloïdes des deux plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oléander* est faite selon la méthode de Bruneton (1999), qui passe par une macération de la matière végétale dans un milieu acide, suivie d'une extraction liquide-liquide.

A. Macération

- Pour préparer de l'eau acidifiée, mélangez 1000 ml d'eau distillée avec 83.3 ml d'acide chlorhydrique (HCl) concentré.
- Prenez 50 g de poudre de plante et broyez-la dans 400 ml d'eau acidifiée. Utilisez un erlenmeyer pour effectuer cette étape, puis fermez le récipient avec du papier aluminium pour éviter l'oxydation causée par la lumière. Agitez le mélange pendant 2 heures.

B. Filtration

Après macération les deux solutions des deux plantes ont été filtrées à l'aide de coton après suivi de papier Wattman03.

C. Délipidation

Le filtrat est versé dans une ampoule à décanter puis ajouter n-hexane minimum trois fois jusqu'à l'élimination totale des lipides.

D. Neutralisation

MATERIEL ET METHODES

Pour rendre le milieu neutre (pH =à 7), on effectue l'alcalinisation en ajoutant 20 ml d'ammoniaque à la phase aqueuse.

E. Extraction chloroformique

Ensuite, la solution basique ainsi obtenue est extraite avec un volume de 30 ml de chloroforme.

F. Lavage

La solution organique obtenue est ensuite lavée avec de l'eau distillée.

G. Evaporation

L'extrait chloroformique a été ensuite soumis à une évaporation par un rotavapeur pour finalement récupérer l'extrait Presque sec, le reste de solvant a été laissé s'évaporer à l'aire libre pour avoir l'extrait sec dépourvu de toutes traces d'eau aux autres solvants.

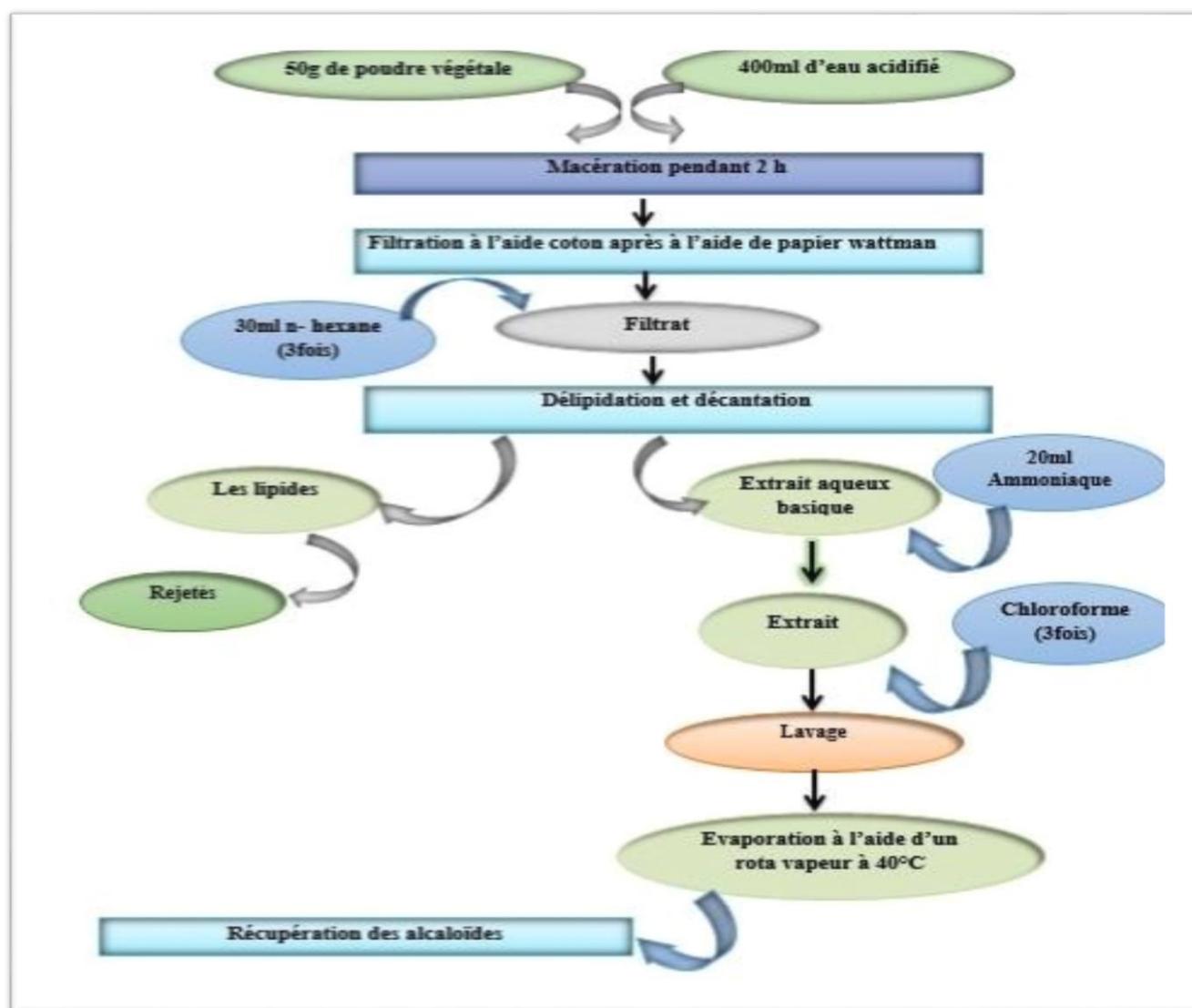


Figure 14 : Protocole d'extraction des alcaloïdes

4. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques contenant dans un organe végétal (El-Haoud *et al.*, 2018).

Les méthodes de caractérisation utilisées sont celle décrites par (Boizot., & Charpentier ., 2006).

4.1. Préparation de l'infusé à 5%

Pour préparer l'infusion, 5 g de poudre de différentes plantes (*Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*) ont été mélangés dans 100 ml d'eau distillée chaude. Après une infusion de 30 minutes, le mélange a été filtré à travers un papier Wattman n°3. Le volume total de l'infusion de chaque plante a été ajusté à 100 ml en ajoutant de l'eau distillée.

Les différentes méthodes du screening phytochimique effectuées sur les deux plantes sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05 : les différentes méthodes du Screening phyto-chimique effectuées.

Type d'échantillon	Composé mise en évidence	Réactif ajoutés	Les résultats Positifs
L'infusé	tanins totaux	5 ml de l'infusé + quelque goutte de FeCl ₃ à 5%	Formation de Coloration bleu noire
	Tanins gallique	5ml de l'infusé+ 2g d'acétate de sodium et quelque goutte de FeCl ₃ à 5%	Formation de Coloration bleu foncé
	Saponosides	3ml d'infusé et agité pendant 30 minute	Formation de mousse
	Irridoides	2ml d'infusé+ quelque goutte d'HCL et chauffer sur une plaque chauffante	Apparition d'une coloration bleue
	Mucilage	2ml d'infusé+5ml d'éthanol absolu. Incubé à une température	Apparition d'un précipité

MATERIEL ET METHODES

		ambiante pendant 15 minutes	floconneux
	Anthocyanes	5ml d'infusé + quelque goutte d'HCL	Apparition d'une coloration rouge
	Caroténoïde	3ml d'infusé+3ml d'HCL+3ml H ₂ SO ₄	formation de coloration vert bleu
	Alcaloïdes	3ml d'infusé + quelque goutte de réactif de dragendorff	Formation d'un précipité brique rouge
	Flavonoïdes	1 ml d'infusé + 1 ml d'HCL	Apparition de couleur jaune
Poudre végétale	Quinone libre	2g de poudre humecté par 2 ml d'HCL + 20ml de chloroforme pendant 3h	Apparition d'une coloration rouge
	Les coumarines	2g de poudre végétale + 20ml d'éthanol éthylique chauffer dans un bain marie pendant 15 minutes puis filtrés. A 5 ml de filtrat + 10 gouttes de solution alcoolique de KOH +quelque goutte d'HCLa 10%.	Formation d'un trouble

5. Analyse quantitative des extraits alcaloïdiques des deux plantes « *Hyoscyamus niger* » et « *Nerium oleander* »

Le rendement d'extraction des différents extraits obtenus est défini comme étant un rapport entre la masse des extraits bruts à l'état sec et celle de la matière végétale utilisée, il est calculé comme suit d'après **Ouahas et al., (1988)**.

$$R(\%) = [(p1-p0) / p] * 100$$

Avec :

P : poids initial de l'échantillon(g).

P0 : poids de bécher vide (g).

P1 : poids de bécher après évaporation totale(g)

6. Activité antifongique des extraits alcaloïdiques des plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*

a- Préparation de milieu de culture

Après homogénéisation, une quantité de 64g de poudre OGA a été dissoute dans 800ml d'eau distillée. Le mélange a ensuite été versé dans des flacons, puis soumis à une stérilisation par autoclavage à 100°C pendant une heure. Après cela, on a laissé le milieu reposer jusqu'à ce qu'il se solidifie.

b- Revivification des souches

- Pré culture des champignons

Sur des boîtes de Pétri contenant le milieu OGA (annexe 02), un disque de champignon d'une culture pure a été déposé au centre de chaque boîte, puis incubé à 28 C° durant 7 à 8 jours.

c- Méthode de contact direct sur milieu gélose

Cette technique décrite par **Grover et al. (1962)** et **Khallili (2001)** consiste à mélanger 1, 2, 3 ml d'une solution à base d'extrait alcaloïdiques des deux plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*, à une concentration de 50 mg/ml, avec 15,14 et 13 ml du milieu OGA en surfusion, dans un tube à essai stérile. Après agitation, le contenu a été versé dans une boîte de Pétri. Une boîte contenant le milieu OGA et 3 ml d'eau distillé a été utilisé comme témoin négatif.

Un disque de champignon a été implanté au centre de chaque boîte (traitées et témoin), ces dernières sont ensuite incubées à 28°C pendant 7 à 8 jours.

Le suivie de la croissance fongique a été effectuée tous les deux jours jusqu'à la fin de la durée appropriée d'incubation où l'on procède à la mesure des diamètres de mycélium pour dégager le pourcentage d'inhibition ou taux d'inhibition, calculé comme suit :

$$\%d'inhibition\ du\ mycélium = ((MIc - MI t) / MIc) \times 100$$

Avec :

MIc = diamètre de Mycélium dans la boîte témoin (control)

MI t = diamètre de Mycélium dans les boîtes contenant les principes actifs (Champignons traités).

L'extrait est qualifié de :

- ❖ très actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 75 et 100 %, la souche fongique est dite très sensible.
- ❖ actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 50 et 75 %, la souche fongique est dite sensible.
- ❖ moyennement actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 25 et 50%, la souche est dite limite.
- ❖ peu ou pas actif lorsqu'il possède une inhibition comprise entre 0 et 25%, la souche est dite peu sensible ou résistante.

Après ces résultats, tout extrait présentant un pourcentage d'inhibition d'une souche fongique supérieur à 50 % est choisi pour déterminer la concentration inhibitrice minimale. (Rotimi *et al.*, 1988 ; Alcamo., 1984).

7. Activité insecticide des extraits alcaloïdiques des plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*

7.1. Récolte des nymphes et des stades larvaires

Pendant le mois de mai 2023, une prospection préliminaire a été réalisée à l'université Bouira (**figure15**) afin de collecter des larves et des nymphes de moustiques dans un gîte larvaire, représenté par une fontaine. Pour échantillonner les larves, une approche lente et prudente est nécessaire pour les rendre inaccessibles. Les larves sont ensuite collectées à l'aide de seringues et placées dans des bacs en plastique avant d'être transportées au laboratoire.



Figure15 : le gîte larvaire utilisé pour la collection des stades larvaires et des nymphes.(originale, 2023)

7.2. Le tri

Les larves ont été placées dans des gobelets en plastique identifiés par le code du gîte (**figure 16**), recouverts d'une couche de tulle moustiquaire contenant l'eau de leur habitat, afin de les élever temporairement.



Figure 16: le tri des stades aquatiques (L2, L3 et L4) et les nymphes (originale, 2023)

Selon **Roth(1974)**, la différenciation entre les stades larvaires se base sur la taille de l'individu.

Le tableau ci-dessous présente la quantité et les tailles des différents stades de développement du moustique *Culex pipiens* après leur collecte.

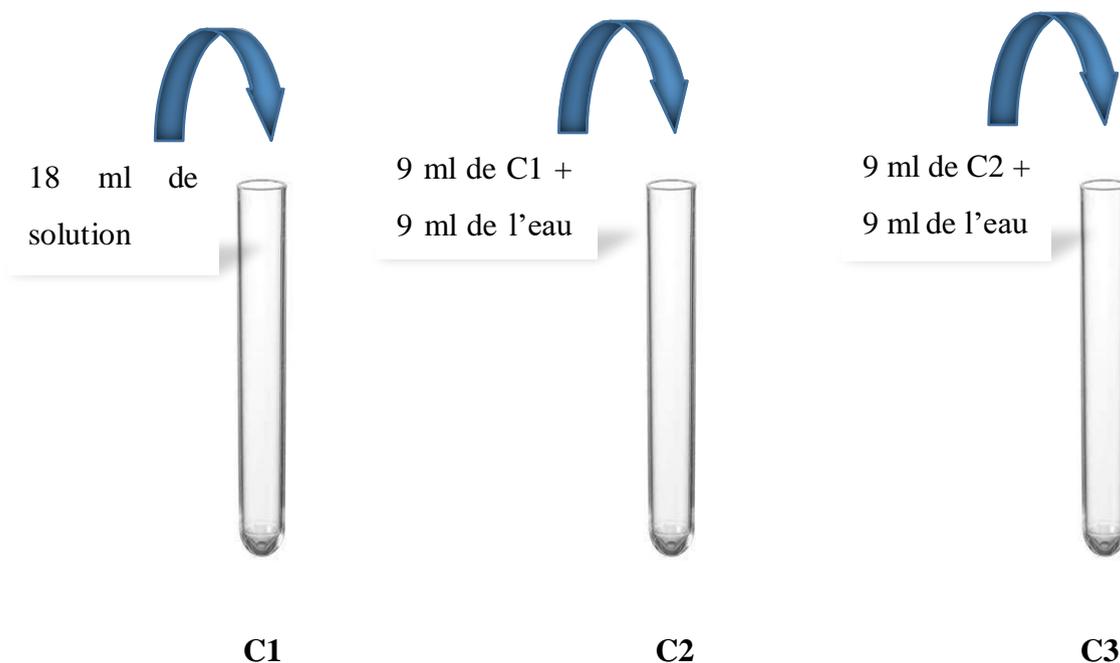
Tableau 06 : Le nombre et la taille de différent stade de *Culex pipiens*.

Les individus	La taille	Le nombre
Larve stade 2	1 à 3 mm	100
Larve stade 3	3 à 5 mm	110
Larve stade 4	5 à 6 mm	98
Nymphe	0.8 à 1.2 cm	25

7.3. Préparation de l'extrait pour l'activité insecticide

Afin d'obtenir une concentration de 60 mg/ml, nous avons mélangé 3000 mg d'extrait sec avec 50 ml d'eau distillée.

Les différents stades (L2, L3, L4) ont été traités avec une concentration de 60 mg/ml (C1). Ensuite, des dilutions ont été réalisées pour C1 et C2.



7.4. Mode de traitement

Des gobelets en plastique contenant 30 ml d'eau de gîte ont été préparés, avec 8 individus des stades L2, L3 et L4. Ensuite, 1 ml des différentes dilutions (C1, C2 et C3) a été ajouté à chaque gobelet.

Des individus témoins du même stade (L2, L3, L4) ont été répartis de manière similaire, avec le même nombre d'individus que ceux traités. Chaque matin, les larves ont été nourries avec de la poudre de biscuit sec. Les mortalités et les symptômes apparus ont été enregistrés quotidiennement.

7.5. Traitement des données

- Calcul du taux de mortalité

Le pourcentage de mortalité observé chez les individus traité et les témoins est calculé par la formule suivante :

$$\text{La mortalité observé} = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total des individus}} \times 100$$

La mortalité observée est ensuite corrigé par la formule d'Abbot (1992) :

$$\text{MC} = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

M1 : Pourcentage de mortalité dans le témoin.

M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité.

MC : Pourcentage de mortalité corrigé.

RESULETATS ET DESCUSSIONS

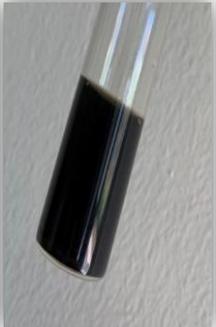
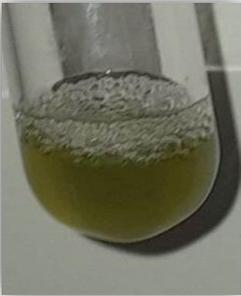
RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats de screening phytochimique

L'évaluation préliminaire de la composition phyto-chimique des extraits des feuillettes de *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander* est présentée dans le **tableau 07**.

Tableau 07 : Les résultats de screening phyto-chimique de *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*.

(+++) Très positif (++) Moyennement positif (+) positif (-) négatif

Composants phénoliques	Résultats pour <i>Hyoscyamus niger</i>	Photographie des résultats	Résultats pour <i>Nerium oleander</i>	Photographie des résultats
Tanins totaux	+++		+++	
Tanins gallique	+++		+++	
Saponosides	++		+	

RESULTATS ET DISCUSSION

Irridoïdes	-		-	
Mucilage	++		+	
Anthocyanes	-		+	
Caroténoïde	++		-	

RESULTATS ET DISCUSSION

Alcaloïdes	+++		+++	
Flavonoïdes	+++		++	
Les coumarines	+++		+	

Les résultats expérimentaux présentés dans le tableau révèlent plusieurs observations. Tout d'abord, les feuilles des plantes étudiées contiennent des tanins totaux, des tanins galliques, des alcaloïdes, des flavonoïdes, des coumarines, des saponosides et des mucilages. Cependant, les irridoides sont absents dans les deux plantes examinées.

De plus, on constate que les anthocyanes sont absents dans les feuilles de *Hyoscyamus niger*, tandis qu'elles sont présentes dans les feuilles de *Nerium oleander*. En revanche, les coumarines sont présentes dans les feuilles de *Hyoscyamus niger* et absentes dans les feuilles de *Nerium oleander*.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de nos études sont en accord avec les recherches menées par **Çilesizoğlu et al (2022)** sur la composition de *Hyoscyamus niger*. Leurs résultats confirment la présence des tanins, des saponosides, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des coumarines, des caroténoïdes et des mucilages dans les feuilles de cette plante.

Des études menées par **Kadri et Yahia (2015)** qui ont travaillé sur la composition de *Nerium oleander* sont en accord avec la majorité de nos résultats (la présence des tanins, saponosides, flavonoïdes, alcaloïdes) dans les feuilles de la plante.

2. Analyse quantitative des extraits chloroformique (alcaloïdique) des deux plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*.

✓ Rendement d'extraction

Les extraits récupérés ont été pesés pour déterminer leur poids sec résultant ; le rendement a été calculé par rapport à 50 g de matériel végétal sec, les résultats sont exprimés en pourcentage.

Les extraits obtenus sont de couleur noir verdâtre et les rendements d'extraction sont rapportés dans l'histogramme **figure 17**.

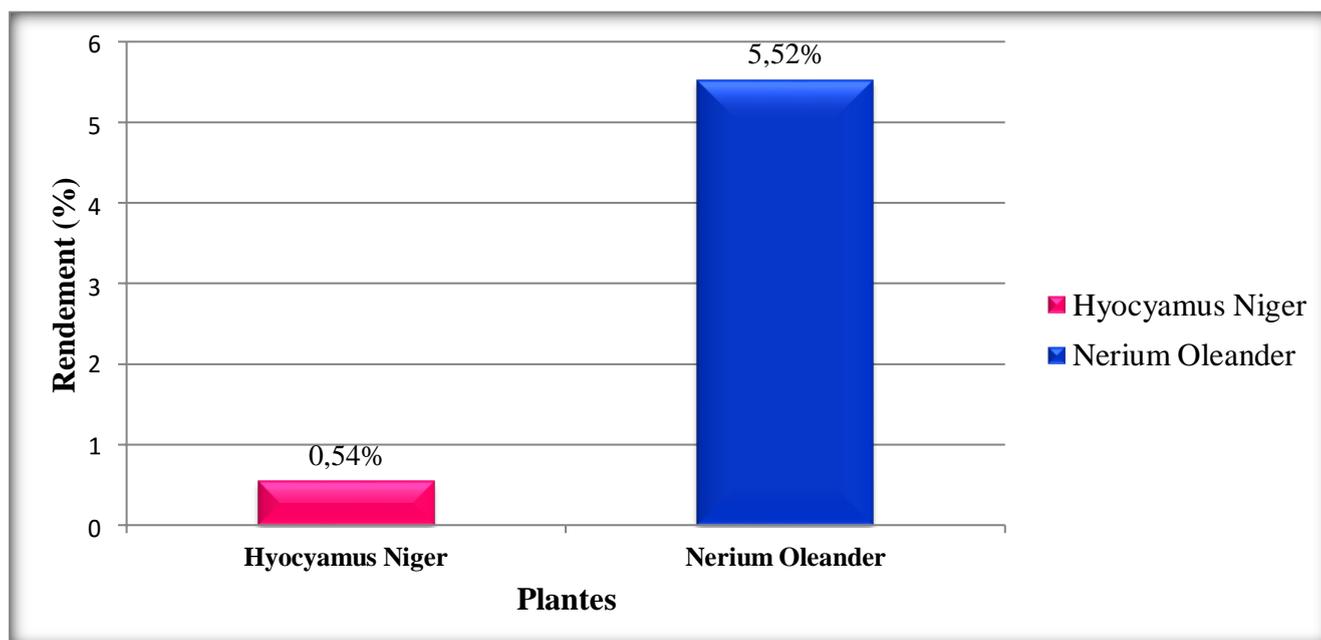


Figure 17 : Histogramme des rendements d'extraction des substances alcaloïdiques pour *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*.

On constate que *Nerium oleander* est plus riche en composés alcaloïdiques que *Hyoscyamus niger* avec des rendements respectifs de 5.52% et de 0.54%.

Selon l'étude menée par **Akkol *et al* (2020)**, le rendement en alcaloïdes dans les feuilles de *Hyoscyamus niger* était de 0,17%. Ces résultats sont pratiquement presque similaires à nos propres résultats.

Les résultats de l'étude menée par **El-Sayed., & El-Bassiony (2016)**, ont révélé un rendement en alcaloïdes de 4.6%. Dans les feuilles de *Nerium oleander*. Ces résultats sont aussi pratiquement presque similaires à nos propres résultats.

3. La toxicité des extrait alcaloïdiques des deux plantes (*Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*) sur les stades aquatiques L2, L3 , L4 et nymphe.

Cette partie a été consacrée à l'étude de l'effet des alcaloïdes contre les larves (L2, L3 et L4 et nymphe de *Culex Pipiens*. Ce dernier est connu comme étant une espèce ayant développé une résistance notamment le malathion et autre organosphorés. (**Berchi & Louadi, 2007**).

✓ Calcul de taux de mortalité

Pendant une période de 4 jours de traitement, nous avons enregistré quotidiennement le nombre d'individus morts (voir Annexe x). Les résultats ont été relevés à partir du premier jour de traitement. Après avoir isolé les larves mortes et les avoir observées à la loupe, nous avons utilisé la formule d'Abbott (1925) pour corriger les taux de mortalité. Les valeurs obtenues sont restées inchangées, car aucun décès n'a été enregistré dans le groupe témoin. Letableau suivant présente la moyenne des mortalités cumulées.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 08 : les mortalités enregistré des larves et nymphes traité par *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*.

Plante		Concentration	1 ^{er} jour	2 ^{ème} jour	3 ^{eme} jour	4 ^{ème} jour	Total
<i>Hyoscyamus Niger</i>	L2	C1	93.75%	100%			100%
		C2	100%				100%
		C3	100%				100%
	L3	C1	93,75%	100%			100%
		C2	81,25%	100%			100%
		C3	81,25%	100%			100%
	L4	C1	93,75%	100%			100%
		C2	100%				100%
		C3	100%				100%
	Nymphe	C1	50%	62,5%			62,5%
<i>Nerium oleander</i>	L2	C1	37.5%	50%	75%	93.87%	93.87%
		C2	31.25%	62.5%	75%	87.5%	87.5%
		C3	37.5%	43.75%	37.37%	62.5%	62.5%
	L3	C1	50%	62.5%	68.75%	87.25%	87.25%
		C2	50%	62.5%	68.75%	81.25%	81.25%
		C3	25%	50%	56.25%	56.25%	56.25%
	L4	C1	25%	37.5%	50%	75%	75%
		C2	12.5%	12.5%	50%	62.5%	62.5%
		C3	0%	0%	25%	25%	25%
	Nymphe	C1	0%	0%	0%	0%	0%

D'après les données présentées dans le **tableau 08** le taux de mortalité des larves varie en fonction du temps et de la concentration de la solution d'extrait alcaloïdique. Les larves traitées avec l'extrait alcaloïdique de *H. niger* présentent la mortalité la plus élevée, atteignant 100% au deuxième jour de traitement. En ce qui concerne les nymphes, on observe une mortalité de 62,5% au deuxième jour de traitement.

RESULTATS ET DISCUSSION

En revanche, lors du traitement avec l'extrait alcaloïdique de *N. oleander*, les larves et les nymphes présentent une mortalité plus élevée chez les larves, en particulier à une concentration de 60 mg/ml, où une mortalité supérieure ou égale à 75% est signalée. Aucune mortalité n'est observée chez les nymphes tout au long du traitement.

D'après le tableau, on a observé que le taux de mortalité des stades larvaires (L2, L3 et L4) traités avec les extraits alcaloïdiques de *Nerium oleander* et *Hyoscyamus niger* augmente en fonction des concentrations. En d'autres termes, à mesure que la concentration des extraits augmente, le taux de mortalité des larves augmente également.

Les résultats obtenus sont résumés dans les **figures 18 et 19** pour mieux suivre les niveaux de mortalité.

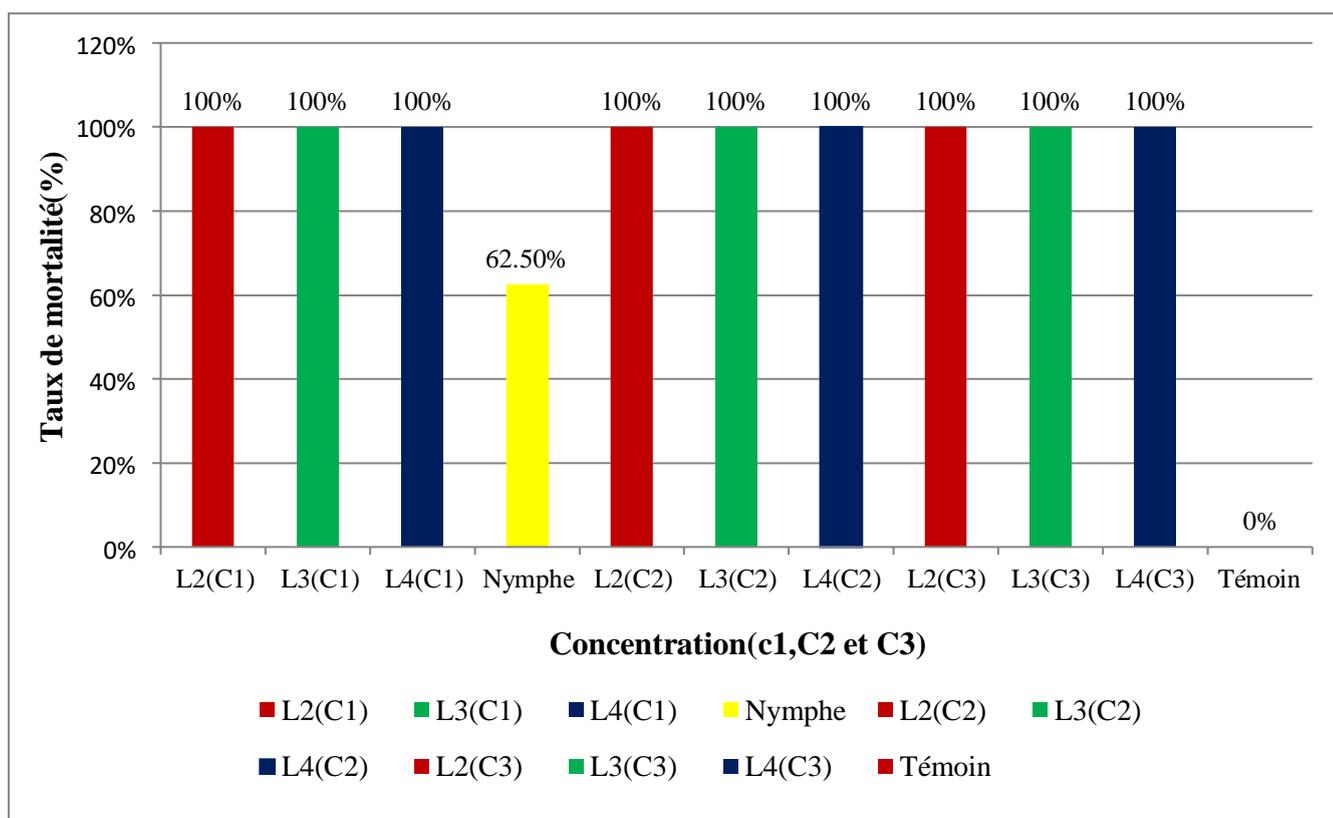


Figure 18 : Histogramme de mortalité des larves (L2, L3 et L4) et des nymphes traitées par la solution alcaloïdiques (C1, C2 et C3) de plante *Hyoscyamus niger*.

L'histogramme illustre la progression des taux de mortalité des larves (L2, L3 et L4) et des nymphes de *Culex pipiens* traitées avec différentes concentrations (C1=60mg/ml, C2=30mg/ml et C3=15mg/ml) d'un extrait alcaloïdique de la plante *Hyoscyamus niger*.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats révèlent que l'extrait alcaloïdique de *Hyoscyamus niger* provoque une mortalité significative de 100% chez les larves traitées, indépendamment de leur stade de développement (L2, L3 et L4). En revanche, le taux de mortalité observé chez les nymphes traitées s'élève à 62,5%.

L'efficacité de l'extrait alcaloïdique de *Hyoscyamus niger* est plus marquée sur les larves que sur les nymphes qui se transforment ensuite en moustiques *Culex*.

Il convient de noter que les larves témoins et les nymphes témoins utilisées pour les deux tests n'ont présenté aucun taux de mortalité, ce qui indique que la mortalité observée est due spécifiquement à l'effet des extraits alcaloïdiques.

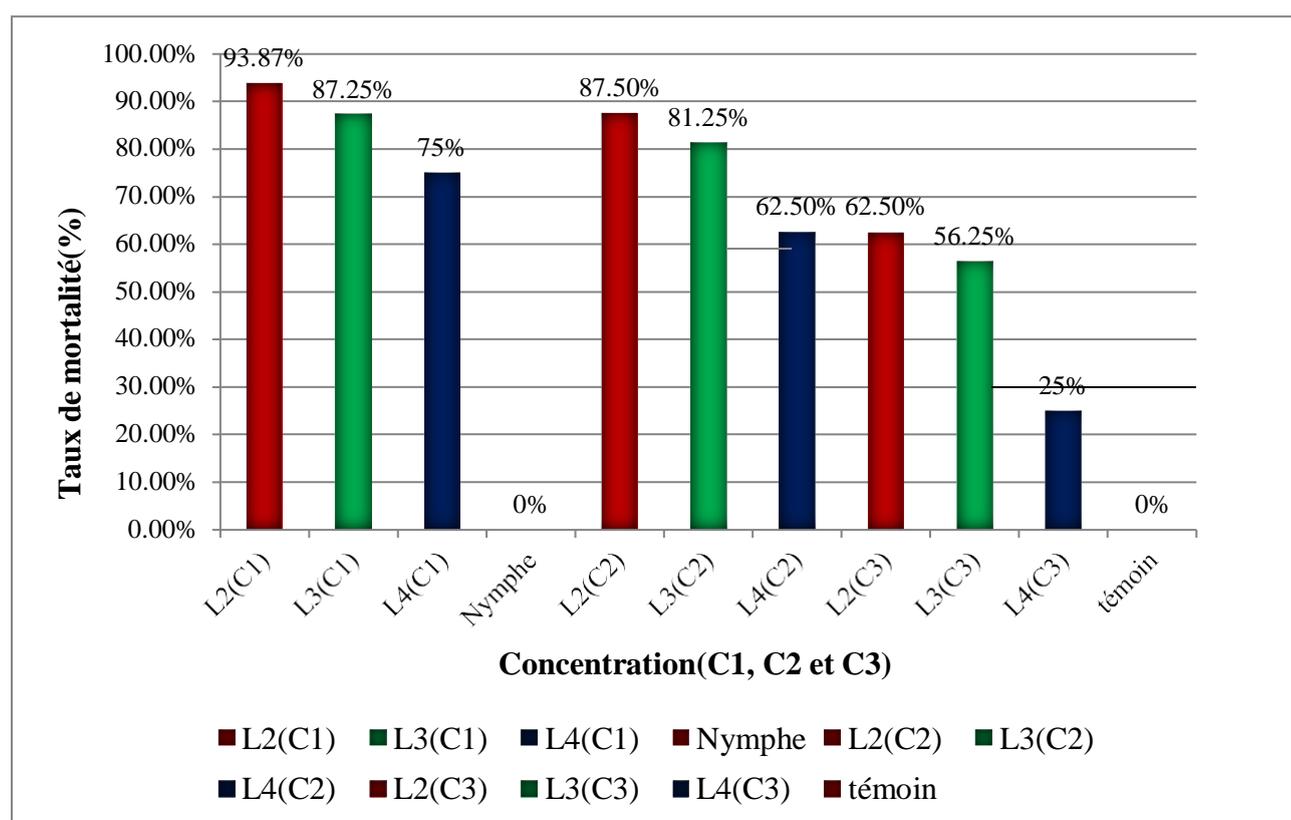


Figure 19 : Histogramme de mortalité des larves (L2, L3 et L4) et les nymphes traitées par la solution alcaloïdiques (C1, C2 et C3) de plante *Nerium oleander*.

L'histogramme présente l'évolution des pourcentages de mortalité des larves (L2, L3 et L4) et des nymphes de *Culex pipiens* qui ont été traitées avec des concentrations variables (C1=60mg/ml, C2=30mg/ml et C3=15mg/ml) d'un extrait alcaloïdique provenant de la plante *Nerium oleander*.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats révèlent que l'extrait alcaloïdique de *Nerium oleander* provoque une mortalité de 93,87% chez les larves de stade 2, 87,25% chez les larves de stade 3 et 75% chez les larves de stade 4. En revanche, le taux de mortalité observé chez les nymphes traitées s'élève à 0%. Ce qui indique que cet extrait n'est pas efficace sur les nymphes.

Il convient de noter que les larves témoins et les nymphes témoins utilisées pour les deux tests n'ont présenté aucun taux de mortalité, ce qui indique que la mortalité observée est due spécifiquement à l'effet des extraits alcaloïdiques.

Ces observations soulignent l'efficacité différenciée des deux extraits alcaloïdiques dans la lutte contre les larves de *Culex pipiens*, avec une action plus rapide et une mortalité plus élevée pour l'extrait de *Hyoscyamus niger* par rapport à l'extrait de *Nerium oleander*.

D'après les recherches menées par **Aouinty et al (2006)**, il a été démontré que les extraits des feuilles de *Nerium oleander* ont un effet larvicide sur les larves de *Culex pipiens*. Les chercheurs ont constaté qu'à la concentration la plus élevée, le taux de mortalité atteignait 100%. Ces résultats corroborent nos propres résultats, car nous avons observé un taux de mortalité élevé (93.87%) dans la concentration 1.

Selon les travaux de recherche réalisés par **Behravan et al (2017)**, les extraits de feuilles de *Hyoscyamus Niger* ont démontré leur effet larvicide sur les *Anophèles spp*, qui sont de la même famille que *Culex pipiens*. Les chercheurs ont observé qu'à la concentration la plus élevée, le taux de mortalité atteignait 100%. Ces résultats sont en accord avec nos propres constatations, puisque nous avons également observé un taux de mortalité élevé (100%) à une concentration de 1(60mg/ml)

Les deux plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander* ont des effets positifs sur la destruction des stades larvaires de *Culex pipiens* et entre les résultats obtenus, l'extrait le plus efficace pour détruire ces derniers était l'extrait des feuilles de *Hyoscyamus niger* (C1=60mg/ml).

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Behravan et al (2017)** dans leur étude sur les *Anopheles spp*. Ils ont observé que l'extrait de *Hyoscyamus niger* avait un impact plus important sur la destruction des larves d'*Anopheles spp*. Les résultats ont montré une CL50 de 0,26 ppm pour cet extrait, tandis que l'extrait de feuilles de *N.oleander* était le moins efficace avec une CL50 de 4,85 ppm.

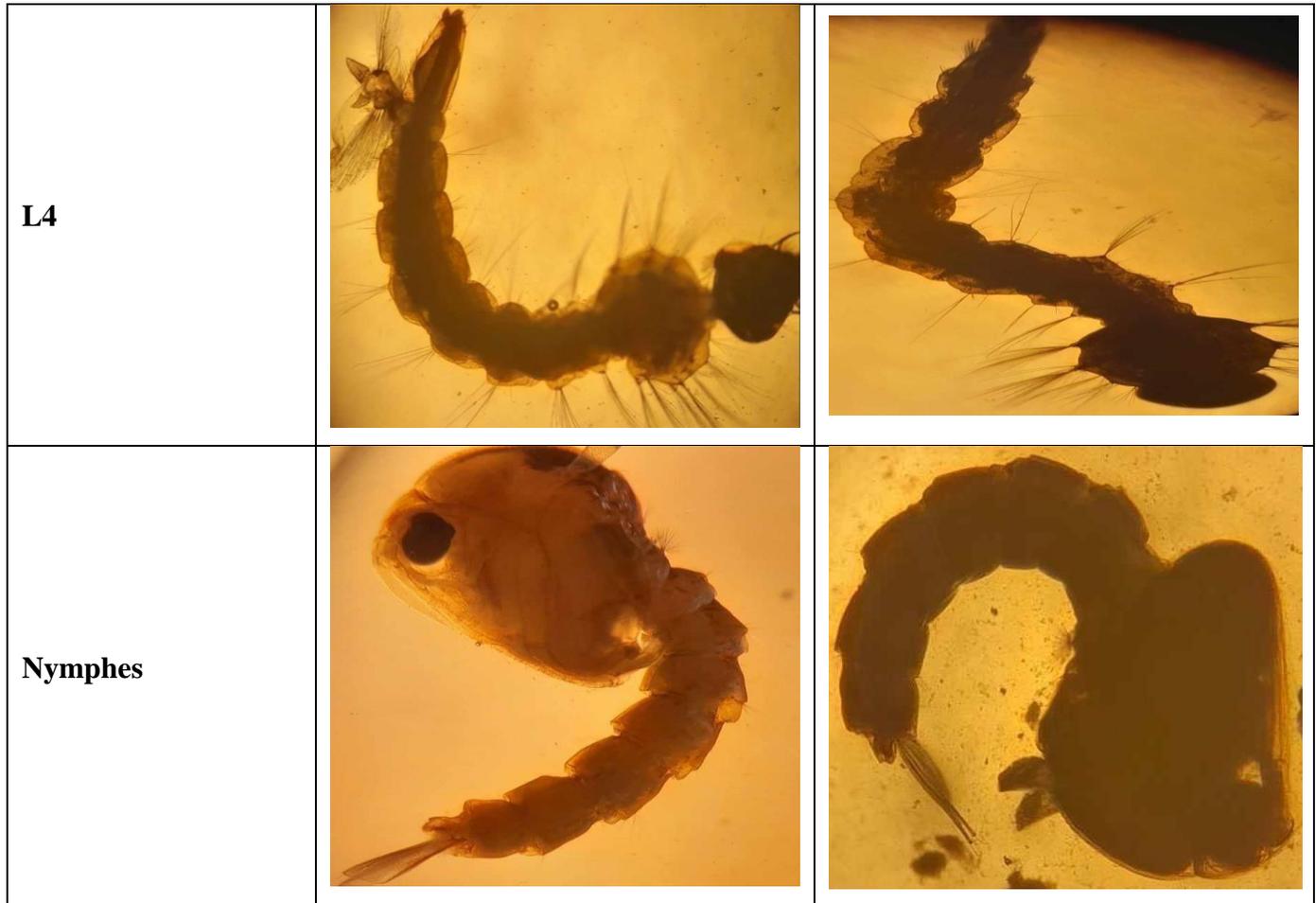
RESULTATS ET DISCUSSION

4. Symptomatologie de mortalité de *Culex pipiens*

Chez les larves et les nymphes du *Culex pipiens* traitées aux deux extraits alcaloïdiques de *H.niger* et *N. oleander*, des symptômes pareils sont observés. On assiste à une diminution des mouvements puis une mortalité. Les résultats sont présentés dans le **tableau 09**.

Tableau 09 : Effet des deux extraits alcaloïdiques des deux plantes *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander* sur les stades aquatiques du *Culex pipiens*.

Les stades larvaires	Photographie des résultats des larves et des nymphes traités par <i>H.niger</i> .	Photographie des résultats des larves et des nymphes traités par <i>N.oleander</i> .
L2		
L3		



D'après les photos présentées dans le tableau, aucune altération de la morphologie des stades aquatiques de *Culex pipiens* traités avec les extraits n'a été observée.

Des études antérieures réalisées par **Enan (2000)** et **Isman (2000)** ont démontré que l'application d'extraits de certaines plantes, comme *Laurus nobilis* qui appartient à la même famille que *Nerium oleander*, pouvait avoir des effets sur le système trachéal et le système nerveux.

De plus, des études menées par **Baharshahi et al., 2022** qui ont travaillé sur *Culex sp* ; ont montré que l'extrait de *Hyoscyamus niger* agit de manière plus significative sur le système nerveux.

5. Activité antifongique

✓ La cinétique de croissance mycélienne sous l'effet des extraits

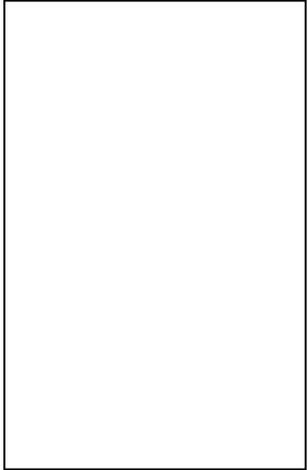
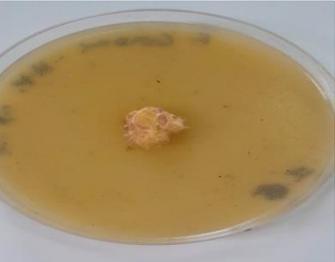
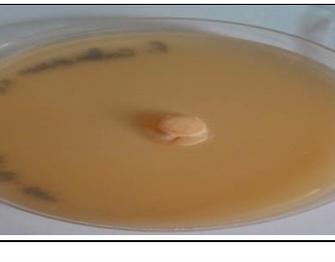
Les tests d'évaluation de l'effet des extraits chloroformiques de *N.oleander* et de *Hyoscyamus niger* sur la croissance mycélienne du *Fusarium culmorum* et *Fusarium*

RESULTATS ET DISCUSSION

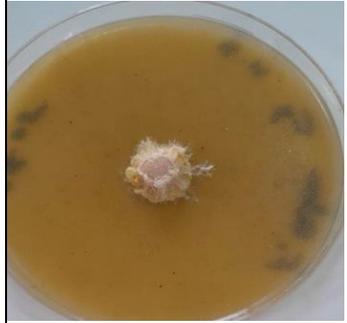
graminearum a été réalisé in vitro en utilisant la technique d'incorporation directe dans le milieu OGA.

L'activité antifongique se révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Les résultats obtenus durant notre travail sont résumés dans le **tableau 10**.

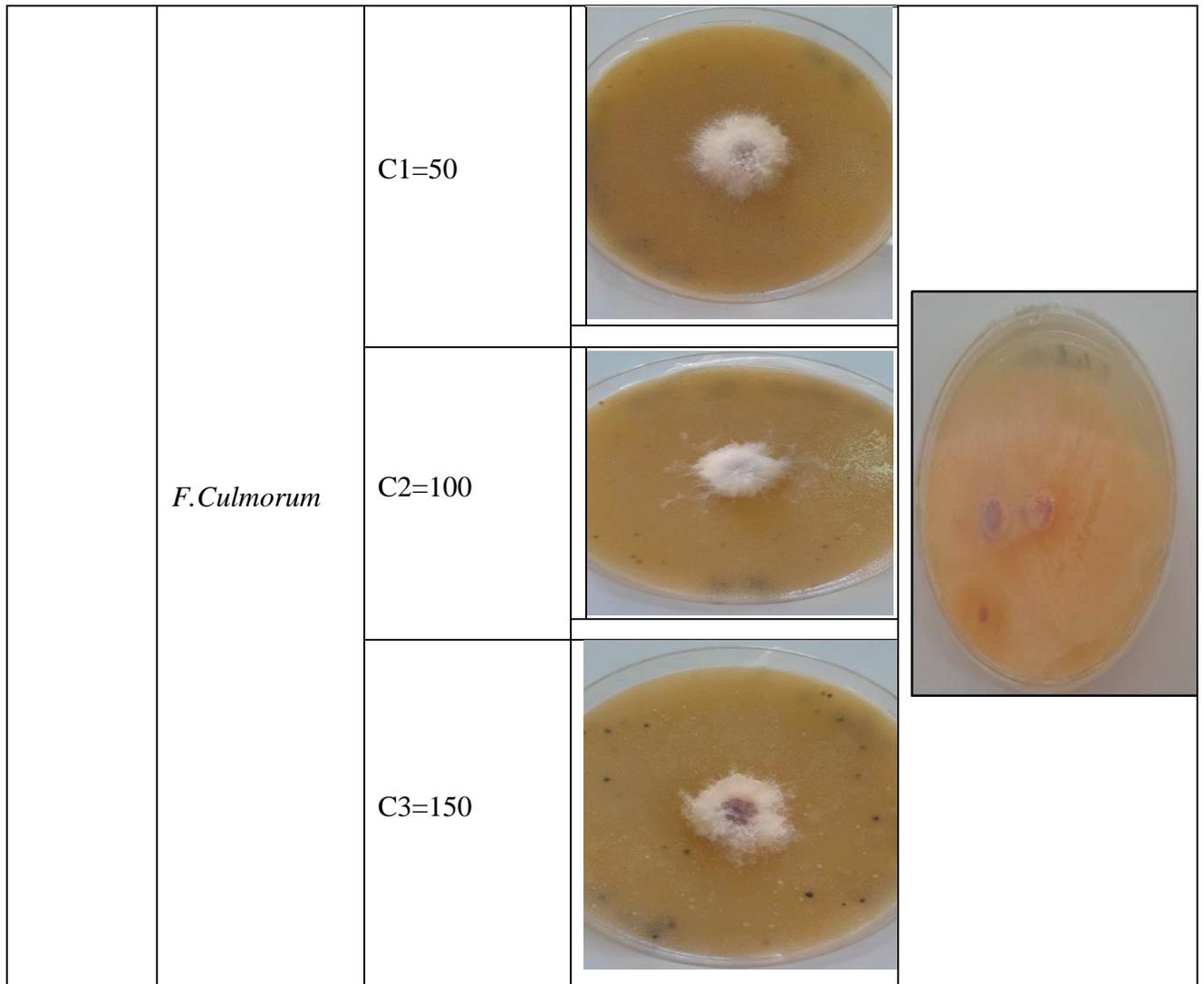
Tableau 10 : Présentant les résultats obtenus après l'application de différentes concentrations des extraits des plantes (culture de 14 jours sur milieu OGA à 30°C).

Plantes	Champignons	Concentratio (mg/ml)	Photographie des résultats	Témoins
<i>H. Niger</i>	<i>F. Graminearum</i>	C1=50		
		C2=100		
		C3=150		
	<i>F. Culmorum</i>	C1=50		

RESULTATS ET DISCUSSION

		C2=100		
		C3=150		
		C1=50		
<i>Nerium oleander</i>	<i>F.Gramineacu m</i>	C2=100		<div style="border: 1px solid black; width: 100%; height: 100%;"></div>
		C3=150		

RESULTATS ET DISCUSSION



Comme montre les figures ci-dessus, on remarque que contrairement au témoin qui a présenté une bonne croissance mycélienne qui a couvert la totalité de la surface gélosé après une période de croissance de 7 jours, les autres boites traitées par les différentes concentrations des extraits chloroformiques des deux plantes ont donné des diamètres de croissance mycélient très limités.

✓ Détermination de pourcentage d'inhibition

Le calcul du taux d'inhibition du mycélium a donné des résultats variables, ils sont résumés dans les **tableaux 11 et 12**.

RESULTATS ET DISCUSSION

Tableau 11 : Effet d'extrait de *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander* sur le champignon *Fusarium graminearum*.

Champignon	Plante	Concentration	Taux d'inhibitions
<i>Fusarium graminearum</i> .	<i>Hyoscyamus niger</i>	Témoin	100%
		C1=50mg/ml	77.46%
		C2=100mg/ml	80.28%
		C3=150mg/ml	84.51%
	<i>Nerium oleander</i>	Témoin	100%
		C1=50mg/ml	36.62%
		C2=100mg/ml	45.07%
		C3=150mg/ml	59.15%

Tableau 12 : Effet d'extrait de *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander* sur le champignon *Fusarium culmorum*.

Champignon	Plante	Concentration	Taux d'inhibitions
<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Hyoscyamus niger</i>	Témoin	100%
		C1=50mg/ml	73.97%
		C2=100mg/ml	76.71%
		C3=150mg/ml	79.45%
	<i>Nerium oleander</i>	Témoin	100%
		C1=50mg/ml	54.79%
		C2=100mg/ml	73.97%
		C3=150mg/ml	82.19%

D'après les résultats obtenus à partir des deux tableaux, nous avons observé les effets inhibiteurs de l'extrait de *Nerium oleander* et de l'extrait de *Hyoscyamus niger* sur la croissance de deux champignons, à savoir *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*.

Pour l'extrait de *Nerium oleander*, nous avons constaté les valeurs suivantes de zone d'inhibition : 36,62% pour C1, 45,07% pour C2 et 59,15% pour C3, par rapport à *Fusarium*

RESULTATS ET DISCUSSION

graminearum. Pour *Fusarium culmorum*, les valeurs correspondantes étaient de 54,79% pour C1, 73,97% pour C2 et 82,19% pour C3.

En ce qui concerne l'extrait de *Hyoscyamus niger*, nous avons observé les valeurs suivantes de zone d'inhibition : 77,46% pour C1, 82,28% pour C2 et 84,51% pour C3, par rapport à *Fusarium graminearum*. Pour *Fusarium culmorum*, les valeurs correspondantes étaient de 73,97% pour C1, 76,71% pour C2 et 79,45% pour C3.

Sur la base de ces résultats, il apparaît que *Fusarium culmorum* est plus sensible à l'extrait de *Nerium oleander* qu'à l'extrait de *Hyoscyamus niger*. En revanche, *Fusarium graminearum* est plus sensible à l'extrait de *Hyoscyamus niger* qu'à l'extrait de *Nerium oleander*.

Nos résultats sont conformes aux travaux publiés par **Siddiqui et al (2016)**, montrant que l'extrait de *Nerium oleander* s'est révélé efficace pour inhiber la croissance de *F. oxysporum*. Il convient de noter que *F. oxysporum* appartient au même genre que *F. graminearum* et *F. culmorum*, sur lesquels nous avons effectué nos recherches.

Parallèlement, une étude menée par **Arik (2017)**, a met en évidence l'efficacité de l'extrait de *Datura stramonium L*, pour inhiber la croissance de *F. oxysporum* et *F. solani*.

Il convient de noter que *F. oxysporum* appartient au même genre que *F. graminearum* et *F. culmorum*, et que *Datura stramonium* appartient à la même famille que *Hyoscyamus niger* (Solanaceae).

CONCLUSION

Dans ces dernières années, il est devenu très indispensable de rechercher des substances et de composés bioactifs d'origine naturelle à base des végétaux pour la lutte biologique contre des microorganismes pathogènes. Les plantes médicinales et aromatiques sont restées une source fiable de composants actifs en raison de leurs propriétés antifongiques, antibactériennes, antivirales et insecticides. Notre recherche vise à explorer ces molécules.

Dans cette étude, nous avons travaillé sur un extrait chloroformique renfermant des alcaloïdes obtenu à partir de deux plantes, *Hyoscyamus niger* et *Nerium oleander*, ensuite testé leurs effets antifongiques et insecticides.

Des tests phyto-chimiques préliminaires menés sur les poudres des feuilles de *N. oleander* et *H. niger* ont révélé la présence de différentes familles de composés naturels, notamment des alcaloïdes, des flavonoïdes, des tanins, des tanins galliques, des saponines, des mucilages et des irridoïdes.

L'analyse des rendements en alcaloïdes a révélé que les feuilles de *Nerium oleander* (contiennent une concentration plus élevée d'alcaloïdes par rapport à *Hyoscyamus niger* avec des valeurs respectives de 6 % et de 0,54 %).

Les résultats de nos travaux ont démontré que l'extrait alcaloïde de *Hyoscyamus niger* présent une activité insecticide significative contre les insectes *Culex pipiens* dès le premier jour de traitement cependant, l'extrait alcaloïdique de *Nerium oleander* a montré une efficacité légèrement inférieure à celle de l'extrait de *H. niger*.

De plus, notre étude a révélé une activité antifongique des extraits alcaloïdiques de *N. oleander* et de *H. niger*. Ces extraits ont donné un effet sur *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum*. Les deux souches fongiques montrent une augmentation de sensibilité en fonction de l'augmentation de la concentration de l'extrait.

En conclusion, les résultats globaux sont encourageants et suggèrent la possibilité d'utiliser les alcaloïdes de *H. niger* et *N. oleander* comme base d'une lutte biologique respectueuse de l'environnement contre les organismes pathogènes.

Cependant, cette étude est préliminaire, et il serait intéressant de poursuivre la recherche avec les objectifs suivants :

- Extraction des alcaloïdes responsables de l'activité antifongique et insecticide par des méthodes plus simples et plus rapides que celles employées dans cette étude.

- Explorer d'autres parties des plantes telles que les tiges, les racines, les fleurs et les fruits.
- Déterminer et caractériser des molécules responsables de l'activité antifongique et insecticide.
- Effectuer une analyse phyto-chimique plus détaillée pour améliorer encore la compréhension de la composition chimique des deux espèces végétales.
- Poursuivre les recherches sur ces deux plantes pour isoler, purifier et identifier d'autres métabolites secondaires présents dans ces plantes.
- Faire des études histologiques pour comprendre le mécanisme d'action des extraits sur les insectes.
- Elaborer deux substances chimiques analogues aux substances végétales étudiées.
- Elargir l'étude vers d'autres espèces de champignons et d'insectes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

- Abbott, W. S. (1992). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. econ. Entomol*, 18(2), 265-267.
- 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. ABM-DITEPACUAC, Cotonou. 79p.
- Alcamo E. I.(1984).Fundamentals of Microbiology. Edition Addison-Wesly publishing company , London p. 310-341 ; 617-699.
- Alizadeh, A., Moshiri, M., Alizadeh, J., & Balali-Mood, M. (2014). Black henbane and its toxicity—a descriptive review. *Avicenna journal of phytomedicine*, 4(5), 297.
- Al-Obaidi, O. (2014). Études sur l'activité antibactérienne et anticancéreuse des extraits de *Nerium oleander*. *Eur Chem Bull* , 3 (3), 259-62.
- Alongi, DM (2014). Cycle et stockage du carbone dans les forêts de mangrove. *Revue annuelle des sciences marines*, 6, 195-219.
- Amiard, J. C. (2011). Les risques chimiques environnementaux. Méthodes d'évaluation et impacts sur les organismes. Lavoisier.
- Andreo, V. (2003). L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampooing à 0, 07% de deltaméthrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens* (Doctoral dissertation).
- ANONYME. (1983). Informal consulatation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F., & Mahari, S. (2006). Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *BASE*. 10 (2), 67 – 71.
- Arik, Ü. Ö. (2017). Les effets antifongiques de *Datura stramonium* L., *D. metel* l., *D. innoxia* mill. dans la flore de Turquie. *Mugla Journal of Science and Technology* , 3 (2), 96-103.
- Askun, T. (2018). Introductory chapter: *Fusarium*: pathogenicity, infections, diseases, mycotoxins and management. *Fusarium: Plant Disea*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Autrey, J. C. (2005). Flore des Mascareignes: la Réunion, Maurice, Rodrigues. Apocynacées à Boraginacées (Vol. 121). IRD Editions.
- Azondekon, R. (2006). Contrôle de qualité des moustiques imprégnés commercialisée, Mémoire Fin. Et. Univ. Benin, 78-90

B

- Bailey, J., Cooke, M., & Xiangming, Xu. (2003). Influence of climatic factors on Fusarium species pathogenic to cereals. Epidemiology of Mycotoxin Producing Fungi: 646.
- Baharshahi, A., Vaezi-Kakhki, M. et Behravan, M. (2022). Comparaison de l'effet larvicide de l'extrait au méthanol des parties aériennes de plantes de laurier-rose (*Nerium oleander* L.) et de jusquiame (*Hyoscyamus niger* L.) sur les larves de *Culex* spp. Pars Journal of Medical Sciences, 14 (4), 25-33.
- Bakir Çilesizoğlu, N., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K. et Sipahi Kuloğlu, S. (2022). Criblage phytochimique qualitatif et quantitatif d'extraits de *Nerium oleander* L. associés à ses, Pathogen Diversity, Genetic Diversity, Resistance and Molecular Markers, 2-12.
- Balenghien T., 2009 -Lutte chimique contre les Culicoides au cours de la journée d'information et d'échanges sur la fièvre catarrhale ovine organisée par le Réseau Français pour la Santé Animale, France, 18-12.
- Becker N., Pertric D., Zgomba M., Boase C., Lane J. et Kaiser A. (2003). Moustiquitoes and their control.
- Behravan M, Vaezi-Kakhki M., Baharshah A. (2017). Comparaison de l'effet larvicide de l'extrait au méthanol des parties aériennes de la jusquiame (*Hyoscyamus niger* L.) et Oleander (*Nerium laurier-rose* L.) plantes sur *Anophèles* spp. Larves (Diptera : Culicidae) in Vitro. zehedan J Res Med Sci, 19(3), 05.
- Behravan, MR, Baharshahi, A., Vaezi-Kakhki, M. et Naghizadeh, A. (2017). Comparaison de l'effet larvicide de l'extrait méthanolique des différentes parties de la plante jusquiame (*Hyoscyamus niger* L.) sur les larves d'*Anopheles* spp in vitro. Archives des sciences de l'hygiène , 6 (3), 288-293.
- Benhissen, S., Habbachi, W., & Ouakid, M. L. (2017). Biodiversité et répartition des moustiques (Diptera: Culicidae) dans les oasis de la région de Biskra (Sud-est Algérien). Algerian journal of arid environment, 7(1), 96-101.
- Berchi, S. (2000). Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Université de Constantine (Algérie), 133.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Berchi, S., & Louadi, K. (2007). Caractérisation de la résistance de *Culex pipiens* L., 1758, au malathion (organophosphoré) et détection des gènes de résistance (Diptera, Culicidae). *Bulletin de la Société entomologique de France*, 112(1), 99-104.
- Bhat, S. V.; Nagasampagi, B. A. et Sivakumar, M. (2005). *Chemistry of Natural Products*. Narosa, New Delhi. India. 237-872.
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bruneton, J. (1999). *Plantes toxiques dangereuses pour l'homme et les animaux*. Interception limitée, 545.
- Bruneton, J. (2009). "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd." Lavoisier, Paris. 938.
- Bruneton, J. (2009). "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd." Lavoisier, Paris. 953.
- Bruneton, J. (2009). "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd." Lavoisier, Paris, 1288.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd.* Lavoisier, Paris, 784-873.
- Btissam, M., Amina, O. T., & Allal, D. (2013). Effet du compost et de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate. *Journal of Applied Biosciences*, 70, 5531-5543.
- Bussieras, J., & Chermette, R. E. N. É. (1991). *Parasitologie vétérinaire. Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA*, 58-61.
- Bussieras, J., & Chermette, R. E. N. É. (1991). *Parasitologie vétérinaire. Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA*, 58-61.

C

- Carter, JP, Rezanoor, HN, Desjardins, AE et Nicholson, P. (2000). Variation des isolats de *Fusarium graminearum* du Népal associée à leur hôte d'origine. *Pathologie végétale*, 49 (4), 452-460.
- Chabasse, D., Bouchara, J. P., De Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., & Penn, P. (2002). *Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation*, (78).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chaudhari, A., & Singh, B. (2023). IJAMS I International Journal of Ayurveda & Medical Sciences A Critical Review of Karvira (*Nerium indicum* moulin).
- Couplan, F. (2015). Les plantes sauvages comestibles et toxiques, 375-376.

D

- De Aquino, A. B., Cavalcante-Silva, L. H. A., da Matta, C. B. B., Epifânio, W. A. D. N., Aquino, P. G. V., Santana, A. E. G., ... & de Araújo-Júnior, J. X. (2013). The antinociceptive and anti-inflammatory activities of *Aspidosperma tomentosum* (Apocynaceae). *The Scientific World Journal*, 2013.
- Després, J. (2012). *L'univers des champignons*. Les Presses de l'Université de Montréal.
- Dewick, P. M. (2002). *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons. 550.
- Dih, A., & Belguendouz, A. (2022). Contribution à l'étude phytochimique et évaluation du pouvoir antioxydant des alcaloïdes extraits d'*Osyris alba* L, récoltée au niveau de la région de Beni-Snousse-Tlemcen (Doctoral dissertation).
- Djilani, A., Legseir, B., Soulimani, R., Dicko, A. et Younos, C. (2006). Nouvelle technique d'extraction des alcaloïdes. *Journal de la société chimique brésilienne*, 17, 518-520.
- Djilani, A., Legseir, B., Soulimani, R., Dicko, A., & Younos, C. (2006). New extraction technique for alkaloids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17, 518- 520.

E

- Egamberdieva, D. and A. Tiezzi (2019). *Medically important plant biomes : source of secondary metabolites*, Springer.
- Egamberdieva, D., & Tiezzi, A. (Eds.). (2019). *Medically important plant biomes: source of secondary metabolites*. Singapore : Springer.
- El-Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., & Bengueddour, R. (2018). Screening phytochimique d'une plante médicinale : *Mentha spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 7, 226-233.
- El-Sayed, SH, & El-Bassiony, GM (2016). Effets larvicides, biologiques et génotoxiques, et relation température-toxicité de certains extraits de feuilles de

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Nerium oleander (Apocynaceae) sur Culex pipiens (Diptera : Culicidae). Journal des maladies transmises par les arthropodes , 10 (1), 1.

F

- François, C., & Eva, S. (2013). Le guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Edition, 3, 415.
- François, C., & Eva, S. (2013). Le guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Edition, 3, 383.
- Funayama, S., & Cordell, G. A. (2014). Alkaloids Derived from Phenylalanine and Tyrosine : Elsevier.

G

- Garima, Z., & Amla, B. (2010). A review on chemistry and pharmacological activity of Nerium oleander L. Journal of chemical and pharmaceutical research, 2(6), 351- 358.
- Gilbert, J., & Tekauz, A. (1995). Effets de la fusariose de l'épi et du traitement des semences sur la germination, la levée et la vigueur des semis de blé de printemps. Journal canadien de phytopathologie , 17 (3), 252-259.
- Goislard, C. (2012). Les répulsifs anti-moustiques à l'officine (Thèse d'exercice de Pharmacie) (Thèse de doctorat, Université d'Angers).
- Grover, R. K., & Moore, J. D. (1962). Toximetric studies of fungicides against brown rot organisms, Sclerotinia-fructicola and s-laxa. Phytopathology, 52(9), 876.
- Gupta, P. K. (2018). Pesticides (agrochemicals). Illustrated Toxicology, with Study Questions; Academic Press: London, UK, 165-194.

H

- Hamiche, A., & Ait Yahia, S. (2017). Les Réactions Multi-Composantes Types Biginelli (Doctoral dissertation, UMMTO).
- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., & GOETZ, P. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen (p. 256). Springer Paris.
- Hammiche, V., Merad, R., Azzouz, M., & GOETZ, P. (2013). Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen (p. 255). Springer Paris.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Heit S (2015). Identification de fusarium et détection des mycotoxines associées par maldi-tof. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine.
- Hocquette, A., Grondin, M., Bertout, S., & Mallié, M. (2005). Les champignons des genres acremonium, beauveria, chrysosporium, fusarium, onychocola, paecilomyces, penicillium, scedosporium et scopulariopsis responsables de hyalohyphomycoses. *Journal de mycologie médicale*, 15(3), 136-149.

I

- Iserin, P., et al. (2001). "La rousse encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} édition." Paris. 335p.

J

- Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, (4^e éd.). Lavoisier.
- Jeunot B (2005). Les fusariotoxines sur feracéréales : détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse de doctorat Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.

K

- Kadri, M., & Yahia, A. (2015). Contribution à l'étude de l'effet des facteurs environnementaux sur l'accumulation des glycosides chez *Nerium oleander* L. *Journal of Bioressources Valorization*, 26.
- Kettle, D.S.(1995). *Medical and Veterinary Entomology*. 2^e édition. Wallingford : CAB international. 725.
- Kettle, DS. (1995). *Entomologie médicale et vétérinaire*. 2^e édition. Wallingford : CAB international. 725.
- Khallili Adel Raouk.M..(2001). Phytofungitoxic proprieties with aqueous extract of some plants. *Pakistan journal of biological sciences* 4 (4) ,392-394.
- Khare, CP (2008). *Plantes médicinales indiennes : un dictionnaire illustré*. Springer Science et médias d'affaires. 328-330.
- Kiran, C., & Prasad, DN (2014). Un avis sur : *Nerium oleander* Linn.(Kaner). *Journal international de pharmacognosie et de recherche phytochimique*, 6 (3), 593-597.
- Kiran, C., & Prasad, DN (2014). Un avis sur : *Nerium oleander* Linn.(Kaner). *Journal international de pharmacognosie et de recherche phytochimique*, 6 (3), 593-597.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Klowden, MJ (1990). La régulation endogène du comportement reproducteur des moustiques. *Expérientia*, 46, 660-670.
- Küpeli Akkol, E., Ilhan, M., Kozan, E., Gurağaç Dereli, FT, Sak, M., & Sobarzo-Sánchez, E. (2020). Activité insecticide de *hyoscyamus niger* L. sur *lucilia sericata* provoquant des myiases. *Plantes*, 9 (5), 655.

L

- Limoges. (2002). Les moustiques *Culex pipiens* Diptères Nématocères Culicides.77.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A., & Perrone, G. (2003). Epidémiologie des champignons toxigènes et de leurs mycotoxines associées pour certaines cultures méditerranéennes. *Épidémiologie des champignons producteurs de mycotoxines : sous l'égide de l'action COST 835 "Champignons toxigéniques d'importance agricole 1998–2003"*, projet de l'UE (QLK 1-CT-1998–01380), 645-667.

M

- Ma, LJ, Geiser, DM, Proctor, RH, Rooney, AP, O'Donnell, K., Trail, F., ... et Kazan, K. (2013). Pathogénie du *Fusarium*. *Revue annuelle de microbiologie*, 67, 399-416.
- Marin-Felix, Y., Groenewald, J. Z., Cai, L., Chen, Q., Marincowitz, S., Barnes, I., & Crous, P. W. (2017). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. *Studies in mycology*, 86, 99-216.
- Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M., Iturrieta-González, I., García, D., Gené, J., Groenewald, J. Z., ... & Crous, P. W. (2019). Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. *Studies in mycology*, 94, 1-124.
- Mauler-Machnik, A., & Suty, A. (1997). Nouvelles découvertes sur l'épidémiologie, l'importance et le contrôle de la fusariose de l'épi sur le blé. *Communications de recherche sur les céréales*, 25, 705-709.
- Moulisma, M., Lacassie, É., Boudre, I., Gaulier, J. M., Delafosse, B., & Lardet, G. (2000). A propos d'un cas d'intoxication volontaire au Laurier rose (*Nerium oleander* L., Apocynaceae). In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 12, No. 2, pp. 122- 130). EDP Sciences.

O

- Ouahas R., Devalez B. (1988). *Chimie generale 4 éme édition*. Édition : OPU, Alger .Pblisud, Paris P. 504.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

P

- Paul, PA, Lipps, PE, Hershman, DE, McMullen, MP, Draper, MA et Madden, LV (2008). Efficacité des fongicides à base de triazole pour la lutte contre la fusariose de l'épi et le désoxynivalénol dans le blé : une méta-analyse multivariée. *Phytopathologie*, 98 (9), 999-1011.
- Peng, Y., Li, SJ, Yan, J., Tang, Y., Cheng, JP, Gao, AJ, & Xu, BL (2021). Avancées de la recherche sur les champignons phytopathogènes et leur rôle en tant qu'agents de lutte biologique. *Frontières en microbiologie*, 12, 670135.
- Philogène, B. J. R. (1991). L'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes : problèmes et perspectives. In *La lutte anti-acridienne* (pp. 269-278).

R

- Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2000). *Biologie végétale*. 6e édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université - Paris, 944p.
- Rhattas, M., Douira, A., & Zidane, L. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales dans le Parc National de Talassemtane (Rif occidental du Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 97, 9187-9211.
- Richter, G. (1993). Les composés phénoliques métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie). Editions Dunod, 317-339.
- Robert, V., & Carnevale, P. (2009). Les anophèles : biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD Éditions.389.
- Roth, M. (1974). *Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes*. Orstom.
- Rotimi, VO, Laughon, BE, Bartlett, JG et Mosadomi, HA (1988). Activités des extraits de bâtonnets à mâcher nigériens contre *Bacteroides gingivalis* et *Bacteroides melaninogenicus*. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 32 (4), 598-600.

S

- Salvatore, M. M., & Andolfi, A. (2021). Phytopathogenic fungi and toxicity. *Toxins*, 13(10), 689.
- Schaffner E., Angel G., Geoffroy B., Hervy J., Rhaïem A., et Brunhes J. (2001). Les moustiques d'Europe. Logiciel d'identification et d'enseignement de I. R. D., Montpellier.9 : 7099-1485.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Séguy, E. (1950). La biologie des Diptères. Encyclopedie Entomologique (A), 26.
- Sharma, AK, et Sharma, A. (éd.). (2022). Métabolites secondaires des plantes : propriétés physico-chimiques et applications thérapeutiques. Springer Nature.
- Siddiqui, I., Bokhari, NA, & Perveen, K. (2016). Capacité antifongique de Nerium oleander contre Fusarium oxysporum, Sclerotium rolfsii et Macrophomina phaseolina. JAPS : Journal des sciences animales et végétales, 26 (1), 271.
- Singh, A. (2022). "Secondary Metabolites: Definition, Classes, and Functions (Part-1). "Plant Cell Technology | Your Partner in Plant Tissue Culture.

T

- Thangavelu, R., Palaniswami, A., & Velazhahan, R. (2004). Mass production of Trichoderma harzianum for managing fusarium wilt of banana. Agriculture, ecosystems & environment, 103(1), 259-263.
- Tian, L. (2015). Utilisation des racines velues pour la production de précieux métabolites secondaires végétaux. Filaments dans les bioprocédés, 275-324.

V

- Vazhacharickal, PJ, Mathew, N. et Habel, B. (2017). Etude in vitro sur l'activité cosmétique du Nerium oleander sur les boutons . Prem José.
- Vollhardt, K. P. C., & Schore, N. E. (2011). Organic chemistry: structure and function. Macmillan. , 6ème éd. Springer, paris.1191.

W

- Wall, R., & Shearer, D. (1997). Entomologie vétérinaire : Arthropodes ectoparasites d'importance vétérinaire. Springer Science et médias d'affaires.88-191.
- Walther, G., & Kurzai, O. (2020). Fusarium. Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, 833-836.
- Willstätter, R., et al. (2023). "Alkaloid. Definition, Structure, & Classification. " Encyclopedia Britannica.

Y

- Yarou, B. B., Silvie, P., Assogba Komlan, F., Mensah, A., Alabi, T., Verheggen, F., & Francis, F. (2017). Plantes pesticides et protection des cultures maraichères en Afrique de l'Ouest (synthèse bibliographique). Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 21(4).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Yogeshwari L. Ghule, Ravindra S. Jadhav, Dattaprasad N. Vikhe, Akshada G. Waghchaure.(2022). Pharmacognostical study and Biological potential of Nerium oleander Linn. International Journal of Advanced Research in Science, Communication and Technology (IJARSCT), 2(1), 345.
- Yubin, J. I., Miao, Y., Bing, W., & Yao, Z. (2014). The extraction, separation and purification of alkaloids in the natural medicine. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 6(1), 338-345.
- Yubin, JI, Miao, Y., Bing, W. et Yao, Z. (2014). L'extraction, la séparation et la purification des alcaloïdes dans la médecine naturelle. Journal de recherche chimique et pharmaceutique, 6 (1), 338-345.

ANNEXES

Tableau 01 : liste du matériel non biologique utilisé pendant l'expérimentation.

Appareils	Verrerie et petit matériel	Réactifs et produits chimiques
Balance Réfrigérateur Plaque chauffante Agitateur magnétique Autoclave Bain marie Bec bunsen Loupe Etuve Rota vapeur	Becher Fioles Tubes à essai Boîtes de pétri Papier filtre Coton Embouts Micropipettes passoire Ampoule à décantier 250ml Fiole 250 ml, 500ml Erlenmeyer Eprouvette Entonnoirs Papier wattman 01 Pipettes Pasteur Entonnoirs Gobelets , Biscuit	Ethanol chloroforme Ammoniaque acétate de sodium n-hexane, acide acétique Fecl3 HCL H2SO4 Dragendorff KOH Milieu OGA

1. Milieu de culture

➤ Milieu OGA

Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Agar bactériologique	15 g
Ph.....	7
Eau distillé.....	1000ml

Tableau 02 : Les mortalités enregistré des larves et nymphes traité par *Hyoscyamus Niger*.

La plante	Stade larvaire	concentration	1 ^{er} jour	2 ^{ème} jour	3eme jour	4 ^{ème} jour	Total
<i>Hyoscyamus Niger</i>	L2	C1	$7+8/2=7.5$	1			8 100%
		C2	$8+8/2=8$				8 100%
		C3	$8+8/2=8$				8 100%
	L3	C1	$7+8/2=7.5$	1			8 100%
		C2	$8+5/2=6.5$	3			8 100%
		C3	$7+6/2=6.5$	$1+2/2=1.5$			8 100%
	L4	C1	$8+7/2=7.5$	1			8 100%
		C2	$8+8/2=8$				8 100%
		C3	8				8 100%

Tableau 03 : Les mortalités enregistré des larves et nymphes traité par *Nerium Oleander*.

La plante	Stade larvaire	concentration	1 ^{er} jour	2 ^{ème} jour	3eme jour	4 ^{ème} jour	Total
<i>Nerium Oleander</i>	L2	C1	$4+2+2=3$	$1+1/2=1$	$1+3/2=2$	$1+2/2=1.5$	93.75%
		C2	$4+1/2=2.5$	$2+3/2=2.5$	$1+1/2=1$	$1+1/2=1$	87.5%
		C3	$3+3/2=3$	$1+0/2=0.5$	$1+1/2=1$	$1+1+2/2=1$	68.75%
	L3	C1	$6+3/2=4$	$2+0/2=1$	$1+0/2=0.5$	$2+1/2=1.5$	87.5%
		C2	$3+5/2=4$	$1+1/2=1$	$1+1/2=1$	$0+1/2=0,5$	82.%
		C3	$1+3/=2$	$3+1/2=2$	$1+0+/=0.5$	0	56.25%
	L4	C1	2	1	1	2	75%
		C2	1	0	3	1	62.5%
		C3	0	0	2	0	25%
	Nymphe	C1	0	0	0	0	0%

Tableau 04 : L'effet des extraits des plantes sur les deux champignons

Plante	Champignon	Concentration	Taux d'inhibition
Hyoscyamus Niger	<i>Fusarium culmorum</i>	C1=50mg /ml	$7,3-1,9/7,3 \times 100 = 73,97\%$
		C2=100mg /ml	$7,3-1,7/7,3 \times 100 = 76,71\%$
		C3=150mg /ml	$7,3-1,5/7,3 \times 100 = 79,45\%$
	<i>Fusarium Graminearum</i>	C1=50mg /ml	$7,1-1,6/7,1 \times 100 = 77,46\%$
		C2=100mg /ml	$7,1-1,4/7,1 \times 100 = 80,28\%$
		C3=150mg /ml	$7,1-1,1/7,1 \times 100 = 84,51\%$
<i>Nerium Oleander</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	C1=50mg /ml	$7,3-1,3/7,3 \times 100 = 82,19\%$
		C2=100mg /ml	$7,3-1,9/7,3 \times 100 = 73,97\%$
		C3=150mg /ml	$7,3-3,3/7,3 \times 100 = 54,79\%$
	<i>Fusarium Graminearum</i>	C1=50mg /ml	$7,1-4,9/7,1 \times 100 = 36,62\%$
		C2=100mg /ml	$7,1-3,9/7,1 \times 100 = 45,07\%$
		C3=150mg /ml	$7,1-2,9/7,1 \times 100 = 59,15\%$

