



### République Algérienne Démocratique et Populaire

#### Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université - Batna 1 -

Faculté des Sciences

#### Institut des Sciences Vétérinaires et des Sciences Agronomiques

#### Département d'Agronomie

### **MÉMOIRE**

Pour l'Obtention du Diplôme de Magistère en Agronomie Spécialité: Protection des Végétaux

Option: Entomologie Agricole et Forestière

Par: Mme. MAZOUZ-ROUABAH EL KHAMSSA

#### **THEME**

Bioprospection des potentialités aphicides des champignons endophytes, à l'égard des deux aphides; *Aphis fabae* et *Aphis pomi* (Hemiptera, *Aphididae*)

#### Commission d'examen:

LAAMARI M.	Prof.	Université de Batna	Président
LOMBARKIA N.	Prof.	Université de Batna	Rapporteur
BEN HALIMA-KAMEL M.	Prof.	Institut supérieur	
		agronomique de Chott	
		Meriem (Sousse) Tunisie	Examinateur
MEBARKIA A.	M. C. A	Université de Sétif	Examinateur
BENSACI O. A.	M. A. A	Université de Batna	Invité

Année universitaire: 2015-2016

## Table des matières

Dédicaces	Page
	•
Remerciements	
Liste des tableaux	
Liste des figures	111
Introduction générale	1
CHAPITRE I: Revue bibliographique	
I.1. Les champignons endophytes	3
I.1.1. Définition	3
I.1.2. Taxinomie et diversité	4
I.1.3. Transmission	6
I.1.3.1. Transmission verticale	6
I.1.3.2. Transmission horizontale	6
I.1.4. Rôle des endophytes	6
I.1.4.1. Rôle physiologique dans les plantes-hôtes	7
I.1.4.2. Protection contre les micro-organismes pathogènes et les	
herbivores	8
I.1.4.3. Protection contre les insectes	9
I.1.5. Champignons endophytes comme sources de produits naturels	
bioactifs	10
I.1.5.1. Champignons endophytes comme sources de substances	
antimicrobiennes	11
I.1.5.2. Champignons endophytes comme sources de substances	
antivirales	13
I.1.5.3. Champignons endophytes comme sources de substances	
anticancéreuses	14
I.1.5.4. Champignons endophytes comme sources de substances anti-	
oxydantes	17
I.1.5.5. Autres activités des champignons endophytes	17
I.2. Le faux-poivrier «Schinus molle L.»	20
I.2.1. Position taxonomique	20

I.2.2. Aire de répartition	20
I.2.3. Caractéristiques botaniques	21
I.2.4. Croissance	24
I.2.5. Ecologie	24
I.2.6. Importance ethnobotanique	24
I.2.6.1. Vertus pharmaceutiques	25
I.2.6.2. Vertus agrochimiques	25
I.3. Le Harmel «Peganum harmala L.»	27
I.3.1. Caractéristiques de l'espèce	27
I.3.2. Position taxonomique	30
I.3.3. Aire de répartition	30
I.3.4. Importance phytochimique	31
I.3.5. Ecologie	31
I.3.6.Importance ethnobotanique	32
I.3.6.1. Vertus pharmaceutiques	32
I.3.6.2. Vertus agrochimiques	33
I.4. Le puceron vert du pommier «Aphis pomi De Geer, 1773»	34
I.4.1. Systématique	34
I.4.2. Description	34
I.4.3. Plantes-hôtes	34
I.4.4. Biologie	35
I.4.5. Dégâts	35
I.5. Le puceron noir de la fève «Aphis fabae Scopoli, 1763»	37
I.5.1. Systématique	37
I.5.2. Description	37
I.5.3. Plantes-hôtes	37
I.5.4. Biologie	38
I.5.5. Dégâts	38
CHAPITRE II: Matériel et méthodes	
II.1. Matériel biologique	40
II.1.1. Matériel végétal	40
II.1.1.1 Plantes sources prospectées	40

II.1.1.2. Plantes-hôtes d'élevage
II.1.2. Matériel animal (organismes cibles)
II.1.3. Autres matériels
II.1.3.1. Appareils et verreries
II.1.3.2. Produits et réactifs chimiques
<b>II.2. Méthodes</b>
II.2.1. La stérilisation superficielle
II.2.2. Mise en culture
II.2.2.1. La fréquence de colonisation (FC)
II.2.2.2. L'identification des mycotaxons
II.2.2.3. Choix des mycotaxons candidats pour la mise en évidence de
l'activité aphicide44
II.2.3. Culture en masse (fermentation submergée)
II.2.4. Dispositif expérimental
II.2.4.1. Calcul du taux de mortalité
II.2.4.2. Paramètres étudiés
II.2.5. L'induction de l'activité protéolytique47
II.2.6. Croissance moyenne des colonies
II.2.7. Analyse des données
CHAPITRE III: Résultats et Discussion
III.1. Mise en évidence de la mycoflore endophyte chez le faux-poivrier et le
Harmel
III.2. Composition spécifique des isolats fongiques endophytes détectés chez
les deux espèces végétales
III.3. Discussion
III.4. Mise en évidence de l'activité aphicide des filtrats fongiques vis-à-vis les
deux espèces aphidiennes <i>Aphis fabae</i> et <i>A. pomi</i>
III.5. Effet de la concentration des filtrats fongiques sur leurs activités aphicides55
III.6. Evolution des taux de mortalité chez <i>A. pomi</i> en fonction du gradient de
concentration des filtrats
III.7. Discussion
III.8. Evolution de la croissance radiale des colonies fongiques
III.9. Mise en évidence de l'activité protéolytique des mycotaxons testés67

#### Table des matières

III .10. Discussion	69
III.11. Relation entre la croissance radiale des colonies fongiques et l'activité	
protéolytique des mycotaxons endophytes	72
III.12. Discussion	79
Conclusion générale	82
Références bibliographiques	85
Annexes	106

# **DEDICACES**

«A mes très chers parents, pour leurs aide, soutien moral et leurs encouragements tout au long de mes années d'études, que Dieu les protège».

A la fleur de notre maison, mon petit frère «FIRAS».

A mon marí «FATEH»

A mes très chers frères et mes très chères sœurs, pour lesquels je souhaite une longue vie pleine de joie, de santé et de bonheur, que Dieu les garde.

A ma deuxième famille; «mes beaux parents, les frères et les sœurs» que Dieu les garde et que la vie nous unisse à jamais.

A mes très chères amíes; «SALIMA, FARIDA, MIMA, HANA, SAMIA et NADO».

.....Je dédie ce modeste travail

#### REMERCIEMENTS

Tout d'abord je remercie  $\mathcal{D}ieu$  notre créateur, pour la volonté, la santé et la patience qu'il ma donné durant toutes ces années d'étude, afin je puisse en arrive là.

A l'issue de ce travail de recherche, je tiens tout particulièrement à remercier mon rapporteur de thèse, **Mme. BOUTI-LOMBARKIA NADIA**, professeur au département d'Agronomie - université de Batna -, pour avoir accepté de diriger avec beaucoup d'attention et de soin cette thèse. Grâce à son appui moral, sa disponibilité exceptionnelle, sa bienveillance, et d'avoir prêté un intérêt constant au sujet de la thèse, j'ai pu acquérir les connaissances indispensables pour réaliser des recherches avec rigueur dans les années à venir. Je là dois beaucoup pour le contenu du travail présenté, pour ses critiques constructives et son aide aux différentes entraves rencontrées, pour sa gentillesse, ses qualités humaines et scientifiques. Merci pour m'avoir laisse la liberté d'entreprendre et de me tromper. Mille fois merci Mme. pour ces années où nous avons travaillé ensemble.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes vifs remerciements à **Mr. BENSACI OUSSAMA ALI**, maître assistant au département d'Agronomie - université de Batna -, pour son soutien permanent et sa patiente aide dans la réalisation des analyses statistiques.

Mes sincères remerciements vont également à **Mme. BERNA TUNALI**, professeur en mycologie à la faculté d'Agronomie - Ondokuz Mayis university, Samsun, Turquie - et les membres de laboratoire d'entomologie agricole; **Mr. BAYRAM KANSU** (Etudiant PHd en pathologie des plantes, spécialité mycologie), **KILINC FERHAT** (Etudiant PHd en pathologie des plantes, spécialité mycologie), **MUGUE BUSRA** et **CONGA**, pour leurs aide dans l'identification de la mycoflore endophyte du faux-poivrier et du Harmel.

Mes sincères remerciements sont exprimés agréablement à **Mr. LAAMARI MALIK**, professeur au département d'Agronomie - université de Batna -, qui a bien voulu honorer mon jury en le présidant, qu'il me soit permis de lui exprimer ma profonde gratitude pour son aide avec beaucoup de patience dans l'identification des espèces aphidiennes, pour tout les conseils judicieux et pour tout le temps qu'il m'a consacré durant mes années d'études.

Je souhaite également adresser mes sincères remerciements aux Messieurs les membres du Jury;

- Mme. BEN HALIMA-KAMEL MONIA, professeur à l'Institut supérieur agronomique de Chott Meriem (Sousse), Tunisie.
- **Mr. MEBARKIA ABDELKARIM**, maitre de conférences université de Sétif pour avoir accepté de prendre le temps de lire, et d'évaluer mon travail.

Je tiens à remercier aussi particulièrement **Mr. LOUCHENE AISSA**, technicien en protection des végétaux, pour ses encouragements, son aide et son soutien moral.

Qu'il me soit permis également de remercier en cette circonstance, tous les enseignants du département d'Agronomie de l'université de Batna, en particulier les enseignants de la protection des végétaux, pour leurs encouragements et leur soutien moral durant toutes mes années d'étude.

Mes remerciements vont aussi à mes proches, sans leur compréhension pour mon manque de disponibilité à leur égard, et sans leur soutien moral, ce travail n'aurait pu être mené à bien.

Pour finir, ce travail n'aurait pas été mené à terme sans les concessions et les encouragements de mon mari, mes parents, mes sœurs et mes beaux parents auxquels je dis tout simplement merci de tout mon cœur.

#### Liste des tableaux

## Liste des tableaux

	Page
Tableau récapitulatif de quelques groupes fongiques endophytes majeurs	5
Activités biologiques et composés bioactifs isolés à partir de certains	
champignons endophytes	19
Distribution des différentes espèces du genre Peganum à travers le	
monde	30
Profil chimique de <i>P. harmala</i>	31
Fréquence de colonisation chez le faux-poivrier et le Harmel	48
Composition générale de la mycoflore endophyte détectée chez le faux-	
poivrier et le Harmel	49
Taux moyen de mortalité (%) enregistrés chez A. fabae et A. pomi, 24	
heures après pulvérisation des filtrats fongiques	53
Taux moyens de mortalité (%) enregistrés chez A. pomi, 2 heures et 24	
heures après pulvérisation des filtrats fongiques à différentes	
concentrations	55
	65
	67
	Activités biologiques et composés bioactifs isolés à partir de certains champignons endophytes

## Liste des figures

		Page
Figure 01.	Stroma de <i>Balansia epichloë</i> dans les feuilles de <i>Sporobolus</i> (Poaceae)	4
Figure 02.	Principaux modes de transmission chez les champignons endophytes	6
Figure 03.	Quelques substances antimicrobiennes produites par les champignons	
	endophytes	13
Figure 04.	Quelques substances antivirales produites par les champignons endophytes	14
Figure 05.	Structure de quelques substances anticancéreuses produites par les	
	champignons endophytes	16
Figure 06.	Structure de quelques substances anti-oxydantes produites par les	
	champignons endophytes	17
Figure 07.	Structure de quelques substances produites par les champignons	
	endophytes	18
Figure 08.	Aspect général du faux-poivrier	22
Figure 09.	Feuilles et fruits du faux-poivrier	22
Figure 10.	Graines du faux-poivrier	22
Figure 11.	Fleurs du faux-poivrier	23
Figure 12.	Panicules de floraison du faux-poivrier	23
Figure 13.	Tronc du faux-poivrier.	23
Figure 14.	Arbuste de <i>P. harmala</i>	28
Figure 15.	Différentes parties de l'espèce P. harmala.	28
Figure 16.	Feuilles de P. harmala.	28
Figure 17.	Fleur de P. harmala.	29
Figure 18.	Fruit de <i>P. harmala</i>	29
Figure 19.	Graines de P. harmala.	29
Figure 20.	Le puceron vert du pommier Aphis pomi.	36
Figure 21.	Cycle biologique du puceron vert du pommier	36
Figure 22.	Le puceron noir de la fève Aphis fabae	39
Figure 23.	Cycle biologique du puceron noir de la fève	39
Figure 24.	Les étapes conçues pour la stérilisation superficielle et l'ensemencement	
	des feuilles et fruits de S. molle et P. harmala	42
Figure 25.	Les filtrats fongiques de gauche à droite: Trichoderma sp., Fusarium	
	oxysporum, Alternaria sp., et Chaetomium sp.	46

Figure 26.	Dispositif expérimental	4
Figure 27.	Fréquence de colonisation (%) des champignons endophytes chez le	
	Harmel et le faux-poivrier	4
Figure 28.	Effet des différents filtrats fongiques sur A. fabae et A.pomi, 24 heures	
	après pulvérisation.	4
Figure 29.	Effet des différents filtrats fongiques sur A. pomi, 24 <sup>h</sup> après pulvérisation	
Figure 30.	Effet des concentrations du filtrat d'Alternaria sp. sur A. pomi	
Figure 31.	Effet des concentrations du filtrat de F. oxysporum sur A. pomi	
Figure 32.	Effet des concentrations du filtrat de Chaetomium sp. sur A. pomi	
Figure 33.	Effet des concentrations du filtrat de Trichoderma sp. sur A. pomi	
Figure 34.	Effet des filtrats fongiques sur A. pomi à 25% de concentration	
Figure 35.	Effet des filtrats fongiques sur A. pomi à 50% de concentration	
Figure 36.	Effet des filtrats fongiques sur A. pomi à 75% de concentration	
Figure 37.	Effet des filtrats fongiques sur A. pomi à 100% de concentration	(
Figure 38.	Evolution des taux moyens de mortalité (%) recordés chez A. pomi, en	
	fonction de l'augmentation progressive de la concentration des quatre	
	filtrats fongiques	(
Figure 39.	Représentation graphique de l'ACP	(
Figure 40.	Evolution de la croissance radiale des colonies fongiques sur une période	
	de 12 jours	(
Figure 41.	Représentation graphique de l'activité protéolytique des quatre mycotaxons	
	endophytes, illustrée par l'index protéolytique calculé sur 12 jours	
	successifs.	(
Figure 42.	Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de	
	l'activité protéolytique accompagnante, chez Alternaria sp	,
Figure 43.	Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de	
	l'activité protéolytique accompagnante, chez F. oxysporum	,
Figure 44.	Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de	
	l'activité protéolytique accompagnante, chez Chaetomium sp	,
Figure 45.	Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de	
	l'activité protéolytique accompagnante, chez <i>Trichoderma sp</i>	,
Figure 46.	Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale	
	des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez <i>Alternaria sp</i>	,

#### Liste des figures

Figure 47.	Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale	
	des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez F. oxysporum	76
Figure 48.	Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale	
	des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez Chaetomium sp	77
Figure 49.	Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale	
	des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez Trichoderma sp	77
Figure 50.	Formation de la substance blanchâtre après quelques heures de l'apparition	
	du halo chez <i>Trichoderma sp.</i> et <i>Chaetomium sp.</i> respectivement	78

#### Introduction

Depuis longtemps, les organismes minent la vie de l'homme, qui tente souvent de combattre ces bio-agresseurs. Les ravageurs nuisibles des cultures peuvent avoir des effets très importants. Ceci est expliqué en partie par l'absence de leurs ennemis naturels, qui ont contrôle naturellement l'abondance (LAMBERT, 2010).

En réponse à ces problèmes, l'homme met au point des pesticides chimiques mais il se rend rapidement compte qu'ils amènent leur lot de complications, tantôt sur le plan agronomique (développement de la résistance chez les organismes visés aux pesticides, intensification très poussée des processus techniques coûteux...etc.), écologique (phytotoxicité, pollution des eaux et des sols, destruction de la faune auxiliaire...etc.) ou anthropique (altération de la santé humaine) (LAMBERT, 2010).

Il est aujourd'hui reconnu que l'utilisation sans cesse croissante des pesticides chimiques en agriculture, constitue un sérieux problème de santé publique en raison de la teneur de plus en plus appréciable des résidus dans le produit récolté et consommé. C'est pourquoi le recours à des stratégies alternatives de lutte plus efficaces, rassurantes et durables est devenu actuellement plus qu'une nécessité en vue de préserver une qualité de vie (YOVO, 2010).

L'attention aujourd'hui, semble se porter sur l'utilisation des biopesticides comme une alternative plus viable que les pesticides chimiques. Ce vocable désigne les pesticides d'origine biologique, c-à-dire des organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issue de la chimie (YOVO, 2010).

Une nouvelle prospective dans l'agriculture est l'usage de micro-organismes qui protègent les plantes contre les nuisibles et maladies. L'un des groupes de ces micro-organismes qui peut être utilisé pour ce but est les champignons endophytes (PINEDA *et al.*, 2010 In AMIN *et al.*, 2013).

Les champignons endophytes sont considérés actuellement comme un des groupes biologiques les plus prométteux en matière de protection des plantes contre bon nombre de ravageurs et pathogènes (CLEMENT *et al.*, 1997; AZEVEDO *et al.*, 2000; LACEY *et al.*, 2001; WHETSTONE & HAMMOCK, 2007; VEGA *et al.*, 2009) pour diverses raisons dont: l'efficacité,

la sélectivité, la préservation de l'intégrité naturelle de l'écosystème, préservation des auxiliaires, une courte période de rémanence, faible toxicité, diminution des risques de développer de la résistance, ainsi qu'une facilité de production à l'échelle industrielle (YOVO, 2010).

C'est dans ce contexte là que se justifie la présente étude qui vise à exploiter les potentialités aphicides de quelques mycotaxons endophytes, isolés à partir de deux espèces végétales; le faux-poivrier (*Schinus molle*, Anacardiaceae) et le Harmel (*Peganum harmala*, Zygophyllaceae), et voir si ces deux espèces végétales, réputées déjà pour leurs vertus médicinaux et agrochimiques, peuvent servir comme source de champignons endophytes biologiquement actifs à l'égard de deux espèces aphidiennes: *Aphis pomi* et *A. fabae* (Hemiptera, Aphididae).

Nous pouvons lister les objectifs de cette étude comme suit:

- 1- Caractérisation de la diversité mycoendophyte chez les deux plantes ayant une importance ethnobotanique.
- 2- Sélectionner des mycotaxons et tester expérimentalement leurs pouvoirs insecticides vis-à-vis les deux ravageurs ciblés. Pour cela, ce test doit être réalisé suivant l'usage des extraits ou filtrats fongiques.
- 3- Evaluation de l'efficacité de ces filtrats fongiques tienne en compte la mortalité enregistrée (en fonction de la concentration) dans un intervalle chronologique bien distinct.
- 4- Etude de l'activité enzymatique protéolytique.
- 5- Etude de la relation entre l'activité protéolytique et la croissance radiale des champignons endophytes testés.

#### I.1 Les champignons endophytes

#### I.1.1. Définition

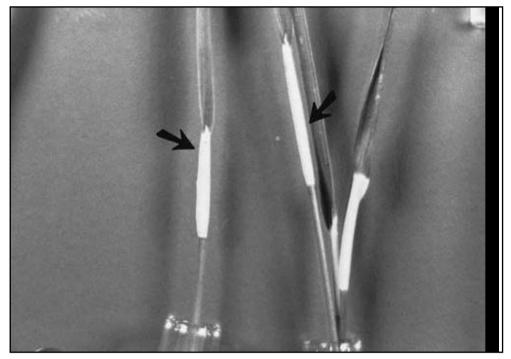
Dans la littérature mycologique, le mot endophyte est dérivé du Grec qui signifie «dans la plante» (endo = endon, signifie "dans", phyte = phyton, signifie "plante") (JALGAONWALA *et al.*, 2011; SCHULZ & BOYLE, 2005 In ORLANDELLI *et al.*, 2012). Le terme spécifique endophyte a été introduit pour la première fois par DE BARY (1866) et a été utilisé pour décrire tous les organismes vivants à l'intérieur des plantes supérieures (figure 01) (WILSON, 1995 In VEGA *et al.*, 2008; PADHI *et al.*, 2013).

La définition la plus couramment utilisée pour décrire les endophytes est celle de PETRINI (1991) qui définit les endophytes comme étant tous les micro-organismes vivants dans les tissus végétaux internes au moins pour une durée de leurs cycles de vie et peuvent coloniser les tissus internes des plantes sans causer de dommages apparents chez l'hôte, bien qu'ils puissent après une période de latence ou d'incubation causer de maladies (TEJESVI *et al.*, 2006; HYDE & SOYTONG, 2008; MOMOTA *et al.*, 2012). Ces associations avec les plantes-hôtes ont été rapportées dans les relations de mutualisme (SCHULZ *et al.*, 2002 In RAKOTONIRIANA *et al.*, 2007) et commensalisme (DECKERT *et al.*, 2001 In RAKOTONIRIANA *et al.*, 2007) à des pathogènes latents et quiescents (SINCLAIR & CERKAUSKAS, 1996 In RAKOTONIRIANA *et al.*, 2007).

Les définitions les plus acceptées et utilisées sont les suivantes:

- 1. «Les endophytes sont les champignons et les bactéries qui, pour une partie ou la totalité de leurs cycles de vie, causent des infections inaperçus et asymptomatiques des tissus végétaux» (WILSON, 1993, 1995a In FAETH & HAMMON, 1996; WILSON, 1995 In ELAMO *et al.*, 1999; WILSON, 1995 In SEENA & SRIDHAR, 2004).
- 2. «Les endophytes sont des mutualistes qui colonisent les parties aériennes des tissus vivants de plante sans causer des symptômes de maladie» (CARROLL, 1986 In SUN & GUO, 2012; ARNOLD *et al.*, 2003 In RAMESHA *et al.*, 2013).
- 3. «Les endophytes sont le groupe qui colonise les tissus vivants internes des plantes sans causer des effets négatifs immédiats» (HIRSCH & BRAUN, 1992 In STONE *et al.*, 2000; STONE *et al.*, 2000 In DESHMUKH, 2007; BACON & WHITE, 2000 In KHARWAR & STROBEL, 2011).

La colonisation des tissus est inter- et / ou intracellulaire (SHULZ & BOYLE, 2005 In PEDRINI *et al.*, 2009; TAN & ZOU, 2001 In RUSMAN, 2006). Ils furent découverts pour la première fois chez les graminées fourragères (DE BARY, 1866 In PIRTTILA, 2001) ainsi que chez les espèces ligneuses, en particulier les conifères (LEWIS, 1924 In STEFANI & BERUBE, 2006). Ces endophytes ont été trouvés presque dans toutes les plantes étudiées (WILSON, 1995 In ARNOLD *et al.*, 2000; BACON & WHITE, 2000 In HASSAN, 2007).



**Figure 01:** Stroma de *Balansia epichloë* dans les feuilles de *Sporobolus* (Poaceae) (STONE *et al.*, 2004).

#### I.1.2. Taxinomie et diversité

Les champignons endophytes sont extrêmement diversifiés et ont été associés aux plantes pour plus de 40 millions d'années (KRINGS *et al.*, 2007 In SUN & GUO, 2012), ceci est attribué essentiellement au fait que ces micro-organismes ont établi des associations avec une multitude d'espèces végétales appartenant aux diverses familles botaniques, qui colonisent à leur tour une vaste gamme de biotopes (SUN & GUO, 2012; PADHI *et al.*, 2013). Ils sont omniprésents et se produisent dans toutes les plantes connues y compris les mousses (DAVEY & CURRAH, 2006 In SUN & GUO, 2012), les fougères (SWATZELL *et al.*, 1996 In SUN & GUO, 2012), les graminées (SU *et al.*, 2010 In SUN & GUO, 2012), les lichens (LI *et al.*, 2007 In HYDE & SOYTONG, 2008), les arbres à feuilles caduques et les conifères (SUN *et al.*, 2011 In SUN & GUO, 2012).

Les champignons endophytes consistent principalement par l'ordre des Ascomycota (SUN & GUO, 2012). Dans le tableau 01, seulement quelques groupes endophytes sont présentés.

Tableau 01. Tableau récapitulatif de quelques groupes fongiques endophytes majeurs.

Groupe taxonomique			Туре		
Groupe	exemple	Plantes-hôtes	d'infection	Références	
Balansieae (Clavicipitaceae, Ascomycètes)	- Epichloe sp. - Balansia sp.	Poaceae Cypéraceae Juncaceae	Systémique	- CLAY & CHEPLICK, 1987 DIEHL 1950, WHITE 1993, 1994a In STONE et al., 2004 SCHARDL et al., 1991 BUSH et al., 1997, SCHARDL 2001, FAETH et al., 2002 In BENSACI, 2006.	
Endophytes non- clavicipitaceae. (plusieurs familles d'Ascomycètes).	-Pseudocercosporella trichachnicola; Trichachne Insularis Gliocladium-like endophytes et Phialophora-like endophytes.	<ul><li>- Poaceae des régions tempérées.</li><li>- Poaceae prairiales.</li></ul>	Non- systémique	- WHITE et al., 1990 In STONE et al., 2004 LATCH et al., 1984 In STONE et al., 2004 SIEBER et al., 1988 In SIEBER, 2007.	
Endophytes non- systémiques des Poacées.	<ul> <li>Alternaria alternata.</li> <li>Cladosporium sp.</li> <li>Didymella phleina.</li> <li>Epicoccum purpurascens.</li> </ul>	Poaceae	Non- systémique	- RIESEN & CLOSE, 1987 In STONE <i>et al.</i> , 2004.	
Endophytes des plantes ligneuses pérennes. (Ascomycètes).	- Rhytismales; Tryblidiopsis, Lophodermium Leotiales; Tiarosporella, Ceuthospora Xylariaceae; Xylaria.	Conifères arbres et arbustes.	-	- LIVSEY & MINTER, 1994 In STONE et al., 2004. - WHALLEY, 1993; PETRINI et al., 1995 In STONE et al., 2004.	

#### I.1.3. Transmission

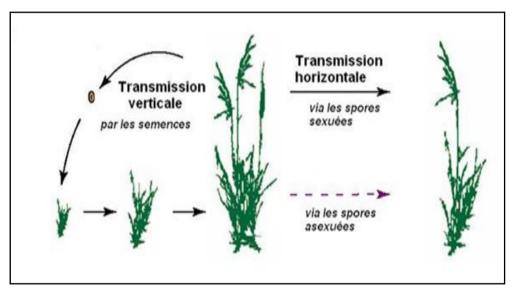
La transmission des champignons endophytes s'effectue via deux principaux modes;

#### I.1.3.1. Transmission verticale:

C'est la transmission du champignon endophyte systémique à partir de la plante-hôte vers la descendance par l'intermédiaire de ses graines. La transmission est effectuée généralement via les formes végétatives du champignon (hyphes) (SAIKKONEN *et al.*, 2004). C'est le principal mode de transmission chez les champignons et il est connu notamment chez les Graminées (FAETH, 2002 In MANSOURI, 2011; SAIKKONEN *et al.*, 2004) (figure 02).

#### I.1.3.2. Transmission horizontale:

Ce second mode s'effectue via les spores. Les champignons peuvent être transmis soit par des spores sexuées ou des spores asexuées pour infecter d'autres plantes de la même espèce ou d'espèces différentes (ARNOLD *et al.*, 2000; SAIKKONEN *et al.*, 2004) (figure 02).



**Figure 02:** Principaux modes de transmission chez les champignons endophytes (SAIKKONEN *et al.*, 2004).

#### I.1.4. Rôle des endophytes

Les champignons endophytes jouent des rôles vitaux dans divers aspects de vie qui varient de ses effets sur les plantes-hôtes à ses effets sur l'environnement et la vie humaine (SELIM *et al.*, 2012). L'association des endophytes avec les plantes-hôtes est connue pour améliorer la croissance et la vigueur de ces dernières (TING *et al.*, 2008 In TING *et al.*, 2010), rehausser l'absorption des éléments nutritifs chez la plante-hôte (CHANWAY, 1996 In TING *et* 

al., 2010) et conférer potentiellement la résistance des plantes contre les infections des bioagresseurs (TING et al., 2007 In TING et al., 2010). Ces endophytes représentent une source de métabolites biologiquement actifs d'importance médicale et agricole (DURAN et al., 2005 In PAUL et al., 2006; LI et al., 2008 In MOLINA et al., 2012; KHARWAR et al., 2009 In COSTA et al., 2012; SCHULZ et al., 2002 In AL-MAHI et al., 2013).

#### I.1.4.1. Rôle physiologique dans les plantes-hôtes:

La présence des endophytes dans les plantes-hôtes est bénéfique à leurs hôtes. Les endophytes peuvent activement ou passivement conférer la capacité de maintenir et d'améliorer les performances biotiques de plante à travers différents mécanismes tels que les métabolites secondaires qui augmentent la résistance de la plante aux facteurs de stress biotiques et abiotiques (SELIM *et al.*, 2012).

Beaucoup des champignons endophytes sont rapportés pour être capables de fixer l'azote, solubilisation du phosphate, production des hormones telles que l'auxine, l'abscisine, gibbérellines et l'acide indolacétique (BODDEY *et al.*, 2003, LOIRET *et al.*, 2004, SANDHIYA *et al.*, 2005, FIRAKOVA *et al.*, 2007 In SELIM *et al.*, 2012).

L'endophyte basidiomycète *Piriformospora indica* peut servir comme un système modèle pour élucider les mécanismes de compréhension nutritive et de l'amélioration des performances de la plante (SELIM *et al.*, 2012).

Les endophytes peuvent aider les plantes à tolérer et supporter les facteurs de stress biotiques et abiotiques (stress hydrique, salin, hautes températures, ...etc.) (MALINOWSKI & BELESKY, 2000 In SELIM *et al.*, 2012). La présence de l'espèce endophyte *Curvularia sp.* associée avec l'espèce végétale *Dichanthelium lanuginosum* qui fréquente les régions où la température du sol peut atteindre 57°C, peut tolérer mieux les hautes températures du sol et le stress hydrique (REDMAN *et al.*, 2002 In SELIM *et al.*, 2012).

WALLER *et al.*, (2005) In SELIM *et al.*, (2012), ont rapporté la possibilité de l'endophyte *Piriformospora indica* pour induire la résistance aux maladies fongiques et la tolérance de la salinité dans l'orge.

Les effets des endophytes dans la photosynthèse ont été démontrés, c'est l'exemple de l'endophyte *Colletotrichum musae* qui a diminué la capacité photochimique (capacité photosynthétique) dans la banane (PINTO *et al.*, 2000 In SELIM *et al.*, 2012).

**En conclusion**, il a été constaté que les plantes colonisées par ce groupe d'endophytes se développent mieux, ceci est dû en partie à la synthèse de certaines types de régulateurs de croissance (hormones) (BODDEY *et al.*, 2003, LOIRET *et al.*, 2004, SANDHIYA *et al.*, 2005, FIRAKOVA *et al.*, 2007 In SELIM *et al.*, 2012).

## I.1.4.2. Protection contre les micro-organismes pathogènes et les herbivores:

Ce groupe fongique peut protéger leur plantes-hôtes contre les pathogènes (GWINN & GAVIN, 1992 In D'AMICO *et al.*, 2008) et les herbivores (ARNOLD *et al.*, 2003, RAKOTONIRIANA *et al.*, 2007, BACON *et al.*, 1977 In D'AMICO *et al.*, 2008; LEHTONEN *et al.*, 2005 In BAO, 2009; AKELLO *et al.*, 2007 In SELIM *et al.*, 2012). Les endophytes systémiques et foliaires peuvent réduire la capacité nutritive chez les vertébrés herbivores par production des alcaloïdes toxiques (SCHARDL, 2001 In SELIM *et al.*, 2012). Ces endophytes peuvent induire la résistance aux maladies (BAE *et al.*, 2008 In SELIM *et al.*, 2012).

La protection des endophytes contre les pathogènes est élucidé dans le système de Fusarium oxysporum. L'endophyte non-pathogène F. oxysporum Fo47 inhibe le pathogène F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici et réduit les symptômes de la pourriture racinaire chez la tomate (BOLWERK et al., 2005 In SELIM et al., 2012). La colonisation de la racine par Phialophora graminicola peut réduire le développement du pathogène Gaeumannomyces graminis par compétition envers l'espace et les éléments nutritifs (DEACON, 1981 In SELIM et al., 2012).

NARISAWA *et al.*, (2002) In D'AMICO *et al.*, (2008) ont prouvé que les endophytes *Phialocephala fortini*, *Fusarium sp.* et autres espèces presque éliminent le flétrissement de l'aubergine causé par *Verticillium sp.* 

Les champignons Clavicipitaceae produisent des alcaloïdes toxiques contre les bioagresseurs et les vertébrés herbivores et la plupart des champignons endophytes peuvent similairement jouent un rôle dans la protection de l'hôte contre les insectes nuisibles et les herbivores (SELIM *et al.*, 2012).

L'un des mécanismes de résistance contre les herbivores est l'amélioration totale des performances de la plante par les endophytes afin de tolérer ces derniers (GEHRING & WITHAM, 2002 In SELIM *et al.*, 2012). Un exemple des maladies provoquées par les endophytes est la toxicose de la fétuque touchant les ruminants et les chevaux après avoir pris

de *Festuca arundinaceae* infectée par le champignon endophyte *Epichloë typhina*; des symptômes tels que rythme cardiaque lent, suppression du système immunitaire, problèmes de reproduction atteignent les animaux (ROBERTS & ANDRAE, 2004 In ZERROUG, 2011). ROBERTS *et al.*, (2005) In ZERROUG, (2011) ont démontré que cette toxicose est dûe à un certains nombres de composés tels que l'acide lysergique, les amides et l'ergopeptine, dont de forte concentration de ces derniers a été trouvé infectant les semences et les feuilles des herbes.

#### I.1.4.3. Protection contre les insectes:

Ce groupe fongique peut protéger leur plantes-hôtes contre les insectes ravageurs (ARNOLD et al., 2000; PAUL et al., 2006; GOGOI et al., 2007; HUANG et al., 2008; ROWAN & LATCH, 1994 In D'AMICO et al., 2008; CLAY, 1989 In POWTHONG et al., 2012; AKELLO et al., 2007 In SELIM et al., 2012; SADRATI et al., 2013; SHARMA & KUMAR, 2013; VEGA et al., 2008 In SIA et al., 2013). Ainsi, dans le domaine agricole, certains isolats fongiques endophytes ont été isolés à partir des plantes médicinales et ont été utilisés comme agents de contrôle biologique (BACKMAN & SIKORA, 2008 In HO et al., 2012).

WEBBER & GIBBS, (1984) In PADHI et al., (2013), ont démontré la protection des végétaux contre les insectes dûe à des champignons endophytes par exemple de l'endophyte *Phomopsis oblonga*, qui protège les ormes contre le coléoptère dendroctone *Physocnemum brevilineum* (Coleoptera, Cerambycidae), vecteur d'un champignon pathogène (*Ceratocystis ulmi*) qui provoque la maladie hollandaise de l'orme; cette protection est assurée par production des composés toxiques.

Parmi les 50 espèces d'endophytes fongiques, 03 espèces foliaires isolées à partir des aiguilles de l'épinette rouge *Picea rubens* ont montré la toxicité contre le ver des bourgeons *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera, Tortricidae) (SUMARAH *et al.*, 2010 In PORRAS-ALFARO & BAYMAN, 2011).

Beauveria bassiana, Lecanicillium lecanii et Aspergillus parasiticus sont des entomopathogènes qui ont été identifiés comme des endophytes dans plusieurs plantes et peuvent être inoculé dans le champ avec succès (GIMENEZ et al., 2007 In PORRAS-ALFARO & BAYMAN, 2011). L'inoculation des plantes-hôtes avec les champignons B. bassiana et L. lecanii a montré une diminution de la consommation de la partie foliaire ainsi que la reproduction de l'espèce aphidiènne Aphis gossypii (Hemiptera, Aphididae) et une réduction

dans le développement nymphal du fléau australien, le locuste *Chortoicetes terminifera* (Orthoptera, Acrididae) (GURULINGAPPA, 2010 In PORRAS-ALFARO & BAYMAN, 2011).

Les endophytes peuvent aussi offrir la protection des plantes contre d'autres bioagresseurs; *Meira geulakonigii* colonise les fruits de pamplemousse et les protège contre les acariens (PAZ *et al.*, 2007 In PORRAS-ALFARO & BAYMAN, 2011). L'inoculation avec *Fusarium oxysporum* a réduit les populations de nématodes dans les racines de la tomate et la banane (*Rhadopholus similis*) (NIERE, 2001 In ATHMAN *et al.*, 2006; SIKORA *et al.*, 2008 In PORRAS-ALFARO & BAYMAN, 2011).

GAYNOR & HUNT, (1983) In PADHI et al., (2013) ont observé dans plusieurs graminées (ivraie) que la haute infection de l'endophyte est corrélée avec une réduction de la fréquence d'attaque du charançon *Listronotus bonariensis* (Coleoptera, Curculionidae). Ainsi, le taux de mortalité de l'aphide *Adelges abietis* (Hemiptera, Adelgidae) dans *Picea glauca* est élevé quand les galles sont infectées par le champignon endophyte *Cladosporium sphaerosperum* (LASOTA et al., 1983 In PADHI et al., 2013).

Dans Lolium perenne, le développement et la survie de l'insecte Spodoptera frugiperda (Lepidoptera, Noctuidae) est affecté par l'endophyte Balansia cyperi (HARDY et al., 1985 In PADHI et al., 2013). AHMED et al., (1985) In PADHI et al., (2013) ont vérifié des effets semblables de certains champignons endophytes sur la sauterelle Acheta domesticus (Orthoptera, Gryllidae). D'autre part, PI et al., (1986) In PREMJANU & JAYANTHY, (2012) ont décrit dans le chêne (Quercus sp.), le rôle de l'endophyte Rhabdocline parkeri contre l'insecte Contarinia sp. (Diptera, Cecidomyiidae).

BIILS *et al.*, (2012) In PADHI *et al.*, (2013) ont isolé une nouvelle espèce fongique endophyte *Hypoxylon pulicicidum* qui a une activité insecticide. Dans ces dernières années, un nombre d'alcaloïdes a été découvert à partir des champignons endophytes des planteshôtes qui ont exposé des activités insecticides excellentes (PETROSKI *et al.*, 1992 In KNOTH *et al.*, 1993; ZHANG *et al.*, 2012 In PADHI *et al.*, 2013).

#### I.1.5. Champignons endophytes comme source de produits naturels bioactifs

Beaucoup de champignons endophytes sont capables de synthétiser des composés biologiquement bioactifs qui peuvent être utilisés comme source potentielle dans le domaine pharmaceutique, agricole et industriel (SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004;

KUSARI *et al.*, 2012; ZAO *et al.*, 2011 In SUBBULAKSHMI *et al.*, 2012; RAMESHA *et al.*, 2013; SCHULZ *et al.*, 2002 In PADHI *et al.*, 2013).

Ces substances naturelles produites par les champignons endophytes possèdent un large spectre d'activité biologique comprenant des composés antimicrobiens, antiviraux, immunosuppresseurs, agents anticancéreux, anti-oxydants, insecticides et autres substances biologiquement actives (CARROLL, 1988 In AMNA et al., 2006; SATHISH et al., 2012; IDRIS et al., 2013), avec une grande diversité structurale comprenant des alcaloïdes, stéroïdes, peptides, polykétones, cytochalasines, polykétides, quinols, phénols, flavonoïdes, dérivés des terpenoïdes et autres types de structure (DREYFUSS & CHAPELA, 1994 In HYDE & SOYTONG, 2008; TRAN et al., 2010; GUO et al., 2008 In PORRAS-ALFARO & BAYMAN, 2011; KHAN et al., 2012; TAN & ZOU, 2001 In RAMESHA et al., 2013).

SCHULZ *et al.*, (2002) In HYDE & SOYTONG, (2008) ont isolé approximativement 6500 espèces de champignons endophytes et ont testé leurs potentiels biologiques. Ils ont analysé 135 métabolites secondaires et ont trouvé que 51% de composés bioactifs sont de nouveaux produits naturels.

## I.1.5.1. Champignons endophytes comme source de substances antimicrobiennes:

La fréquence croissante des souches pathogènes multi-résistantes a limité l'effet d'un traitement antimicrobien traditionnel, ce qui implique le besoin de nouveaux agents thérapeutiques contre les maladies infectieuses (LARSEN *et al.*, 2005 In ZERROUG, 2011).

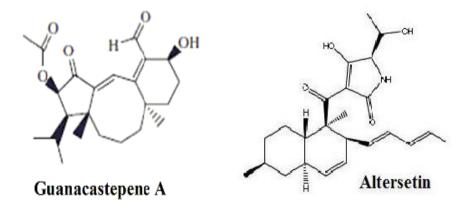
La sélection des extraits bruts des champignons endophytes pour leur activité antimicrobienne indique qu'ils peuvent posséder la stabilité de l'activité antimicrobienne contre les pathogènes testés tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Alternaria sp.*,...etc. (SELIM *et al.*, 2012).

Cryptocine et cryptocandine (figue 03) sont des métabolites fongicides obtenus de l'espèce endophyte *Cryptosporiopsis* cf. *quercina* isolée à partir d'une plante médicinale *Tripterigeum wilfordii*. Cryptocandine, un peptide antimycosique, a démontré une excellente activité antifongique contre quelques pathogènes fongiques humain importants, y compris *Candida albicans* et *Trichophyton sp.* et contre plusieurs champignons phytopathogènes incluant *Sclerotinia sclerotiorum* et *Botrytis cinerea* (STROBEL & DAISY 2003 In SELIM *et al.*, 2012; PADHI *et al.*, 2013).

Phomopsis sp. a démontré une activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis*, *Salmonella enterica* et *Staphylococcus aureus*. L'acide collétotrique (figure 03) obtenu de *Colletotricum gloeosporioides* isolé à partir d'*Artemisia mongolica* a démontré une activité antimicrobienne contre les bactéries, ainsi que le champignon *Helminthosporium sativum* (PADHI *et al.*, 2013).

Guanacastepènes dont Guanacastepène A (figure 03), représente une très grande diversité de diterpénoïdes, qui est produit par un champignon endophyte inconnu isolé de *Daphnopsis americana*, et a démontré une activité antibactérienne contre les souches résistantes de *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecium* (SELIM *et al.*, 2012). En outre, le métabolite altersetine (figure 03), purifié à partir de l'endophyte *Alternaria sp.* qui affiche une activité puissante contre des bactéries pathogènes à gram positif (HELLWIG *et al.*, 2002 In ZERROUG, 2011; PREMJANU & JAYANTHY, 2012).

 $R = COCH_3 \mbox{ -or- } COCH_2C_6H_5 \mbox{ metabolites from the culture of endophytic } \textit{Colletotrichum} \mbox{ sp.}$ 

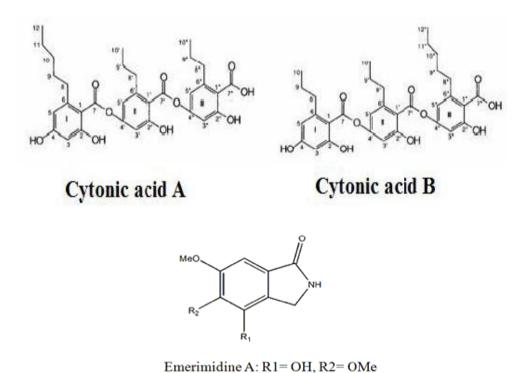


**Figure 03:** Quelques substances antimicrobiennes produites par les champignons endophytes (SELIM *et al.*, 2012).

#### I.1.5.2. Champignons endophytes comme source de substances antivirales:

Un autre usage très important des champignons endophytes dans la production des agents antiviraux tels que les acides cytoniques A et B (figure 04); deux inhibiteurs de la protéase du cytomégalovirus humain (hCMV) qui ont été isolés à partir de la culture du champignon endophyte *Cytonaema sp.* isolé du *Quercus sp.* (GUO *et al.*, 2000 In PADHI *et al.*, 2013).

Podophyllotoxine et ses analogues ont montré des activités antivirales et cytotoxiques et sont utilisés pour le traitement des cancers et des infections virales. Cette substance antivirale est produite par une gamme d'espèces fongiques; *Trametes hirsute, Aspergillus fumigates, Phialocephala fortinii* et *Fusarium oxysporum* (KUSARI *et al.*, 2009a In SELIM *et al.*, 2012; PREMJANU & JAYANTHY, 2012). En outre, ZANG *et al.*, (2011) In SELIM *et al.*, (2012) ont prouvé que les deux substances naturelles emerimidine A et B (figure 04) de la culture du champignon endophyte *Emericella* sp., ont la propriété d'inhiber le virus de la grippe H1 N1.



**Figure 04:** Quelques substances antivirales produites par les champignons endophytes (SELIM *et al.*, 2012).

Emerimidine B: R1= OMe, R2= OH

## I.1.5.3.Champignons endophytes comme source de substances anticancéreuses:

Un autre usage très important des champignons endophytes dans la production des substances anticancéreuses. Le cancer a été considéré en 2004 comme l'une des premières causes de mort dans le monde avec environ 13% des décès totaux, il est caractérisé par une croissance incontrôlée et une propagation des cellules anormales, qui peut entrainer la mort (WHO, 2009 In SELIM *et al.*, 2012). CHANDRA, (2012) In SELIM *et al.*, (2012) a rapporté que

plusieurs champignons endophytes sont considérés comme une nouvelle source de molécules biologiquement actives et qui pourraient être des approches alternatives.

Paclitaxel et quelques-uns de ses dérivés représentent le groupe majeur d'agents anticancéreux qui sont produits par les endophytes. Le taxol (figure 05) est un diterpenoïde qui est généralement isolé à partir du genre *Taxus* à travers le monde. Plus tard, les champignons endophytes *Taxomyces andreanae*, *Wollemia nobilis* et *Pestalotiopsis guepini* ont montré pour être des producteurs de cette dernière (STROBEL *et al.*, 1993, STROBEL *et al.*, 1997 In PADHI *et al.*, 2013).

Le composé anticancéreux camptothecine et deux analogues (9 methoxycamptothecine et 10-hydroxycamptothecine) (figure 05) ont été aussi obtenu de l'endophyte *Fusarium solani* isolé à partir de la plante *Camptotheca acuminata* (KUSARI *et al.*, 2009b In SELIM *et al.*, 2012). Ainsi, l'endophyte *Curvularia lunata* isolé à partir de *Niphates olemda* a produit cytoskyrine (figure 05); une substance a activité antibactérienne et anticancéreuse (BRADY *et al.*, 2000, JADULCO *et al.*, 2002 In SELIM *et al.*, 2012; PREMJANU & JAYANTHY, 2012).

Un autre médicament utilisé comme traitement de certains cancers est la vincristine (figure 05) obtenue de *Catharanthus roseus*, et récemment il y a eu des preuves préliminaires qu'il pourrait être produit par *Fusarium oxysporum* endophyte de la même plante (ZHANG *et al.*, 2006 In ZERROUG, 2011).

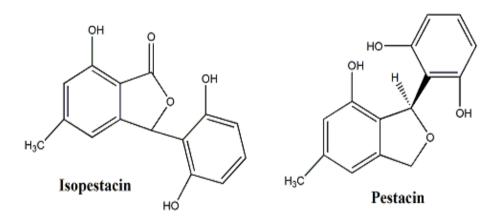
Chaetomium est un genre connu pour produire différents types de métabolites cytotoxiques incluant chaetomine, chaetoglobosines A, C, D, et G (figure 05), chaetoquadrines, oxaspirodione, chaetospirone, orsellides et chaetocyclinones (LÖSGEN et al., 2007 In SELIM et al., 2012). En outre, le champignon endophyte Alternaria sp. est capable d'élaborer plusieurs solanapyrones A, D, E, F et G qui sont des inhibiteurs de l'ADN polymérase (MIZUSHINA et al., 2002 In SELIM et al., 2012).

**Figure 05:** Structure de quelques substances anticancéreuses produites par les champignons endophytes (SELIM *et al.*, 2012).

#### I.1.5.4. Champignons endophytes comme source de substances antioxydantes:

L'importance des composés ayant une activité anti-oxydante réside dans le fait qu'ils sont très efficaces contre les dommages causés par les espèces réactives de l'oxygène (ROSs) et les radicaux libres dérivés de celui-ci tels les dommages de l'ADN, cancérogénèse et la dégénération cellulaire. les champignons endophytes peuvent être une source potentielle de nouveaux anti-oxydants (HUANG *et al.*, 2007 In SELIM *et al.*, 2012).

Pestacine et isopestacine (figure 06) ont été obtenues à partir de *Pestalotiopsis microspora*, un champignon endophyte isolé de *Terminalia morobensis* (HARPER *et al.*, 2003 In SELIM *et al.*, 2012). L'activité anti-oxydante de l'isopestacine est attribuée au balayage à la fois des superoxydes et des radicaux libres en solution et une similarité structurelle avec les flavonoïdes, celle de pestacine est attribuée principalement au clivage d'une liaison réactive C-H et dans une moindre mesure par le biais de l'abstraction de la liaison O-H (STROBEL *et al.*, 2002, HARPER *et al.*, 2003 In SELIM *et al.*, 2012; PREMJANU & JAYANTHY, 2012).



**Figure 06:** Structure de quelques substances anti-oxydantes produites par les champignons endophytes (SELIM *et al.*, 2012).

#### I.1.5.5. Autres activités des champignons endophytes:

Les champignons endophytes sont connus pour être des producteurs de plusieurs autres métabolites d'intérêt biologique tels que des substances anti-inflammatoires, antidiabétiques, immunosuppressives, aussi bien, des substances anti-insectes et anti-nématodes (SELIM *et al.*, 2012).

Le métabolite non-peptidique L-783, 281 a été isolé d'un champignon endophyte *Pseudomassaria sp.* qui est utilisé comme mimétique d'insuline en diminuant le niveau du glucose dans le sang. Récemment, DHANKHAR & YADA, (2012) In PADHI *et al.*, (2013), ont

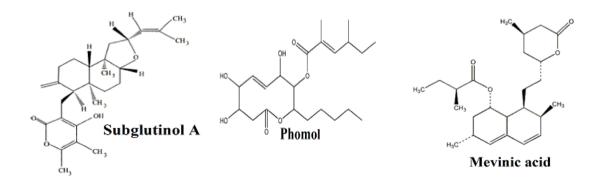
montré des activités antidiabétiques à partir des composés isolés d'une gamme de champignons tels *Aspergillus sp.*, *Phoma sp.* et autres espèces fongiques endophytes.

Le champignon endophyte *Fusarium subglutinans* a produit les deux composés immunosuppressifs subglutinol A (figure 07) et B (LEE *et al.*, 1995 In PADHI *et al.*, 2013). Le glucoside aromatique B, pestaloside et deux pyrones; pestalopyrone et hydroxypestalopyrone isolés de *Pistalotiopsis microspora* possèdent des propriétés phytotoxiques (PULICI *et al.*, 1996a In PADHI *et al.*, 2013).

Plusieurs rapports ont indiqué que les endophytes sont capables de produire des composés anti-inflammatoires tels que le phomol et l'acide mevinique (figure 07) qui ont été isolé à partir de la culture fongique de l'endophyte *Phomopsis sp.* (WEBER *et al.*, 2004a In SELIM *et al.*, 2012).

Plusieurs champignons endophytes pourraient être classés comme des endophytes entomopathogènes et considérés comme des agents de contrôle biologique et servent au développement de nouveaux insecticides ou nématicides. Le champignon endophyte *Phomopsis sp.* a été trouvé pour produire phomopsolide A et B qui détruisent le coléoptère de l'orme (GROVE 1985 In SELIM *et al.*, 2012).

SCHWARZ et al., (2004) In SELIM et al., (2012) ont isolé l'acide 3-hydroxypropinique de l'endophyte *Phomopsis phaseoli* qui a une activité nématicide contre les nématodes *Meloidogyne incognita* et *Caenorhabditis elegans*. En outre, ZHANG et al., (2010) In SELIM et al., (2012) ont reporté que les endophytes *Claviceps purpurea* et *Claviceps chaetomium* ont une activité insecticide envers le puceron du coton (*Aphis gossypii*).



**Figure 07:** Structure de quelques substances produites par les champignons endophytes (SELIM *et al.*, 2012).

Dans le tableau 02, les activités biologiques et les composés bioactifs isolés à partir de certains champignons endophytes.

**Tableau 02.** Activités biologiques et composés bioactifs isolés à partir de certains champignons endophytes (PREMJANU & JAYANTHY, 2012).

T	T			
Plante-hôte	Champignon endophyte	Métabolite secondaire	abolite secondaire Activité biologique	
Tripterygium wilfordii	Fusarium subglutinans	Subglutinol A et B	Immunosuppressive	LEE <i>et al.</i> , (1995).
Torreya taxifolia	Pestalotiopsis microspore	Acide torreyanique	Anticancéreuse	LEE <i>et al.</i> , (1996).
Cinnamomum zeglanicum	Muscodor albus	1-butanol, 3-methyl-, acétate	Antimicrobienne	STROBEL <i>et al.</i> , (2001).
Paullinia paullinioides	Muscodor vitigenus	Naphthalène	Répulsive aux insectes	DAISY <i>et al.</i> , (2002).
Trachelospermum jasminoides	Cephalosporium sp. IFB-E001	"Graphislactone A"	Anti-oxydante	SONG <i>et al.</i> , (2005).
Ephedra fasciculata	Chaetomium chiversii C5-36-62	Radicicol	Cytotoxique	Turbyville et al., (2006).
Erythrina crista-galli	Phomopsis sp.	Iso-flavonoïdes	Antimicrobienne	REDKO <i>et al.</i> , (2006).
Ginkgo biloba L.	Xylaria sp.YX-28	7-amino-4 methylcoumarin	Antimicrobienne	Liu <i>et al.</i> , (2008).
Salvia officinalis	Chaetomium sp.	Cochliodinol, isocochliodinol	Cytotoxique	DEBBAB <i>et al.</i> , (2009).
Camptotheca acuminate	Fusarium solani	Camptothecine, (9-methoxycamptothecine, 10 hydroxycamptothecine)	Anticancéreuse	Kusari, (2009).
Taxus chinensis	Fusarium solani	Taxol	Anticancéreuse	DENG <i>et al.</i> , (2009).
Plumeria acutifolia poiret	Phomopsis sp	Terpenoïde	Antimicrobienne	NITHYA, (2010).
Ananas ananassoides	Muscodor crispans	Acide propanoique, methyl ester, 2- methylbutyl ester, éthanol.	Antibiotique	ANGELA <i>et al.</i> , (2010).

#### I.2 Le Faux-poivrier «Schinus molle L.»

Schinus molle est une plante arborescente appartenant à la famille des Anacardiaceae. Cette dernière compte 60 à 80 genres parmi lesquels Anacardium, Rhus, Pistacia, Schinopsis, et approximativement 600 espèces (CRONQUIST, 1981 In IPONGA, 2009; MENDONÇA ROCHA et al., 2012). Elle s'est étendue dans les régions tropicales, plus particulièrement en Amérique du sud, en Afrique et en Malaisie, mais s'étendant jusqu'aux zones tempérées de l'hémisphère nord (SPICHIGER et al., 2000).

#### I.2.1. Position taxonomique

Ordre: Sapindales

Famille: Anacardiaceae

**Genre:** Schinus

Espèce: Schinus molle L. (BENTERROUCHE, 2007; MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

Le faux-poivrier (*S. molle* L.) est l'un des 28 espèces du genre *Schinus* dont 4 originaires aux Andes (GOLDSTEIN & COLEMAN, 2004; BARKLEY, 1957 In IPONGA, 2009); de ceux-ci *S. molle* est l'une des deux espèces les plus abondantes dans le nouveau monde.

S. molle, le nom vulgaire «aguaribay», «gualeguay» ou «molle» est une espèce d'origine Sud-Américaine (HEYWOOD, 1993 In FERRERO, CHOPA et al., 2007), et plus particulièrement du Pérou. BARKLEY (1944) In GOLDSTEIN & COLEMAN (2004) rapporta la présence de trois variétés de S. molle: S. molle, S. molle var. Rusbyi, et S. molle var. Hassleri.

#### I.2.2. Aire de répartition

L'aire naturelle du faux-poivrier est l'Amérique du Sud (TAYLOR, 2005 In MACHADO *et al.*, 2007), mais a été introduit à la plupart des régions tropicales et subtropicales du monde (HUERTA *et al.*, 2010; WIMALARATNE, 1996 In SCOPEL *et al.*, 2013).

S. molle a été naturalisée dans les régions méditerranéennes particulièrement au climat semi-aride depuis le 16<sup>ème</sup> siècle (KRAMER, 1957 In HOWARD & MINNICH, 1989). Comme beaucoup d'espèces envahissantes, le faux-poivrier a aussi des stratégies reproductrices qui augmentent la probabilité de mutualisme prospère avec les animaux qui fonctionnent comme «disperseurs» de la graine et sa production toute l'année de petits fruits roses facilite sa dispersion par une variété d'oiseaux indigènes jusqu'à 320 m de distance (RICHARDSON et al., 2000, MILTON et al., 2007 In IPONGA et al., 2008; IPONGA et al., 2009).

#### I.2.3. Caractéristiques botaniques

Arbre dioïque, au port ornemental et pleureur, sa silhouette rappelle celle du «saule pleureur», pouvant atteindre une hauteur d'environ 15 m à l'âge adulte avec un diamètre de 85 cm, c'est la plus grande espèce du genre *Schinus* aussi la plus vivace (figure 08) (MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

Les feuilles sont composées pennées et chacune comporte 15 à 41 folioles (figure 09) (BARKLEY 1944 In GOLDSTEIN & COLEMAN, 2004; HENDERSON, 2001 In IPONGA, 2009), persistantes, et mesurent jusqu'à 15 cm de long environ, froissées et elles dégagent une odeur poivrée. Les folioles sont de couleur jaune-verte, de 2 à 5 cm de long (MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

Les baies roses, ont une saveur aromatique et sucrée qui devient chaude et presque poivrée (figure 09). Elles mesurent environ 8 mm de diamètre, bien que parfois utilisées comme condiments, comestibles après traitement (HOWARD & MINNICH, 1989). Les graines sont de 2 à 4 mm de diamètre, arrondies, de couleur brun-noire, sillonnées quand elles sont séchées (figure 10). Il ya un ou deux graines par fruit (MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

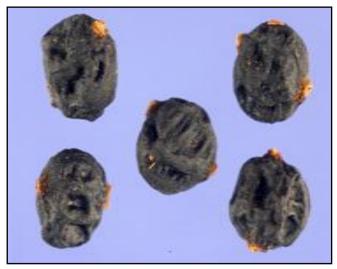
La floraison (figure 11) est unisexuée, de couleur blanc-crème en longues panicules retombantes (figure 12) de 10 à 15 cm suivie de petits fruits. Le tronc noueux à écorce noir rougeâtre (figure 13). Concernant le système radiculaire, les racines latérales peuvent s'étendre sur 6 m de largeur et de 1,5 m profondément. Les systèmes radiculaires peuvent être essentiellement latéraux (au bord des cours d'eau), profonds (dans les endroits pierreux) ou bi-modèles (HOWARD & MINNICH, 1989).



**Figure 08:** Aspect général du faux-poivrier (http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/07/Schinus\_molle01).



Figure 09: Feuilles et fruits du faux-poivrier (http://www.chileflora.com).



**Figure 10:** Graines du faux-poivrier (http://photosynthese.fr/plantes/plante-36917-Shinus-molle.html).



Figure 11: Fleurs du faux-poivrier (http://www.chileflora.com).



**Figure 12:** Panicules de floraison du faux-poivrier (http://photosynthese.fr/plantes/plante-36917-Shinus-molle.html).



Figure 13: Tronc du faux-poivrier (http://www.chileflora.com).

#### I.2.4. Croissance

La croissance est rapide, avec cycle et période indéterminés, produit des fleurs et porte des fruits toute l'année d'autant que les conditions sont favorables. Au printemps, apparaissent des panicules de petites fleurs, suivie à l'automne de fruits secs semblables à des grappes de raisin ou des grains de poivre. Cette production de fleurs et de fruits est variée avec l'âge de l'arbre, dimension, vigueur et qualité du site (HOWARD & MINNICH, 1989).

Les graines sont dispersées par la zoochorie, les oiseaux y sont les principaux intervenants, les mammifères, et l'eau (HOWARD & MINNICH, 1989; SILVA *et al.*, 2005 In IPONGA *et al.*, 2008). Espèce qui se multiple par semis au printemps (BENTERROUCHE, 2007).

#### I.2.5. Ecologie

L'aire naturelle de distribution du faux-poivrier est les Andes principalement le Pérou. Il atteint des élévations de 3900 m au dessus du niveau de mer dans les habitats de pays montagneux avec 300 à 700 mm de précipitations / an; plus grandes positions d'arbres sont limitées généralement au dessous de 2800 m (GOLDSTEIN & COLEMAN, 2004; MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

La plasticité phénotypique permet au *S. molle* d'ajuster sa phénologie à un climat méditerranéen. De rusticité moyenne, il est défolié dès 5°C et la plante meurt à partir de -5°C avec une température maximale ne dépassant pas 40°C. Il craint le gel en mois de Décembre qui peut bruler seulement les bordures tendres de nouvelles feuilles et l'abscission de vieilles feuilles de l'intérieur. Il supporte très bien la sécheresse (HOWARD & MINNICH, 1989; MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

Le faux-poivrier préfère un sol bien irrigué, bien drainé, et tolère aisément la salinité, l'alcalinité, les sols secs et sablonneux. En Algérie, il semble bien adapter aux sols calcaires de dominance argileuses ou argilo-limoneuses (HOWARD & MINNICH, 1989; ORWA *et al.*, 2009 In MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

#### I.2.6. Importance ethnobotanique

Dans les Andes péruviennes, *S. molle* fut plantée comme barrière dans les champs et les pâturages, espèce d'ombre et plantée le long des murettes de pierres sèches pour les soutenir. Le tronc fournit un excellent bois de charpente (CHEPSTOW-LUSTY & WINFIELD, 2000).

#### **I.2.6.1.** Vertus pharmaceutiques:

Cette espèce est utilisée pour le traitement de dépression (TAYLOR 2005 In MACHADO et al., 2008; MACHADO et al., 2009), comme antifongique (SCHMOURLO et al., 2005 In MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012), antibactérien (ERAZO et al., 2006 In MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012), anti-inflammatoire (YUEQUIN et al., 2003 In MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012), antiviral (BAYRAMOGLU et al., 2008 In DEVECI et al., 2010), analgésique (BARRACHINA et al., 1997 In MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012), antiseptique, astringent, digestif, purgatif et diurétique (MURRAY et al., 2005 In HAYOUNI et al., 2008). Ainsi que la résine blanche parfumée est moulée dans les plâtres pour les fractures et les ulcères (LORENZI, 2002 In OLIVEIRA et al., 2007).

## I.2.6.2. Vertus agrochimiques:

S. molle à des activités insecticides (OROZCO & LENTZ, 2005; CHIRINO et al., 2001 In FERRERO et al., 2006; FERRERO, CHOPA et al., 2007; BAYRAMOGLU et al., 2008 In DEVECI et al., 2010; ABDEL-SATTAR et al., 2010 In ENNIGROU et al., 2011; PADIN et al., 2007 In MADHU BABU & BIKSHAL BABU, 2012).

Les huiles essentielles des feuilles de *S. molle* ont montré l'activité répulsive vis-à-vis *Musca domestica* (Diptera, Muscidae) (WIMALARATNE *et al.*, 1996 In FERRERO, MINETTI *et al.*, 2007), la blatte orientale (*Blatta orientalis*) (Blattaria, Blattellidae) (DEVECI *et al.*, 2010) et le coléoptère chrysomèle, communément appelé la galéruque de l'orme *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera, Chrysomelidae) (HUERTA *et al.*, 2010). Germacrène D est l'un des deux composants majeurs identifié à partir des extraits des feuilles a montré l'activité répulsive sur les aphides et les tiques du bétail (BUKETT *et al.*, 2008 In DEVECI *et al.*, 2010). Ainsi, β-caryophyllène extrait à partir des feuilles a un effet répulsif sur les aphides (LIU *et al.*, 2010 In DEVECI *et al.*, 2010).

Les extraits hexaniques des feuilles et fruits de cette espèce *S. molle* var. *areira* avaient des effets répulsifs sur les chenilles de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae) (CHIRINO *et al.*, 2001 In FERRERO, MINETTI *et al.*, 2007). L'huile essentielle des feuilles de cette variété est répulsive sur le charançon des céréales *Sitophilus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae) (BENZI *et al.*, 2009).

En outre, l'extrait éthanolique des feuilles et fruits a une activité répulsive et adulticide contre la blatte germanique *Blattella germanica* (Blattaria, Blattellidae) (MARTIN *et al.*, 2003

In FERRERO, CHOPA et al., 2007), la teigne de la pomme de terre Phthorimaea operculella (Lepidoptera, Gelechiidae) (IACCONE & LAMAS, 2003 In FERRERO, CHOPA et al., 2007) et le charançon rouge Tribolium castaneum (Coleoptera, Tenebrionidae). Les extraits hexaniques des feuilles et fruits sont très répulsifs pour les nymphes de Triatoma infestans (Hemiptera, Reduviidae) et les extraits de fruits ont une activité ovicide (FERRERO et al., 2006), en plus, ces huiles ont une activité acaricide contre Varroa destructor dans les colonies d'abeilles de miel (RUFFINENGO et al., 2005). Elles peuvent avoir également une activité contre Trichomonas vaginalis (MUELAS-SERRANO et al., 2000 In CALZADA et al., 2007). Ainsi, les extraits du faux-poivrier ont une activité répulsive sur le puceron du chou (Brevicoryne brassicae) (Hemiptera, Aphididae) (MICHAEL & RAJA, 2012).

Certaines variétés du genre *Schinus* produisent des composants allélopathiques qui inhibent la croissance d'autres plantes (JAIN *et al.*, 1995 In VANDER-WERF, 2005; ZAHED *et al.*, 2010 In ENNIGRU *et al.*, 2011).

Ces vertus sont attribués essentiellement à certains composants actifs tels que: les tanins, triterpenoïdes, flavonoïdes, saponines (TAYLOR, 2005 In MACHADO *et al.*, 2007; CAVALHER-MACHADO *et al.*, 2008), des alcaloïdes, stérols, terpènes, résines et des huiles essentielles (PAZZO-BALBI *et al.*, 1978 In FERRERO, MINETTI *et al.*, 2007; DIKSHIT *et al.*, 1986 In MATERECHERA & HAE, 2008).

Approximativement 60% des huiles essentielles ont une activité antifongique et 35% ont des propriétés antibactériennes (SILVA *et al.*, 2010 In MENDONÇA ROCHA *et al.*, 2012). La composition chimique de l'huile essentielle consiste principalement par des monoterpènes (α-pinène, β-pinène, sabinène, limonène, ...etc.) et quelques sesquiterpènes (spathulenol et germacrène D) (LISIN *et al.*, 1999 In MENDONÇA ROCHA *et al.*, 2012).

L'huile essentielle des baies est composée fondamentalement par des monoterpènes (95,67%) avec les composants majeurs;  $\alpha$ -phellandrène (35,86%),  $\beta$ -phellandrène (29,3%),  $\beta$ -pinène (15,68%),  $\rho$ -cimène (5,43%) et  $\alpha$ -pinène (5,22%) (HAYOUNI *et al.*, 2008). L'huile essentielle des feuilles contient 24 composants principalement;  $\delta$ -cadinène (11,28%),  $\alpha$ -cadinol (10,77%), grmacrène D (20,77%) et  $\beta$ -caryophyllène (13,48%) (DEVECI *et al.*, 2010).

De point de vue invasion biologique, *S. molle* peut causer des problèmes économiques et écologiques qui sont difficiles et parfois impossibles de les contrôler. La guêpe torymide *Megastigmus transvaalensis* (Hymenoptera, Torymidae) signalée en Afrique du Sud est un

agent de contrôle biologique des graines qui peut jouer un rôle dans la dynamique de la population de la plante (IPONGA *et al.*, 2008).

# I.3 Le Harmel «Peganum harmala L.»

## I.3.1. Caractéristiques de l'espèce

Peganum harmala L., a plusieurs noms vernaculaires comme «Harmel ou Harmal El sahari» en Algérie et en Afrique du Nord, «Rue sauvage» en France, «African rue ou Syrian rue» en Etats Unis et «Espand» en Iran (REZZAGUI, 2012; MAHMOUDIAN et al., 2002 In JINOUS & FERESHTEH, 2012). Son odeur forte, désagréable rappelant celle de la rue. La plante et ses extraits ont été employés en médecine traditionnelle depuis l'aube de la civilisation (MASSOUD et al., 2002 In ACHOUR et al., 2012).

C'est une plante herbacée, vivace, glabre, à tiges ordinairement peu rameuses, de 30 à 90 cm de haut, à entre nœuds assez courts, densément feuillés (figures 14 et 15). Les feuilles sont de couleur verte claire, alternées sur la tige, allongées et irrégulièrement divisées en étroites lanières (figure 15 et 16) (MANSOUR & SOUDABE, 2012; KEMASSI *et al.*, 2013).

La plante présente des fleurs solitaires, blanches sales, grandes avec des sépales inégaux persistants qui dépassent la corolle et des pétales crème lavés de rose-orangé à nervures jaunes (figure 17). Les fleurs sont monoïques dotées de dix à quinze étamines. Les fruits sont des petites capsules sphériques déprimées au sommet renfermant des graines noires aplaties (figure 18). Chaque fruit est divisé en trois chambres dont chacune porte 45 à 60 graines (figure 19). Les racines sont pivotantes et vivaces peuvent atteindre une profondeur de 6,1 m si le sol est très sec (OZANDA, 1991 In BOUZIANE, 2012; BAHMANI *et al.*, 2013; KEMASSI *et al.*, 2013).



Figure 14: Arbuste de *P. harmala* (REZZAGUI, 2012).

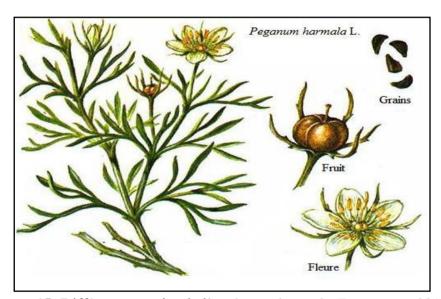


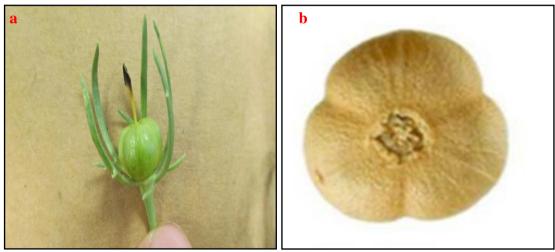
Figure 15: Différentes parties de l'espèce *P. harmala* (REZZAGUI, 2012).



Figure 16: Feuilles de *P. harmala* (GUITTONNEAU, 2011).



Figure 17: Fleur de *P. harmala* (WECKESSER, 2013).



**Figure 18:** Fruit de *P. harmala*. (a): Fruit immature (WECKESSER, 2013), (b): Fruit mure (http://en.wikipedia.org/wiki/Peganum\_harmala).



**Figure 19:** Graines de *P. harmala* (http://de.wikipedia.org/wiki/Steppenraute).

#### **I.3.2.** Position taxonomique

*P. harmala* appartient à la famille des Zygophyllaceae (QAZAN, 2009; SOLIMAN & FAHMY, 2011; TANWEER *et al.*, 2012) qui compte 22 genres et plus de 250 espèces (JINOUS & FERESHTEH, 2012).

D'après OZANDA, (1991) In BOUZIANE, (2012), la position taxonomique du Harmel est la suivante:

**Ordre:** Sapindales

Famille: Zygophyllaceae

Genre: Peganum

Espèce: Peganum harmala L.

Les genres les plus importants appartiennent à cette famille sont *Fagonia*, *Zygophyllum*, *Gauiacum* et *Tribulus* (PERVEEN & QAISER, 2006).

Le genre *Peganum* est le plus petit genre de la famille qui compte 5 à 6 espèces distribuées dans le monde (tableau 03).

**Tableau 03.** Distribution des différentes espèces du genre *Peganum* à travers le monde (HOOKER, 1875 In NIDA, 2012).

Espèce	Continent
P. harmala	Asie, Europe, Amérique du Nord, Afrique (Afrique du Nord),
1 . narmata	Australie.
P. multisectum	Asie (Chine).
P. nigellestrum	Asie (Chine et Mongolie).
P. mexicanum	Amérique du Nord.

## I.3.3. Aire de répartition

*P. harmala* est une espèce cosmopolite largement distribuée dans le monde et très commune sur les sols sableux, originaire des zones arides, semi-arides et les steppes (MAHMOUDIAN *et al.*, 2002 In DARABPOUR *et al.*, 2011; LAMCHOURI *et al.*, 2013).

Cette plante pousse en Afrique du Nord, le Moyen-Orient, Pakistan, l'Inde, Iran, Turquie et a été introduite en Amérique et en Australie (YOUSEFI *et al.*, 2009 In ABABOU *et al.*, 2013; MAHMOUDIAN *et al.*, 2002 In MOSHIRI *et al.*, 2013).

En Algérie, cette espèce est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional, méridional et aux montagnes du Sahara central. Elle est réputée pour les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (OZENDA, 1991 In BOUZIANE, 2012).

## I.3.4. Importance phytochimique

L'analyse chimique des différentes parties de l'espèce est donnée dans le tableau 04.

**Tableau 04.** Profil chimique de *P. harmala* (CHOPRA et al., 1949 In NIDA, 2012).

Alcaloïdes	Racines	Tige	Feuilles	Fleurs	Grain es	% (graines sèches)	% (racines)
Harmine	+	+	-	-	+	4,3	2
Harmaline Dehydroharmine	+	+	-	-	+	/	/
Peganine (dérivés quinazoliques de vasicine)	-	+	-	+	+	/	/
Harmalol	+	-	-	-	+	0,6	1,4
Harmalidine	-	-	-	-	+	/	/
Harmaline	-	-	-	-	+	5,6	/

**N.B:** + indique la présence, - indique l'absence.

Cette plante est très riche en alcaloïdes de type β-carbolines tels que harmine, harmaline, harmalol et harmol (BAHADIR *et al.*, 2012), peganine, isopeganine, dipeganine et les dérivés quinazoliques tels que vasicine, vasicinone et déoxyvasicinone (FATHIAZAD *et al.*, 2006).

Les graines et les racines contiennent le pourcentage le plus important en alcaloïdes, un taux faible dans la tige et les feuilles et absence totale dans les fleurs (NIDA, 2012). Ainsi, le taux des alcaloïdes dans les graines mûres est plus élevé par rapport aux graines non encore mûres (FATHIAZAD *et al.*, 2006).

#### I.3.5. Ecologie

Les espèces appartiennent au genre *Peganum* sont xérophytes et halophytes dans la nature. Ces espèces se développent dans les habitats arides dans toutes les régions chaudes du monde (NIDA, 2012).

Cette plante peut se développer dans les régions qui reçoivent moins de 100 mm de précipitations / an (MAHMOUD *et al.*, 1983 In NIDA, 2012). La température optimale pour la germination des graines est de 30°C. L'altitude de croissance est de 1590 à 3400 m ce qui indique qu'elle peut tolérer une gamme générale de conditions environnementales (NIDA, 2012).

Le sol et l'humidité jouent un rôle très important dans la croissance des racines. L'espèce se développe mieux dans les sols à texture sablonneuse avec une basse capacité de rétention d'humidité (NIDA, 2012).

La reproduction est assurée par voie végétative grâce aux racines latérales (MICHELMORE, 1997 In NIDA, 2012) ou par les graines mais l'une des contraintes de cette propagation conventionnelle est la durée très courte de viabilité de la graine qui affecte sa distribution spatiale (ABABOU *et al.*, 2013).

### I.3.6. Importance ethnobotanique

L'espèce est une véritable panacée qui possède de nombreuses vertus thérapeutiques (pharmaceutique, biochimique, agronomique et ornementale) (BELLAKHDAR, 1997 In ABBASSI *et al.*, 2005; KHAWAR *et al.*, 2005; GOEL *et al.*, 2009). C'est une espèce très toxique pour les animaux et l'homme en particulier (GOEL *et al.*, 2009).

#### **I.3.6.1.** Vertus pharmaceutiques:

Le Harmel est connu pour ses propriétés antimicrobiennes (ARSHAD *et al.*, 2008), antifongiques (SARPELEH *et al.*, 2009), anti-inflammatoires et analgésiques (MONSEF *et al.*, 2004 In NIDA, 2012), antibactériennes (DARABPOUR *et al.*, 2011), emménagogues, aphrodisiaques, galactagogues, diurétiques, utile pour la faiblesse des muscles et le cerveau (GOEL *et al.*, 2009), abortives et utilisé pour réduire la fertilité des mâles des rats (IDRISSIHASSANI & HERMAS, 2008; ARSHAD *et al.*, 2008 In ABDEL AZIZ *et al.*, 2010; BENBOTT *et al.*, 2012).

Les graines de *P. harmala* ont une activité hypothermique, allucinogénique, antidiabétique, anti-oxydative (SINGH *et al.*, 2012 In AHMAD *et al.*, 2013), antifongique, antibactérienne et antivirale (ABUTBUL *et al.*, 2005; BENBOTT *et al.*, 2012), narcotique, stimulante, émétique et sont employées dans le traitement du Syphilis, malaria, parkinsonisme et rhumatisme (GOEL *et al.*, 2009; SHAHVERDI *et al.*, 2008 In NIDA, 2012).

Les fruits de l'espèce sont des stimulants, digestifs, diurétiques, hallucinogéniques, hypnotiques, antipyrétiques, antispasmodiques et narcotiques (GOEL et *al.*, 2009).

Les feuilles sont utiles pour le traitement d'asthme, hystérie, rhumatisme, hoquet, névralgie et colique (GOEL *et al.*, 2009).

## I.3.6.2. Vertus agrochimiques:

P. harmala a des activités insecticides (AHMED et al., 1981 In GOEL et al., 2009; AHMED et al., 1981 In ABABOU et al., 2013).

Les graines brulées ont la propriété de tuer les insectes et les racines sont appliquées pour lutter contre les poux. La plante est utilisée pour inhiber la reproduction du coléoptère *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) et expulser les vers parasites (ABDEL AZIZ et al., 2010; DASTAGIR & HUSSAIN, 2013). Aussi, le Harmel a une activité larvicide contre *Plutella xylostella* (Lepidoptera, Plutellidae) (ABBASIPOUR et al., 2010).

Cette plante est considérée comme une ressource importante de composés biologiques naturels utile dans la protection des plantes (KANG et al., 1992 In ABDEL AZIZ et al., 2010). Les alcaloïdes du groupe B-carbolines extraits des différentes parties de la plante sont utilisés contre nombreuses maladies (SOBHANI et al., 2002 In NIDA, 2012). Le traitement des olives avec 2% des extraits réduit l'oviposition de *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae) (REHMAN et al., 2009 In ABBASIPOUR et al., 2010).

Harmine est le premier alcaloïde isolé à partir des graines (MIRZAEI, 2007) a une activité contre *Candida albicans*, *Fusarium solani*, *F. moniliforme*, *Alternaria infectoria*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*. Il a aussi une action inhibitrice sur le protozoaire *Trypanosoma cruzi*, l'agent causal de la maladie du Chargas la plus sérieuse en Amérique latine (ABE *et al.*, 2002 In PATEL *et al.*, 2012).

Harmine et harmaline extraits des graines ont un effet larvicide sur les larves de *Protostrongylus rufescens* (BABAEI POUR & MOGHADAR, 2012). Harmine et harmaline extraits à partir des feuilles sont connus pour leur action neurotoxique (GRELLA *et al.*, 1998 In ABBASSI *et al.*, 2005). Ils sont révélés toxiques et anti-appétant pour la larve du 5<sup>ème</sup> stade et l'adulte femelle du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Orthoptera, Acrididae) en réduisant la fécondité (ABBASSI *et al.*, 2005).

Les graines ont un effet herbicide dû à la présence du harmine (BERLIN *et al.*, 1993 In EHSANPOUR & SA-ADAT, 2002). Ainsi, les extraits des graines ont une activité anti-nématode (nématicide) contre *Meloidogyne javanica* (MAYAD *et al.*, 2013).

*P. harmala* possède une propriété allélopathique qui facilite sa dominance dans ses habitats, ainsi que sa nature invasive (SHAO *et al.*, 2013).

Ces vertus sont attribués essentiellement à la richesse de cette plante en alcaloïdes du groupe B-carbolines dont les plus importants sont harmine, harmaline, harmol et harmalol (IDRISSI HASSANI & HERMAS, 2008).

# I.4 Le puceron vert du pommier «Aphis pomi De Geer, 1773»

## I.4.1. Systématique

Ordre: Hemiptera

**Sub-ordre:** Sternorrhyncha **Super-famille:** Aphidoidea

Famille: Aphididae

Sub-famille: Aphidinae

Genre: Aphis

Espèce: Aphis pomi De Geer, 1773 (CARVER et al., 1991 In STUDER, 1994).

## I.4.2. Description

Les pucerons adultes ont un corps rond, d'environ 2 mm de longueur, velouté, de couleur verdâtre avec des pattes foncées. Les jeunes larves sont vert jaunâtre à vert. Les ailés ont un thorax noir, abdomen vert avec 3 paires de tâches circulaires latérales noires sur les segments abdominaux antérieurs et une tâche semi-circulaire en avant et en arrière de chaque cornicule. Les œufs sont d'un noir brillant, elliptique et d'une longueur d'environ 0,5 mm (figure 20) (DE ALMEIDA, 2012).

#### I.4.3. Plantes-hôtes

Le puceron vert (non migrant) du pommier retrouve principalement sur pommier, plus rarement sur poirier, aubépine, cognassier, sorbier et rosier. Il est monoécique (évolue sur un seul hôte) contrairement à la plupart des pucerons nuisibles (LAZNIK *et al.*, 2010).

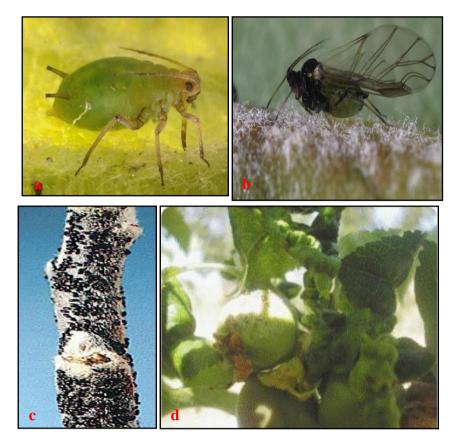
## I.4.4. Biologie

Le puceron vert du pommier est holocyclique; hiverne sous forme d'œuf sur les pommiers, les poiriers, les cognassiers et quelques rosacées sauvages. Contrairement à d'autres espèces de pucerons, les œufs d'hiver sont faciles à reconnaître, car ils sont souvent déposés en grands amas sur les rameaux de l'année précédente. Les larves fondatrices éclosent fin Avril-début Mai. Durant la période végétative se succèdent plusieurs générations virginipares. Il y a de 10 à 15 générations du printemps à l'automne. Selon l'état de la plante-hôte et la densité de la population, on trouve dans les colonies un taux variable d'ailés. La fonction des ailés est surtout la distribution dans le verger ou la colonisation de nouveaux milieux. De cette façon, des vergers indemnes au printemps peuvent être infestés en Juin-Juillet. Spécialement en été, les pucerons verts du pommier préfèrent les arbres de forte vigueur. Au début de l'automne, les mâles apparaissent et fécondent les femelles, lesquelles déposent leurs œufs d'hiver en octobre (figure 21) (LEEPER, 1980; STUDER, 1994; MADAHI & SAHRAGARD, 2012; MILENKOVIC *et al.*, 2013; RAKAUSKAS *et al.*, 2015).

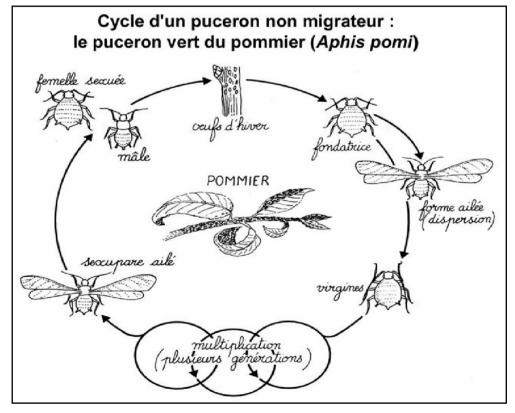
## I.4.5. Dégâts

Les piqûres d'alimentation par ces pucerons entraînent une diminution de la croissance des jeunes rameaux et des feuilles de l'arbre hôte voire parfois des déformations de ces rameaux. Les lésions seront plus graves sur les jeunes arbres. En été, le miellat excrété par les pucerons favorise le développement de la fumagine. Ce champignon forme un dépôt noir, préjudiciable à la récolte (fruits impropres à la consommation) et à la plante (chute des feuilles, diminution de la photosynthèse, diminution de l'induction florale voire absence de floraison la saison suivante) (figure 20) (DE ALMEIDA, 2012).

Parmi les ennemis naturels du puceron vert du pommier: le prédateur *Aphidoletes spp*. (Diptera, Cecidomyiidae), les larves de syrphes (Diptera), les larves de chrysopes (Nevroptera), les larves et les adultes de coccinelles (Coleoptera), la punaise miride et la minuscule punaise anthocoride (Hemiptera), les perce-oreilles et certaines guêpes parasites (Hymenoptera, Braconidae) (DE ALMEIDA, 2012).



**Figure 20:** Le puceron vert du pommier *Aphis pomi*; (a): forme aptère, (b): forme ailé, (c): œufs, (d): dégâts sur feuilles et fruits de pommier (http://de.wikipedia.org/Aphis pomi).



**Figure 21:** Cycle biologique du puceron vert du pommier (http://de.wikipedia.org/Aphis pomi).

# I.5 Le puceron noir de la fève «Aphis fabae Scopoli, 1763»

## I.5.1. Systématique

Ordre: Hemiptera

**Sub-ordre:** Sternorrhyncha

Super-famille: Aphidoidea

Famille: Aphididae

Sub-famille: Aphidinae

Genre: Aphis

Espèce: Aphis fabae Scopoli, 1763 (BLACKMAN & EASTOP, 2007).

## I.5.2. Description

La forme aptère mesure environ 2 mm de long, de couleur verte olive foncé à noir mat et recouverte d'une forte sécrétion cireuse blanche. Les cornicules sont coniques nettement plus longues que la cauda. Cette dernière est digitiforme et trapue. La forme ailé est plus allongée que l'aptère. Elle est de couleur sombre, avec des antennes courtes et qui représentent environ les 2/3 de la longueur du corps. Le troisième article antennaire porte un grand nombre de sensoria secondaires disposés irrégulièrement. Parfois il existe quelques sensoria sur le quatrième article antennaire. L'abdomen de l'ailé est souvent orné de bandes pigmentées à contour irrégulier mais jamais fusionnées pour former une plaque (figure 22) (MERADSI, 2009; BAKROUNE, 2011).

#### I.5.3. Plantes-hôtes

Ce puceron est très polyphage. Il peut vivre sur plus de 200 plantes-hôtes. Il est dioecique; les hôtes primaires sont principalement des arbustes: Fusain d'Europe (*Euonymus europaeus*), la boule de neige (*Viburnum opulus*) et seringat (*Philadelphus coronarius*). Ses plantes-hôtes secondaires peuvent appartenir aux Fabaceae, Chénopodiaceae, Astéraceae, Brassicaceae, Solanaceae, ainsi que diverses cultures florales et ornementales (BAKROUNE, 2011; VILAIN *et al.*, 2014).

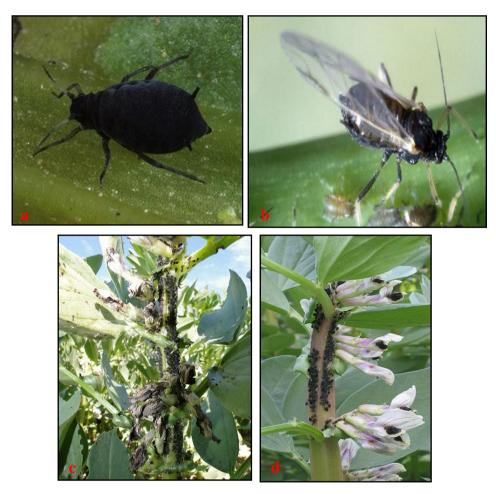
#### I.5.4. Biologie

Le puceron noir de la fève est diœcique. Il alterne son développement entre son hôte primaire; en général le Fusain, et ses hôtes secondaires; des plantes herbacées appartenant à de très nombreuses familles botaniques. Dès le mois de Mars, après l'éclosion des œufs d'hiver, plusieurs générations parthénogénétiques se développent sur l'hôte primaire. La proportion d'ailés augmente alors au sein des colonies. Les premiers ailés s'observent au cours du mois d'Avril. Ces individus seront à l'origine de colonies en manchons parfois très denses sur les plantes-hôtes secondaires sauvages et cultivées. Les ailés impliqués dans la reproduction sexuée apparaissent à l'automne et regagnent l'hôte primaire. La fécondation et la ponte intervenant au courant du mois d'Octobre. La reproduction sexuée n'est pas toujours obligatoire chez ce puceron. Dans les régions à climat doux, des populations peuvent maintenir tout l'hiver sur des hôtes secondaires en continuant à se multiplier par parthénogenèse (figure 23) (HULLE *et al.*, 1999 In MERADSI, 2009).

## I.5.5. Dégâts

La présence de milliers d'individus sur une même plante peut causer des dégâts importants. La croissance de la plante s'en trouve altérée et les fleurs avortent sous l'effet de la salive, ainsi qu'une déformation et une décoloration des tissus végétaux. La production du miellat provoque aussi des brûlures sur le feuillage et favorisent le développement de la fumagine. De plus, le puceron noir de la fève peut transmettre plus de 30 virus pathogènes (figure 22) (MERADSI, 2009).

Parmi les nombreux insectes qui sont ses prédateurs, on peut citer des syrphes (Diptera), *Scymnus spp.* (Coccinellidae, Coleoptera) et une chrysope (*Chrysoperla carnea*) (Nevroptera) (VILAIN *et al.*, 2014).



**Figure 22:** Le puceron noir de la fève *Aphis fabae*; (a): forme aptère, (b): forme ailé, (c, d): dégâts sur feuilles et fleurs de fève (http://de.wikipedia.org/Aphis fabae).

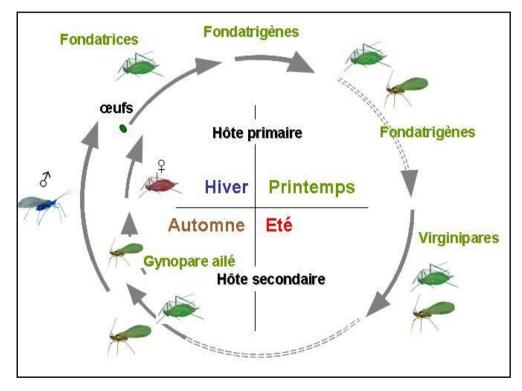


Figure 23: Cycle biologique du puceron noir de la fève (http://de.wikipedia.org/Aphis fabae).

## II.1 Matériel biologique

#### II.1.1. Matériel végétal

## II.1.1.1 Plantes sources prospectées

Nous avons opté pour choisir le faux-poivrier *S. molle* (Anacardiaceae) et le Harmel *P. harmala* (Zygophyllaceae) comme deux espèces végétales ciblées dans notre étude à raison de leurs importances dans divers domaines particulièrement les vertus agrochimiques, ainsi que, leurs compositions chimiques.

Pour la détection et l'isolement des champignons endophytes, les parties aériennes des deux plantes végétales; feuilles et fruits, furent choisi. Pour l'échantillonnage de la partie foliaire, nous avons choisi les feuilles les plus âgées en raison de la surface du limbe importante ainsi que la composition chimique comparativement aux jeunes feuilles. D'autre part, les fruits mûrs sont sélectionnés pour l'échantillonnage.

#### II.1.1.2. Plantes-hôtes d'élevage

Des plants de fève (*Vicia faba*, Fabaceae) et de pommier (*Malus domestica*, Rosacées) ont été utilisés comme hôtes d'élevage pour les organismes cibles; le puceron noir de la fève et le puceron vert du pommier respectivement. Il est important d'avoir un nombre suffisant de plants afin d'assurer un accroissement régulier des colonies aphidiennes dont les individus subiront les traitements ultérieurs.

#### II.1.2. Matériel animal (organismes cibles)

Il s'agit des aphides ravageurs de pommier et de fève, identifiés par Mr. Prof. **LAAMARI M.** (Département d'Agronomie, Université de Batna); le puceron noir de la fève *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera, Aphididae) et le puceron vert du pommier *Aphis pomi* De Geer (Hemiptera, Aphididae).

#### II.1.3. Autres matériels

## II.1.3.1. Appareils et verreries

Etuve ventilée - Bec bunsen - Bain marie - Microscope optique - Loupe - Autoclave - Agitateur magnétique - Balance de précision - Erlenmeyers - Lames et lamelles - Boites de

40

pétri - Minuties entomologiques - Coton cardé et Entonnoirs - papier filtre stérile de type Wattman no. 2 et  $0,45~\mu m$ .

## II.1.3.2.Produits et réactifs chimiques

L'éthanol 70% - Lactophénol - Tétracycline - Eau de javel - Eau distillée stérilisée, ...etc.

## II.2 Méthodes

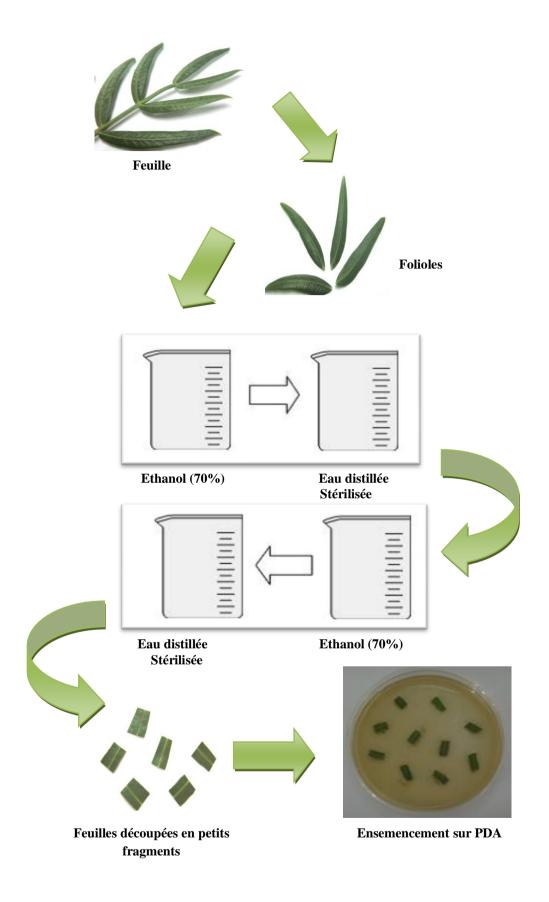
## II.2.1. La stérilisation superficielle

Après la collection du matériel végétal, les feuilles doivent être séchées à l'air libre durant une période de 24<sup>h</sup> afin d'éviter l'effet de brunissement dû aux résines et faciliter la stérilisation. Ainsi, les fruits doivent être coupés pour faciliter l'émergence des endophytes.

L'objectif de la stérilisation superficielle est d'éliminer les hyphes et les spores des organismes épiphytes. Nous avons ainsi opté pour le protocole de TEJESVI *et al.*, (2006) modifié, il est donné comme suit:

- 1- Traitement à l'éthanol (70%) pour une durée d'une minute;
- 2- Rinçage à l'eau distillée stérilisée;
- 3- 2<sup>ème</sup> traitement à l'éthanol (70%) pour une durée de 30 secondes;
- 4- 2<sup>ème</sup> rinçage à l'eau distillée stérilisée.

Une fois stérilisées, les feuilles des deux espèces prospectées sont coupées à l'aide d'une lame stérilisée. Les fragments résultants varient en longueur de 2 à 4 mm. Ce sont ces fragments qui seront ensemencés sur le milieu de culture (figure 24).



**Figure 24:** Les étapes conçues pour la stérilisation superficielle et l'ensemencement des feuilles et fruits de *S. molle* et *P.harmala*.

#### II.2.2. Mise en culture

La procédure d'isolement des champignons endophytes a opté pour un ensemencement sur le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) amendé à la tétracycline, un antibiotique générale d'action qui inhibe le développement des bactéries (Gram + et Gram -).

Les fragments obtenus sont ensemencés sur des boites de pétri contenant le PDA. Pour chacune de ces dernières et pour chaque espèce végétale, on fixe 10 fragments. Au total, on a 100 fragments par 10 boites de pétri pour chaque organe / espèce (200 fragments au total pour chacune des deux espèces végétales et 400 fragments au total général). Chaque boite ensemencée est considérée comme étant une unité de culture, nous avons ainsi 20 unités de cultures / espèce et 40 unités de cultures au total.

Après l'ensemencement, on procède à l'incubation à l'obscurité (25°C) dans une étuve. Périodiquement, les cultures sont examinées afin d'observer le développement des colonies fongiques émergentes des extrémités des fragments traités.

## II.2.2.1. La fréquence de colonisation (FC):

La fréquence de colonisation ou d'infection, exprimée en % est calculée en se basant sur la méthode de FISHER & PETRINI (1987) In TEJESVI *et al.*, (2006), donnée comme suit:

### $FC \% = Nc / Nt \times 100$

Où: **FC** = Fréquence de colonisation ou d'infection.

 $N_c$  = Le nombre de segments colonisés par une espèce ou un groupe fongique.

 $N_t$  = Le nombre total des segments.

#### II.2.2.2. L'identification des mycotaxons:

L'identification des isolats fongiques endophytes détectés chez les segments traités qui est effectuée suite à une observation moyennant un microscope optique. Les champignons sont identifiés sur la base des traits morphologiques (formes reproductrices; conidies, conidiophores) par Mme. Prof. **BERNA TUNALI** (Ziraat faculty - Ondokuz Mayis University - Samsun - Turquie) alors que les taxons qui n'exhibent aucune forme reproductrice sont ainsi codés; MS (Mycélium stérile), ainsi que les formes unicellulaires (Levuroidales) sont caractérisées selon la couleur observée.

Ainsi, l'identification est confirmée suite au réensemencement des isolats précités afin d'obtenir des cultures pures, pour une description macromorphologique (colonies) et micromorphologique plus fiable.

# II.2.2.3. Choix des mycotaxons candidats pour la mise en évidence de l'activité aphicide:

Pour cela, nous avons opté pour choisir quatre (04) espèces endophytes pour le test de l'activité biopesticide en se basant sur leur potentielle activité biologique pour combattre les bio-agresseurs, ainsi que, sur la nature et la composition chimique de chaque mycotaxon (mycotoxines, métabolites secondaires et antibiotiques).

Ces quatre (04) mycotaxons choisi ont été identifiés sur le plan morphologique et moléculaire suite à l'application de la technique du PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'aide de Mme. Prof. **BERNA TUNALI** (Ziraat faculty - Ondokuz Mayis University - Samsun - Turquie).

## II.2.3. Culture en masse (fermentation submergée)

Dans ce cas, on a opté pour choisir un milieu de culture liquide "le milieu de WICKERHAM" (HASSAN, 2007).

La culture des endophytes est effectuée dans des erlenmeyers stériles à 200 ml fermés par un coton cardé pour éviter la contamination. Après, les cultures sont placées à l'obscurité (25°C) dans une étuve.

Quotidiennement, les cultures ont été soumises à une agitation pour une durée d'une heure (1<sup>h</sup>) afin d'homogénéiser le milieu et la biomasse fongique. Une fois atteignant une biomasse importante (après 7 à 15 jours), les cultures fongiques seront récupérées et filtrées en série.

L'obtention des filtrats de cultures fongiques selon la méthode de STEKOLL & WEST, (1978) est donnée comme suit:

- Récupérer la culture fongique homogénéisée;
- Filtrer la culture à travers un papier filtre stérile de type Wattman no. 2 pour éliminer les résidus mycéliens et secondairement via le filtre millipore  $(0.45 \mu m)$  pour éviter la contamination par les spores;
  - Conserver le filtrat entre 0 et 4°C (figure 25).

On peut faire varier les types de milieux afin de comparer les rendements d'extraction de filtrats.

## II.2.4. Dispositif expérimental

Pour parvenir à une étude expérimentale fiable, nous avons opté pour un dispositif expérimental convenable basé sur la technique dite *VCE* (*Ventilated Chamber Bioassay*) (figure 26) (MESQUITTA *et al.*, 1996, BUTT & GOETTEL, 2000 In NAVON & ASCHER, 2000).

Les tests de traitement par pulvérisation ont été réalisés sur des fragments de plantes de pommier et de fève mis dans des boites de pétri contenant le coton imbibé d'eau placé à l'extrémité de chaque fragment afin d'entraver une perte hydrique rapide et de préserver le statut osmotique lors des essais (MESQUITTA *et al.*, 1996, BUTT & GOETTEL, 2000 In NAVON & ASCHER, 2000). Chaque boite contient 10 individus de pucerons avec:

- Un nombre de répétition de 10 pour chaque filtrat;
- 10 répétitions pour les témoins traités avec l'eau distillée;
- Le filtrat est appliqué suivant son type et le gradient de concentration (100%, 75%, 50% et 25%) avec un nombre de répétition de 10 pour chaque concentration et 10 répétitions pour les témoins traités avec l'eau distillée;
- Déterminer le pourcentage de mortalité après 2<sup>h</sup> et 24<sup>h</sup> après la pulvérisation.

Le traitement est réalisé par pulvérisation directe.

#### II.2.4.1. Calcul du taux de mortalité:

Le calcul du taux de mortalité tient en compte la formule de la mortalité corrigée d'ABBOTT (1925):

$$Pc = 100 \times [(Po - Pt) / (100 - Pt)]$$

Où: **Pc** = Mortalité corrigée en pourcentage.

**Po** = Mortalité observée dans l'essai.

**Pt** = Mortalité observée dans le témoin.

#### II.2.4.2. Paramètres étudiés:

Concernant l'activité aphicide des filtrats, nous avons choisi essentiellement deux paramètres:

- Effet des filtrats sur les pucerons;
- Effet du gradient de concentration sur la mortalité des aphides à l'échelle chronologique (après 2<sup>h</sup> et 24<sup>h</sup> du traitement).



**Figure 25:** Les filtrats fongiques de gauche à droite: *Trichoderma sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria sp.*, et *Chaetomium sp.* (Photo personnelle).





Dispositif expérimental

Unité VCE (Ventilated Chamber Bioassay)

Figure 26: Dispositif expérimental (photos personnelles).

## II.2.5. L'induction de l'activité protéolytique

Le but de l'induction des protéases fongiques d'après la méthode de LOPEZ-LLORCA *et al.*, (2002) est la mise en évidence de l'activité protéolytique chez les champignons endophytes isolés à partir des deux espèces végétales; le faux poivrier, *S. molle* et le Harmel *P. harmala* vis-à-vis la biomasse produite de la part de chaque mycotaxon choisi.

La procédure de cette méthode est la suivante:

- Prélever un fragment de colonie (5x5 mm) du champignon;
- Ensemencer le fragment au centre de la boite de pétri qui contient préalablement le milieu précité;
- Incubation à l'obscurité à 25°C dans une étuve;
- Après 48<sup>h</sup>, mesurer le diamètre de la colonie ainsi que le diamètre du halo translucide qui correspond à la zone de dégradation de la gélatine;
- Après 12 jours, selon MOSCOSO & ROSATO (1987), calculer pour chaque observation effectuée, l'index protéolytique donné comme suit:

#### Index protéolytique = Diamètre du halo (mm) / Diamètre de la colonie (mm)

- Tracer la courbe de l'activité protéolytique.

### II.2.6. Croissance moyenne des colonies

Supposant qu'il y a une relation intime entre l'activité protéolytique et l'évolution de la croissance radiale des endophytes, on calcule le diamètre de croissance de la colonie (exprimé en mm) des mycotaxons candidats choisi suivant les jours d'observation (durant 12 jours).

#### II.2.7. Analyse des données

Pour cette étude, l'analyse de variance (ANOVA) et le test « t » de STUDENT sont effectués afin de révéler les différences et les liens au sein des filtrats fongiques.

L'ACP (analyse en composantes principales) est effectué dans cette étude afin de révéler les différences et les liens entre le type du filtrat et le gradient de concentration.

L'étude de la corrélation entre la croissance radiale (biomasse) et l'activité protéolytique (index) est effectuée en illustrant la droite de régression. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées moyennant le module XLSTAT 2009 de Microsoft Office ®.

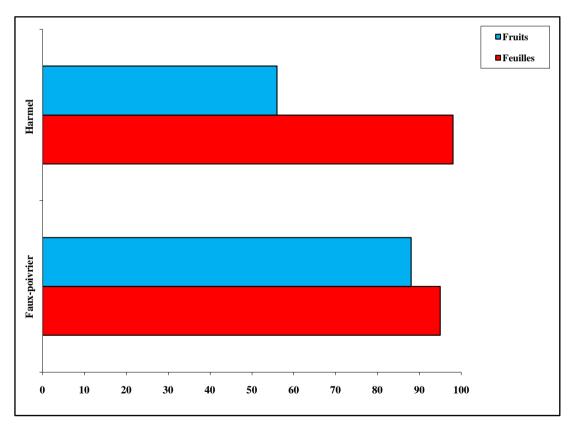
Chapitre -III- Résultats et discussion

# III.1 Mise en évidence de la mycoflore endophyte chez le faux-poivrier et le Harmel

A l'issu de la mise en culture des fragments (feuilles et fruits) des deux espèces végétales; *S. molle* et *P. harmala*, nous avons pu démontrer la présence des champignons endophytes chez le faux-poivrier et le Harmel. La fréquence de colonisation ou d'infection (FC) exprimée en pourcentage (%) pour les fragments sélectionnés est représentée dans le tableau 5 et la figure 27.

<b>Tableau 5.</b> Fréquence de colonisation	(FC %) chez le faux-poivrier et le Harmel.
---	--

Espèce	Faux-poivrier (S. molle,	Harmel (P. harmala,		
Organe	Anacardiaceae)	Zygophyllaceae)		
Feuilles	95	98		
Fruits	88	56		



**Figure 27:** Fréquence de colonisation (%) des champignons endophytes chez le Harmel et le faux-poivrier.

Chapitre -III- Résultats et discussion

# III.2 Composition spécifique des isolats fongiques endophytes détectés chez les deux espèces végétales

Les mycotaxons détectés chez le faux-poivrier et le Harmel sont identifiés sur la base des caractères morphologiques et des formes reproductrices. Nous avons ainsi vingt trois (23) isolats fongiques dont onze (11) mycotaxons sont identifiés à partir du faux-poivrier et douze (12) mycotaxons sont isolés à partir de la deuxième espèce végétale (tableau 06).

**Tableau 06.** Composition générale de la mycoflore endophyte détectée chez le faux-poivrier et le Harmel.

Espèce végétale	Mycotaxon	Classe		
	Champignons mitosporiques			
	Penicillium sp.			
	Penicillium italicum	Hyphomycètes		
	Fusarium solani			
	Fusarium oxysporum			
	Alternaria sp.			
S. molle	Curvularia sp.			
	Trichoderma sp.			
	Torula sp.			
	Chaetomium sp.2	Ascomycètes		
	Mucor sp.	Zygomycètes		
	Formes stériles	_		
	Mycélium stérile (MS)			
	Champignons mitosporiques			
	Alternaria sp.			
	Fusarium sp.			
	Penicillium sp.			
	Epicoccum sp.	Hyphomycètes		
	Gilmaniella sp.			
P. harmala	Torula sp.			
	Ulocladium sp.			
	Botryoderma sp.			
	Chaetomium sp.1			
	Ascomycète 1	Ascomycètes		
	Ascomycète 2			
	Phomopsis sp.	Coelomycètes		

D'après les résultats cités ci-dessus, le statut qualitatif de la mycoflore endophyte détectée sur les deux espèces végétales; *S. molle* et *P. harmala*, nous révélons que le nombre des mycoendophytes isolés est relativement insignifiant.

Pour la première espèce végétale; *S. molle*, le groupe des champignons mitosporiques et spécifiquement la classe des Hyphomycètes contient les genres les plus dominants (*Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Curvularia*, *Trichoderma* et *Torula*), viennent ensuite la classe des Ascomycètes et des Zygomycètes avec un seul genre pour chacune; *Chaetomium* et *Mucor* respectivement.

D'autre part, le Harmel contient huit (08) genres dans la classe des Hyphomycètes (groupe des Deutéromycètes); *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Gilmaniella*, *Torula*, *Ulocladium* et *Botryoderma*. La classe des Ascomycètes compte trois (03) genres avec un seul genre (*Phomopsis*) pour la classe des Coelomycètes.

#### III.3 Discussion

Notre modeste travail démontre, la présence des champignons endophytes associés aux feuilles et fruits des deux espèces végétales étudiées; le faux-poivrier (*S. molle*, Anacardiaceae) et pour la première fois chez le Harmel (*P. harmala*, Zygophyllaceae). Les champignons endophytes sont l'un des groupes des micro-organismes les plus diversifiés et inexplorés qui font des associations symbiotiques et peuvent produire des substances bénéfiques pour l'hôte (WEBER *et al.*, 1981 In KHAN *et al.*, 2007; SHIOMI *et al.*, 2006 In KHAN *et al.*, 2007).

Nous avons constaté que la colonisation des feuilles et des fruits par les mycoendophytes est signifiante sur le plan quantitatif, en effet, l'ubiquité des endophytes est un aspect partagé entre les divers phytotaxons étudiés, cet aspect peut être lié à une prédisposition anatomique, biochimique et physiologique des organes aériens étudiés, vis-àvis aux infections et colonisations endophytes. Ainsi, l'ubiquité des endophytes dans la nature est toujours sélective, cette colonisation sélective peut mener à la production de substances bioactives dans la plante-hôte (HUANG *et al.*, 2008).

Le taux d'infection des parties aériennes, à l'instar des feuilles et des fruits, évolue généralement avec l'âge de ces dernières, c'est ainsi que KUMARESAN & SURYANARAYANAN, (2002) ont démontré que le taux d'infection de *Rhizophora apiculata* (Rhizophoraceae)

augmente pour les fruits arrivant au terme de nouaison et pour les feuilles adultes. GOVEAS *et al.*, (2011) ont démontré que la fréquence de colonisation de la plante médicinale *Coscinium fenestratum* (Menispermaceae) par les endophytes augmente avec l'âge des feuilles; 3,33% pour les jeunes feuilles, 21,02% pour les feuilles mûres et 53,33% pour les feuilles adultes.

Cette colonisation élevée des feuilles âgées est dûe à une surinfection des feuilles avec le temps par l'inoculum porté avec l'air (CARROLL *et al.*, 1977 In SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004; RODRIGUES *et al.*, 1993 In SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004; SURYANARAYANAN & VIJAYKRISHNA, 2001 In SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004).

Les mêmes constatations ont été énoncées pour les Conifères (Sapin) (STONE, 1987 In SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004), *Plumeria rubra* (SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004), *Trachycarpus fortunei* (TAYLOR *et al.*, 1999 In SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004), *Azadirachta indica* (RAJAGOPAL & SURYANARAYANAN, 2000 In SURYANARAYANAN & THENNARASAN, 2004), les Graminées (BACON & WHITE, 1994), les Gymnospermes (STONE *et al.*, 2000 In KUMARESAN & SURYANARAYANAN, 2002), les Palmacées (RODRIGUES, 1994) et chez certaines plantes tropicales (RODRIGUES & PETRINI, 1997 In KUMARESAN & SURYANARAYANAN, 2002).

En revanche, aucune information n'est disponible, concernant les mécanismes réagissant les modalités de l'infection naturelle ainsi que l'internalisation des champignons endophytes, au sein des tissus des deux espèces végétales étudiées; *S. molle* et *P. harmala*.

Le nombre de taxons endophytes isolés est relativement insignifiant avec la prédominance des Hyphomycètes, en particulier, les trois genres *Fusarium*, *Torula* et *Alternaria*. Ce nombre insignifiant peut s'expliquer par la présence de facteurs chimiques illustrés par des composés spécifiques au sein de la plante-hôte telles que les sesquiterpènes, les flavonoïdes, les tanins ainsi que les résines (FERRERO, CHOPA *et al.*, 2007; RAJAGOPAL *et al.*, 2010 In GOVEAS *et al.*, 2011).

D'après CLAY (1993) la plante-hôte peut être à l'origine de certains métabolites secondaires qui peuvent non seulement inhiber la croissance des endophytes sur leurs tissus, mais également limiter leur propagation et même restreindre le nombre de taxons fongiques associés. Cette constatation peut être projetée sur nos résultats pour expliquer le fait que

certains taxons endophytes, tels que *Fusarium* et *Chaetomium*, sont particulièrement fréquents, notamment sur les fruits de *S. molle* et les feuilles de la deuxième espèce végétale.

La majorité des mycotaxons endophytes détectés sont rangés au sein du groupe mitosporique (Deutéromycètes). Pratiquement, une multitude de recherches conduites en la matière, attestent que les Deutéromycètes qui représentent les formes fongiques asexuées, prédominent quelque soit le statut taxonomique de la plante-hôte (MARQUEZ *et al.*, 2007; HUANG *et al.*, 2008; COSTA *et al.*, 2012; SINGH, 2013).

En contraste avec notre travail, l'étude de RODRIGUES & SAMUELS (1999) portée sur une Anacardiacée médicinale, *Spondias mombin*, prouva que la dominance endophyte est pour l'Ascomycète *Phomopsis* sp., qui a été également détecté auparavant chez le faux-poivrier (ROUABAH, 2010).

Les champignons mitosporiques spécifiquement la classe des Hyphomycètes ont été considérés comme le groupe le plus prédominant dans la majorité des plantes colonisées par les mycoendophytes, cela est justifié via beaucoup d'études (SEENA & SRIDHAR, 2004; KHAN et al., 2007; MANGUNWARDOYO et al., 2012; MAHESWARI & RAJAGOPAL, 2013 In JENA & TAYUNG, 2013; HAN et al., 2013; SHARMA & KUMAR, 2013; SHI et al., 2013; SUCIATMIH & RAHMANSYAH, 2013; D'SOUZA & BHAT, 2013). La nature de dominance de la classe des Hyphomycètes peut être attribuée à leur capacité de coloniser rapidement leur hôte en produisant des spores asexuées abondantes (CABRAL et al., 1993 In JENA & TAYUNG, 2013).

Cette classe des Hyphomycètes prédomine l'espèce *Azadirachta indica* (*Meliaceae*) avec un taux de colonisation de 61%, suivi par les Ascomycètes (21%) et des mycéliums stériles (18%). Les genres *Fusarium, Trichoderma* et *Chaetomium* étant les plus fréquemment isolés (TEJESVI *et al.*, 2006). Les mêmes résultats ont été énoncés pour les deux plantes médicinales; *Solanum rubrum* et *Morinda pubescence* d'où la composition fongique pour la première espèce est de 65% Hyphomycètes, 10% Coelomycètes, 10% mycéliums stériles, tandis que le taux de colonisation est de 86% Hyphomycètes, 8% Ascomycètes, 4% Coelomycètes et 16% mycéliums stériles pour la deuxième plante médicinale (JENA & TAYUNG, 2013).

Les genres *Trichoderma* et *Fusarium* sont isolés dans ce manuscrit comme champignons endophytes. Alors que ces deux champignons sont fondamentalement des champignons pathogènes, mais quelquefois, ils sont modifiés par mutation et deviennent des

endophytes non-pathogènes (FREEMAN & RODRIQUEZ, 1993 In NAGARAJA, 2011). Cependant, ces dernières années, *Trichoderma sp.* a aussi été rapporté comme champignon endophyte (CHAVERRI *et al.*, 2011).

# III.4 Mise en évidence de l'activité aphicide des filtrats fongiques vis-à-vis les deux espèces aphidiennes *Aphis fabae* et *A. pomi*

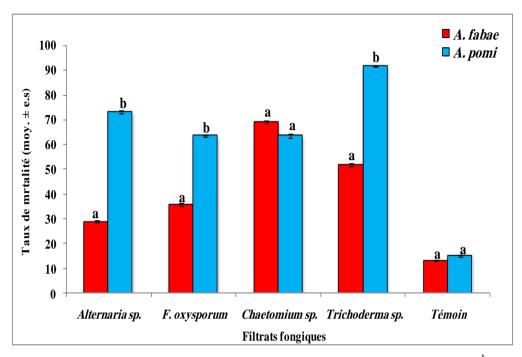
Les résultats concernant l'activité insecticide des filtrats fongiques appliqués pour les quatre champignons endophytes sélectionnés; *Alternaria sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium sp.* et *Trichoderma sp.*, exprimé par le taux de mortalité des pucerons ciblés, sont exposés dans le tableau 07 et la figure 28.

**Tableau 07.** Taux moyen de mortalité enregistrés chez *A. fabae* et *A. pomi*, 24<sup>h</sup> après pulvérisation des filtrats fongiques.

Type du filtrat	Aphis fabae	Aphis pomi
Alternaria sp.	$28,73 \pm 0,42$	$72,94 \pm 0,62$
Fusarium oxysporum	$35,63 \pm 0,6$	$63,53 \pm 0,43$
Chaetomium sp.	$68,96 \pm 0,56$	$63,53 \pm 0,78$
Trichoderma sp.	$51,72 \pm 0,57$	$91,76 \pm 0,26$
Témoin *	$13 \pm 0,26$	$15 \pm 0.31$

Les données représentent les moyennes  $\pm$  l'erreur standard.

<sup>\*:</sup> Pulvérisation à l'eau distillée.



**Figure 28:** Effet des différents filtrats fongiques sur *A. fabae* et *A.pomi*, 24<sup>h</sup> après pulvérisation.

Suite au test «t» de STUDENT, le filtrat issu de *Chaetomium sp.* a un effet similaire visà-vis des deux espèces aphidiennes. En revanche, il y a une différence significative pour les trois filtrats; *Alternaria sp.*, *F. oxysporum* et *Trichoderma sp.* Ce dernier ayant un effet moindre sur *A. fabae* (taux de mortalité de 51,72%) par rapport à *A. pomi* (taux de mortalité de 91,76%).

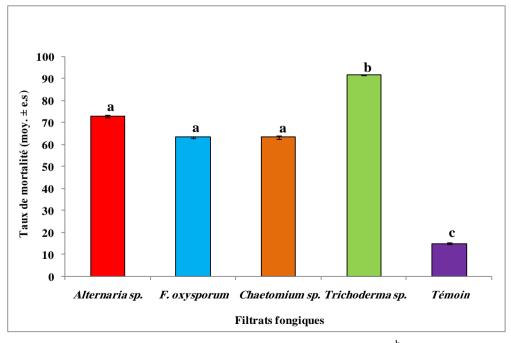


Figure 29: Effet des différents filtrats fongiques sur A. pomi, 24<sup>h</sup> après pulvérisation.

L'analyse de la variance (ANOVA, P < 0.05, F = 0.64) indique que l'efficacité du filtrat fongique obtenu à partir de *Trichoderma sp.* vis-à-vis *A. pomi* est significative tandis que l'efficacité des trois groupes fongiques restants (*Alternaria sp.*, *F. oxysporum* et *Chaetomium sp.*) est non significative, avec un taux moyen de mortalité minimum enregistré pour *F. oxysporum* et *Chaetomium sp.* (63,53%) comparativement avec celui de *Trichoderma sp.* (91,76%) (figure 29).

Notant ainsi que l'effet des quatre filtrats fongiques s'est avéré très important sur les deux formes (ailés et aptères) des deux espèces aphidiennes; *A. fabae* et *A. pomi*.

## III.5 Effet de la concentration des filtrats fongiques sur leurs activités aphicides

Suite à l'application des filtrats à différentes concentrations (25%, 50%, 75%, et 100%), l'efficacité était relativement importante sur *A. pomi* avec un taux moyen de mortalité très variable suivant des spectres chronologiques de 2<sup>h</sup> et de 24<sup>h</sup> en post-traitement. Les résultats ainsi obtenus sont représentés dans le tableau 08 et illustrés graphiquement sur les figures 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36 et 37.

**Tableau 08.** Taux moyens de mortalité (%) enregistrés chez *A. pomi*, 2<sup>h</sup> et 24<sup>h</sup> après pulvérisation des filtrats fongiques à différentes concentrations.

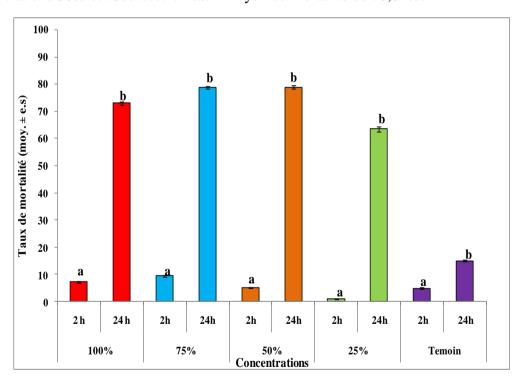
Taux moyen de mortalité (%)								
Filtrats	à 25% de concentration: C1		à 50% de concentration: C2		à 75% de concentration: C3		à 100% de concentration: C4	
	Après 2 <sup>h</sup>	Après 24 <sup>h</sup>	Après 2 <sup>h</sup>	Après 24 <sup>h</sup>	Après 2 <sup>h</sup>	Après 24 <sup>h</sup>	Après 2 <sup>h</sup>	Après 24 <sup>h</sup>
Alternaria sp. (F1)	1,05	7,36	5,26	78,82	9,47	78,82	7,36	72,94
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,27	0,33	0,21	0,59	0,45	0,44	0,33	0,62
F. oxysporum (F2)	68,42	91,76	50,52	90,58	41,05	82,35	27,36	63,53
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,47	0,26	0,83	0,25	0,87	0,34	0,50	0,43
Chaetomium sp. (F3)	27,36	82,35	47,36	84,7	33,68	85,89	62,1	63,53
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,43	0,40	0,70	0,37	0,37	0,53	0,82	0,78
Trichoderma sp. (F4)	67,36	91,76	66,31	87,05	68,42	82,35	67,4	91,76
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,46	0,42	0,87	0,41	0,45	0,45	0,53	0,26
Témoin	5	15	5	15	5	15	5	15
	±	±	±	±	±	±	±	±
	0,22	0,31	0,22	0,31	0,22	0,31	0,22	0,31

Suivant le type du filtrat et le gradient de concentration, nous avons enregistré des taux moyens de mortalité très variables vis-à-vis *A. pomi*.

Au sein de chaque groupe fongique, nous avons constaté qu'il y a une différence significative en matière de mortalité après  $2^h$  et  $24^h$  suite au traitement. Il s'est avéré que le filtrat de *Trichoderma sp.* avait un effet très important à court terme (après  $2^h$ ), ainsi, la mortalité maximale a été obtenue aux concentrations 25% et 100% avec un taux moyen de mortalité de 91,76%.

En revanche, les deux filtrats fongiques F. oxysporum et Chaetomium sp. avaient des effets très importants à long terme (après  $24^h$  du traitement) et atteignent ses valeurs maximales à la concentration 25% (91,76%) et à la concentration 75% (85,89%) respectivement.

Tandis que, l'effet du filtrat *Alternaria sp.* atteint sa valeur maximale aux concentrations 50% et 75% avec un taux moyen de mortalité de 78,82%.



**Figure 30:** Effet des concentrations du filtrat d'*Alternaria sp.* sur *A. pomi*.

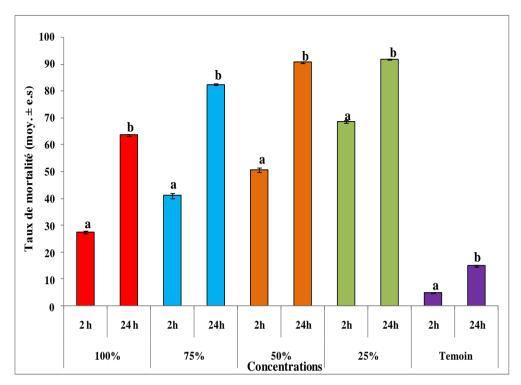


Figure 31: Effet des concentrations du filtrat de F. oxysporum sur A. pomi.

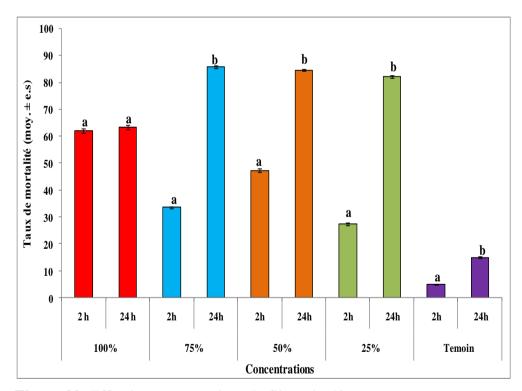


Figure 32: Effet des concentrations du filtrat de Chaetomium sp. sur A. pomi.

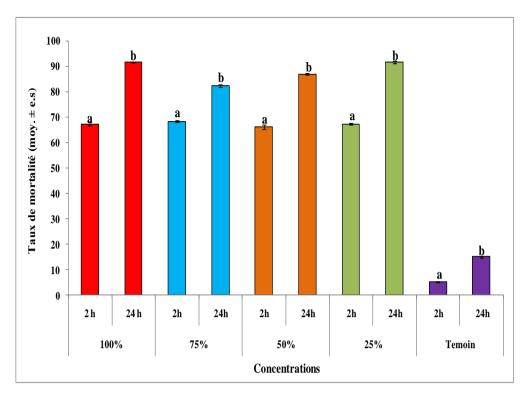


Figure 33: Effet des concentrations du filtrat de *Trichoderma sp.* sur *A. pomi*.

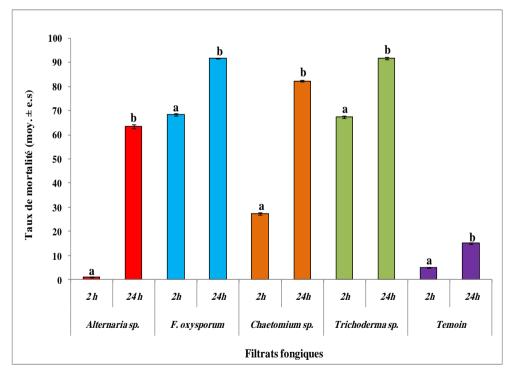


Figure 34: Effet des filtrats fongiques sur A. pomi à 25% de concentration.

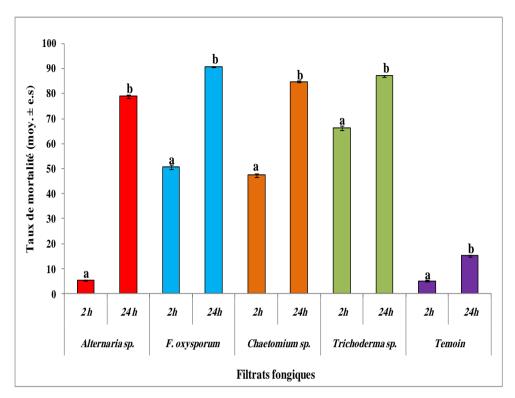
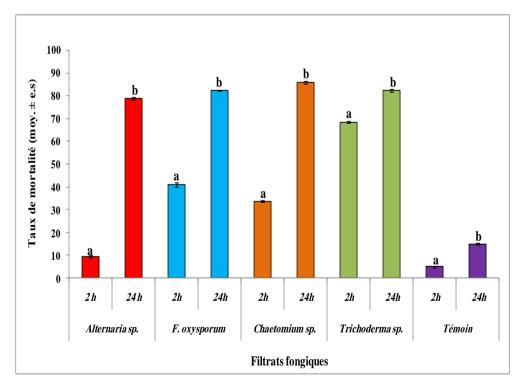
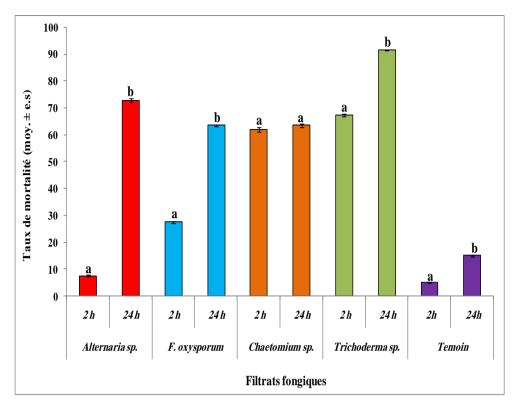


Figure 35: Effet des filtrats fongiques sur A. pomi à 50% de concentration.



**Figure 36:** Effet des filtrats fongiques sur *A. pomi* à 75% de concentration.



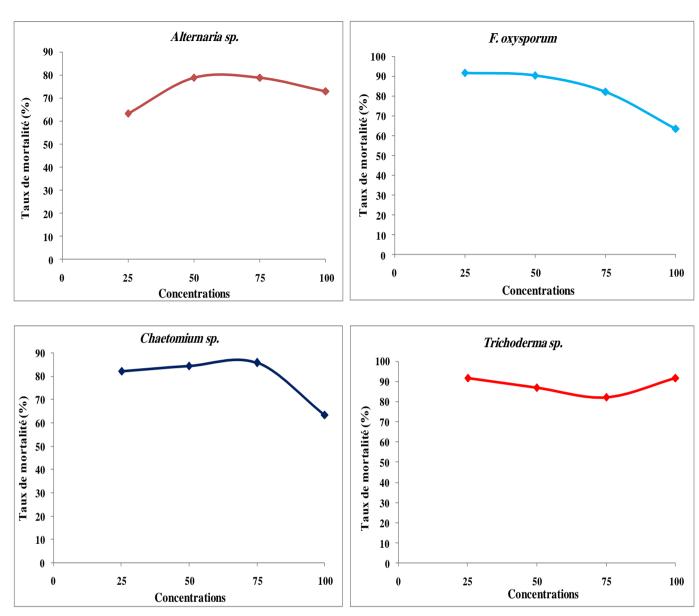
**Figure 37:** Effet des filtrats fongiques sur *A. pomi* à 100% de concentration.

En comparant les quatre filtrats fongiques aux différentes concentrations, il s'est avéré que celui de *Trichoderma sp.* avait une meilleure activité aphicide (figures 34, 35, 36 et 37).

# III.6 Evolution des taux de mortalité chez *A. pomi* en fonction du gradient de concentration des filtrats

Le but visé par cette partie de notre modeste travail, se résume dans la visualisation de la concentration la plus efficace à l'égard de l'aphide ciblé, et ce à travers la lecture de l'évolution (variation) de la mortalité moyenne (exprimée en %) des individus pour chaque concentration respective (25%, 50%, 75% et 100%).

L'évolution des taux de mortalité enregistrés chez *A. pomi*, n'est plus proportionnelle par rapport au gradient de concentration. Il s'agit plutôt d'une mortalité maximale (91,76%) qui correspond à une concentration optimale (25%, 100%) (et pas forcement la concentration maximale), c'est la loi de l'**optimum** (figure 38).



**Figure 38:** Evolution des taux moyens de mortalité (%) recordés chez *A. pomi*, en fonction de l'augmentation progressive de la concentration des quatre filtrats fongiques.

Nos résultats sont confirmés à l'aide de l'ACP (analyse en composantes principales) où nous avons constaté qu'il y a une différence significative entre les quatre filtrats fongiques et les différentes concentrations correspondantes sur le plan chronologique (figure 39).

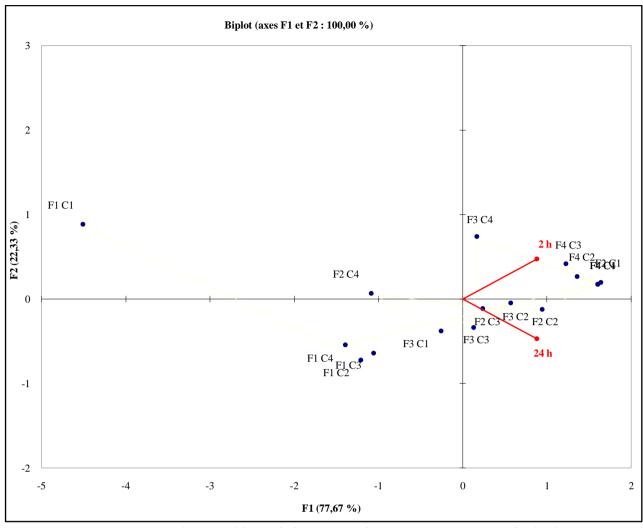


Figure 39: Représentation graphique de l'ACP (analyse en composantes principales).

### III.7 Discussion

La toxicité des filtrats fongiques vis-à-vis des insectes ravageurs a été démontrée auparavant (FATTAH & WEBSTER, 1989; YEO, 2000; BATTA, 2004; ANDERSON *et al.*, 2007; VEGA *et al.*, 2008; ROUABAH, 2010; RITU *et al.*, 2012; BENSACI *et al.*, 2015).

À partir de nos résultats, nous avons constaté que les quatre filtrats fongiques ayant une activité aphicide très variable vis-à-vis des deux espèces aphidiennes ciblées, cette variation d'activité (exprimée en mortalité observée chez les individus) est déterminée également sur une échelle chronologique (effet à court terme; après  $2^h$  et à long terme; après  $24^h$ ).

Cette différence de réponse de la part de l'espèce aphidienne peut être attribuée aux différences marquant la nature chimique des métabolites produits par les champignons endophytes testés (*Alternaria sp.*, *F. oxysporum*, *Chaetomium sp.* et *Trichoderma sp.*). Ainsi,

suivant le biotype et la niche écologique, ces endophytes peuvent jouer un rôle très important en matière de protection de leurs plantes-hôtes en produisant des composés bioactifs appropriés (RAVIRAJA *et al.*, 2006; VEGA *et al.*, 2008; STROBEL & DAISY, 2003 In BHARATHIDASAN & PANNEERSELVAM, 2011; STROBEL *et al.*, 2009 In BHARATHIDASAN & PANNEERSELVAM, 2011) et dont la production et la qualité dépend des conditions naturelles de l'association ainsi qu'à la nature du milieu synthétique utilisé (SCHINYA *et al.*, 2008).

Comparativement à cette étude, plusieurs travaux ont été portés sur l'utilisation des filtrats fongiques en matière de lutte contre les insectes (SHUKLA et al., 1977; YEO, 2000; BATTA, 2004; ANDERSON et al., 2007; ROUABAH, 2010; RITU et al., 2012; BENSACI et al., 2015). Plusieurs filtrats de champignons dont Metarhizium anisopliae a été utilisé pour lutter contre les adultes de moustiques (Anopheles gambiae et Culex quinquefasciatus) (SEYE et al., 2012), alors que Coelomyces, Metarhizium et Lagenidium ont été utilisés pour lutter contre les asticots de moustiques et se sont avérés intéressants dans un éventuel programme de lutte contre les Culicidés (ROBERTS, 1974 In BELLONCIK & PARENT, 1976; SEYE et al., 2012). Cependant, les filtrats fongiques des champignons endophytes Lecanicillium lecanii et Cladosporium oxysporum sont utilisés dans un programme de lutte biologique contre le puceron du coton; Aphis gossypii et le puceron noir de la fève; A. fabae respectivement (ANDERSON et al., 2007; BENSACI et al., 2015).

D'un part, le champignon endophyte *Chaetomium globosum* modifié génétiquement peut fournir une résistance contre le puceron vert du pêcher; *Myzus persicae* (Hemiptera, Aphididae) (CHOUGULE & BONNING, 2012; GLARE *et al.*, 2012). D'autre part, l'application des différentes formulations des cultures fongiques du champignon endophyte *Metarhizium anisopliae* a causé la mortalité des adultes du charançon *Sitophilus oryzae* (Coleoptera, Curculionidae) dans les lieux de stockage (BATTA, 2004). Aussi bien, l'application des filtrats fongiques à base de *Trichoderma harzianum* et *T. viride* a inhibé l'éclosion des œufs du nématode *Meloidogyne javanica* après 7 et 14 jours d'incubation (ANSARI *et al.*, 2002 In ATHMAN *et al.*, 2006).

Nous avons enregistré des taux moyens de mortalité très variables à l'égard d'A. pomi suivant le type du filtrat et le gradient de concentration où *Trichoderma sp.* avait la meilleure activité aphicide. Ainsi, l'évolution des taux de mortalité n'est plus proportionnelle par rapport au gradient de concentration donc, il s'agit d'une mortalité maximale qui correspond à une concentration optimale respective.

Cette variabilité importante peut s'expliquer par le fait que les filtrats fongiques testés sont marqués par une nature biologique brute, ainsi, le type de solvant (dans notre cas c'est l'eau distillée) peut influencer sur la stabilité des molécules actives au sein de chaque filtrat. C'est pourquoi il aurait mieux de diversifier les solvants des filtrats (solvants organiques de type alcools, acides,....etc.) au lieu de se baser uniquement sur l'eau distillée. Ainsi, plusieurs facteurs peuvent contribuer tels que le milieu de culture spécifiquement le pH (CAYROL et al., 1989 In ATHMAN et al., 2006), l'âge des filtrats des cultures fongiques (MANKAU, 1969 In ATHMAN et al., 2006), ainsi que la concentration des filtrats (ATHMAN et al., 2006).

L'application d'un filtrat fongique complexe, à base de *Verticillium chlamydosporium*, *Paecilomyces lilacinus* et *Talaromyces flavus* pour évaluer leur efficacité à différentes concentrations (25%, 50%, 75%, 100%) vis-à-vis les larves de *Meloidogyne javanica* a permis de constater que les taux de mortalité des larves sont directement proportionnels avec les concentrations (ZAKI, 1999). Les mêmes constatations ont été énoncées pour le nématode *Radopholus similis* via l'application d'un filtrat fongique à base de *F. oxysporum* (pour les concentrations 2,5%, 5%, 10%, 25%, 50% et 100%) (ATHMAN *et al.*, 2006). ZAKI, (1994) a démontré que l'efficacité maximale (80,4%) du filtrat de *P. lilacinus* sur la viabilité des œufs de *M. javanica* correspond forcement à la concentration optimale de 80%.

Les mêmes constations ont été obtenues pour les filtrats fongiques du champignon endophyte *Cladosporium echinulatum* isolé à partir du *S. molle* et appliqué à différentes concentrations (25%, 50%, 75% et 100%) sur le puceron noir de la fève; *Aphis fabae* d'où l'efficacité maximale (78,67%) correspond forcement à la concentration optimale (50% et 75%) (ROUABAH, 2010).

Nos résultats montrent que les deux formes (aptères et ailés) des deux aphides sont vulnérables mais la vulnérabilité est variable entre les deux pucerons, ceci est dû probablement à une variation intra-spécifique (liée à l'espèce elle-même; génotype, formes ailés et aptères, stade, sexe ...etc.), et/ou interspécifique (entre les différentes espèces) qui marquent les performances du système immunitaire et des capacités neutralisantes des composés toxiques pour le puceron en question.

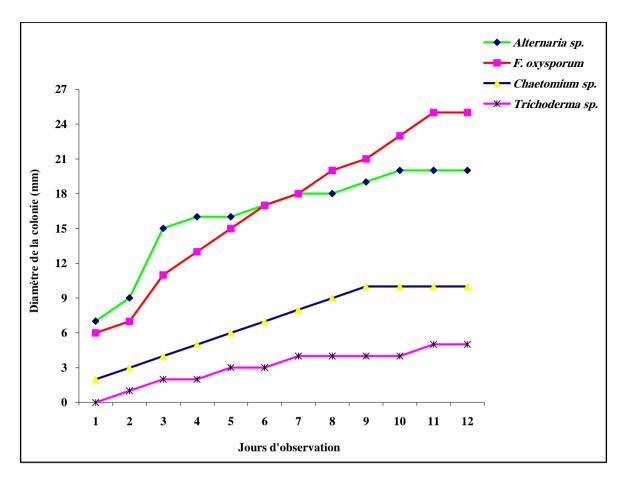
## III.8 Evolution de la croissance radiale des colonies fongiques

Les observations portées quotidiennement sur les cultures fongiques, nous ont montré que chaque espèce suit un rythme de croissance donné, même si la croissance radiale des colonies, exprimée en diamètre, diffère en terme de vitesse. Les mycotaxons testés suivent un modèle de croissance exponentielle sur milieu solide, marquée par trois principales phases: (1) croissance exponentielle (2) ralentissement et (3) la phase stationnaire (tableau 09 et figure 40).

**Tableau 09.** Diamètre des colonies fongiques exprimé en mm sur une période de 12 jours.

	Colonies fongiques				
	Alternaria sp.	F. oxysporum	Chaetomium sp.	Trichoderma sp.	
1 <sup>er</sup> jour	7	6	2	0	
2 <sup>ème</sup> jour	9	7	3	1	
3 <sup>ème</sup> iour	15	11	4	2	
4 <sup>ème</sup> jour	16	13	5	2	
5 <sup>ème</sup> jour	16	15	6	3	
6 <sup>ème</sup> jour	17	17	7	3	
7 <sup>ème</sup> jour	18	18	8	4	
8 <sup>ème</sup> jour	18	20	9	4	
9 <sup>ème</sup> jour	19	21	10	4	
10 <sup>ème</sup> jour	20	23	10	4	
11 <sup>ème</sup> jour	20	25	10	5	
12 <sup>ème</sup> jour	20	25	10	5	
Moyenne	16,25	16,75	7	3,08	

Nos observations nous ont permis de ressortir qu'*Alternaria sp.* a recordé une croissance radiale journalière moyenne de 16,25 mm, *F. oxysporum* avec 16,75 mm, suivi par *Chaetomium sp.* avec 7 mm et enfin, *Trichoderma sp.* ayant enregistré une croissance faible avec 3,08 mm seulement.



**Figure 40:** Evolution de la croissance radiale des colonies fongiques sur une période de 12 jours.

Pour *Alternaria sp.*, l'extension radiale de la colonie fongique débute dès le 1<sup>er</sup> jour pour atteindre une valeur maximale de 20 mm au 10<sup>ème</sup> jour pour demeurer ensuite constante.

Cependant, *F. oxysporum* a enregistré une phase de croissance exponentielle dès le 1<sup>er</sup> jour pour atteindre une valeur maximale de 25 mm au 11<sup>ème</sup> jour pour rester par la suite constant.

D'une part, *Chaetomium sp.*, a enregistré une faible phase exponentielle dès le 1<sup>er</sup> jour, pour atteindre une valeur maximale (10 mm) dès le 9<sup>ème</sup> jour et reste constant au delà.

En revanche, une faible croissance est notée chez *Trichoderma sp.*, avec une faible extension radiale, atteignant son diamètre maximal (5 mm) au 11<sup>ème</sup> jour pour rester constant par la suite.

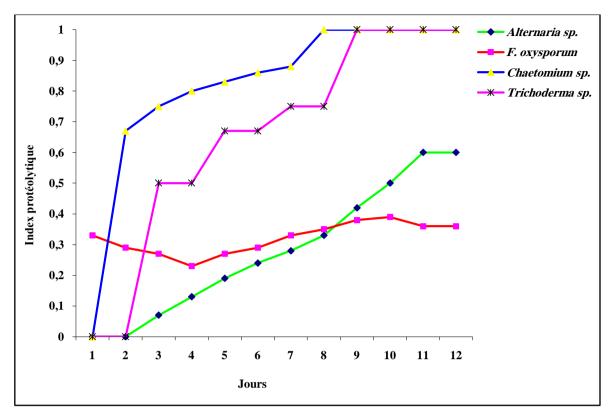
## III.9 Mise en évidence de l'activité protéolytique des mycotaxons testés

Les résultats obtenus ont révélé une activité protéolytique chez les quatre mycotaxons. Cette activité est marquée par la formation d'une zone claire sous forme d'un halo autour de la colonie fongique durant la période d'observation.

Les résultats ainsi obtenus sont représentés dans le tableau 10 et la figure 41. L'intensité de l'activité protéolytique est connue en calculant l'index protéolytique, marquant une valeur moyenne de 0,28, 0,32, 0,82 et de 0,65 pour *Alternaria sp.*, *F. oxysporum*, *Chaetomium sp.* et *Trichoderma sp.* respectivement.

**Tableau 10.** Index protéolytique calculé chez les quatre mycotaxons endophytes sur une durée de 12 jours.

	Mycotaxons endophytes				
	Alternaria sp.	F. oxysporum	Chaetomium sp.	Trichoderma sp.	
1 <sup>er</sup> jour	0	0,33	0	0	
2 <sup>ème</sup> jour	0	0,29	0,67	0	
3 <sup>ème</sup> jour	0,07	0,27	0,75	0,5	
4 <sup>ème</sup> jour	0,13	0,23	0,8	0,5	
5 <sup>ème</sup> jour	0,19	0,27	0,83	0,67	
6 <sup>ème</sup> jour	0,24	0,29	0,86	0,67	
7 <sup>ème</sup> jour	0,28	0,33	0,88	0,75	
8 <sup>ème</sup> jour	0,33	0,35	1	0,75	
9 <sup>ème</sup> jour	0,42	0,38	1	1	
10 <sup>ème</sup> jour	0,5	0,39	1	1	
11 <sup>ème</sup> jour	0,6	0,36	1	1	
12 <sup>ème</sup> jour	0,6	0,36	1	1	
Moyenne	0,28	0,32	0,82	0,65	



**Figure 41:** Représentation graphique de l'activité protéolytique des quatre mycotaxons endophytes, illustrée par l'index protéolytique calculé sur 12 jours successifs.

D'après le tableau 10 et la figure 41, l'activité protéolytique qui témoigne la sécrétion des enzymes de type protéases, est induite chez les quatre mycotaxons endophytes testés, avec une différence dans l'induction de cette activité.

L'activité protéolytique chez *Alternaria sp.* et *Trichoderma sp.* est induite à partir du  $3^{\text{ème}}$  jour, à partir du  $2^{\text{ème}}$  jour pour *Chaetomium sp.* et du  $1^{\text{er}}$  jour pour *F. oxysporum*.

Pour l'endophyte *Alternaria sp.*, le pic de cette activité a été atteint le  $11^{\text{ème}}$  jour avec un index de 0,60 pour être stable au jour suivant. L'activité protéolytique pour *F. oxysporum* est atteint sa valeur maximale le  $10^{\text{ème}}$  jour avec un index de 0,39 et stabilise à partir du  $11^{\text{ème}}$  jour.

Cependant, le pic initial de cette activité protéolytique pour *Chaetomium sp.* est atteint un index important de 0,67 (le 2<sup>ème</sup> jour) pour atteindre sa valeur maximale le 8<sup>ème</sup> jour avec un index de 1 et demeure ensuite constante.

En revanche, *Trichoderma sp.* a enregistré un pic initial de l'activité protéolytique le 3<sup>ème</sup> jour avec un index de 0,50 et continue à augmenter pour atteindre sa valeur maximale le 9<sup>ème</sup> jour avec un index de 1 et reste stable au delà.

### III.10 Discussion

Les résultats obtenus ont montré que la croissance radiale des colonies fongiques est variable entre les quatre mycotaxons, elle est dûe essentiellement à deux principaux facteurs: les caractéristiques intrinsèques de la souche (génotype) qui se reflète par une réponse différente de la part de chacune d'elles, vis-à-vis du même milieu nutritif, en d'autre terme, cela revient aux capacités métaboliques spécifiques pour chaque champignon, qui traduisent les capacités de translocation des éléments nutritifs puisés du milieu. D'une part, les conditions physiques de croissance, telles que la température et l'humidité ainsi que la lumière, peuvent influencer également le rythme de croissance, et donc la production de biomasse.

Le modèle de croissance exponentielle est partagé entre la quasi-totalité des champignons filamenteux (DEACON, 2004) bien que la vitesse enregistrée, notamment celle de *Trichoderma* est faible. En effet, la lenteur qui marque l'extension radiale des champignons endophytes est dûe partiellement à la réponse lente vis-à-vis des milieux synthétiques, c'est pourquoi la croissance de ces champignons est limitée par des facteurs anatomiques et physiologiques de la part de leurs phytobiontes.

Nos résultats montrent que le champignon endophyte *Trichoderma sp.* avait la meilleure activité aphicide avec une vitesse de croissance radiale des colonies faible comparativement à une activité protéolytique importante. En effet, parmi les microorganismes bénéfiques, *Trichoderma spp.* est l'un des agents les plus communs de contrôle biologique des champignons pathogènes des plantes (LO & LIN, 2002; HA, 2010; MUJTABA, 2011; SHAHID *et al.*, 2013) via leur capacité de synthétiser des composés antagonistes (protéines, enzymes de type β-xylosidase, α-glycosidase, β-glycosidase, cellobiohydrolase, trypsine, chymotrypsine et chymoélastase comme protéases, *N*-acétyl-β-glucosaminidase et antibiotiques) (POOVENDRAN *et al.*, 2011) et des micro-nutrients (vitamines, hormones et minéraux) (SARGIN *et al.*, 2013). Outre que l'activité protéolytique (CORDO *et al.*, 2007; MISHRA *et al.*, 2014), ce genre a une activité enzymatique de type xylanase (KUMALA & HANDAYANI, 2011), cellulase (GADGIL *et al.*, 1995 In HAGGAG & MOHAMED, 2002) et chitinase (HARMAN *et al.*, 2004).

Les mêmes résultats ont été énoncés pour le champignon endophyte *Cladosporium echinulatum* isolé à partir du faux-poivrier ayant une meilleure activité aphicide contre l'espèce aphidienne; *Aphis fabae*. Ce champignon a une activité protéolytique très importante

(index protéolytique marquant une valeur moyenne de 0,81) comparativement à leur croissance radiale faible (diamètre maximal est de 5 mm) (ROUABAH, 2010).

L'activité protéolytique fut détectée chez les quatre champignons endophytes testés. Cette activité très importante voir primordiale pour les endophytes, est reflétée par la production ou l'induction des enzymes protéolytiques telles que les protéases et les polypeptidases (BURGUM & PRESCOTT, 1965; GABRIEL, 1968 In KUCERA, 1980; LEGER et al., 1987 In SAMUELS & PATERSON, 1995; JALGAONWALA & MAHAJAN, 2011; SUNITHA et al., 2013; PATEL et al., 2013; RASHMI et al., 2014; BEZERRA et al., 2015; BUDIARTO et al., 2015; ORLANDELLI et al., 2015; RAJU et al., 2015). Ainsi, il a été démontré que les activités enzymatiques et la virulence des champignons sont deux caractères intimement liés (FERRON 1978, ROBERTS 1981 In ROBERT & MESSING-ALAIDROOS, 1985; MONOD et al., 2002; SHAKERI & FOSTER, 2006; SANCHEZ-PEREZ et al., 2014).

Les propriétés protéolytiques ont été signalées à partir des filtrats de champignons Deutéromycètes; *Beauveria bassiana* (BIDOCHKA & KHACHATOURIANS 1987 In LOPEZ-LLORCA *et al.*, 2002), *Metarhizium anisopliae* (LEGER, COOPER & CHARNLEY 1987 In LOPEZ-LLORCA *et al.*, 2002), *Paecilomyces spp., P. farinosus* (LOPEZ-LLORCA *et al.*, 2002), *Verticillium lecanii, Nomuraea releyi* et *Aschersonia aleyrodris* ayant des enzymes qui déterminent la pathogénicité en matière de dégradation de la cuticule des insectes pour permettre la pénétration des hyphes au niveau des points vulnérables du tégument (BIDOCHKA & KHACHATOURIANS 1994; GABRIEL 1968, LEGER *et al.*, 1989, GOETTEL *et al.*, 1989 In SAMUELS & PATERSON, 1995).

L'évaluation de l'efficacité du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* dans un programme de lutte biologique contre la fausse teigne de la cire, *Galleria mellonella* (Lepidoptera, Pyralidae) et les asticots de *Culex pipiens*, été basée sur l'évaluation de la production des protéases et des lipases (KUCERA, 1980; ROBERT & MESSING-AL-AIDROOS 1985). De la même manière, l'évaluation de l'efficacité du champignon *Paecilomyces lilacinus* parasite des œufs du nématode *Meloidogyne hapla* (BONANTS *et al.*, 1995 In LOPEZ-LLORCA *et al.*, 2002) et le champignon entomopathogène *P. farinosus* pour combattre la fausse teigne de la cire *G. mellonella*, été basé sur l'évaluation de la synthèse des protéases (LOPEZ-LLORCA *et al.*, 2002).

Nous avons essayé d'étudier les capacités protéolytiques des champignons testés contre les deux espèces aphidiennes *A. fabae* et *A. pomi* pour vérifier l'éventualité d'un lien entre cette activité et l'efficacité démontrée par les extraits fongiques (filtrats). Les enzymes fongiques sont caractéristiques par le fait qu'elles sont toujours expulsées vers le milieu externe du champignon, et les filtrats sont forcément riches en ces substances. En effet, la production des protéases a été considérable chez les deux mycotaxons *Chaetomium sp.* et *Trichoderma sp.* ayant une activité insecticide importante.

Cependant, on ne peut pas expliquer cette activité biologique seulement en s'appuyant sur la production des protéases, car d'autres facteurs enzymatiques peuvent jouer un rôle déterminant dans l'activité aphicide, telles que les lipases et les chitinases du sous groupe *BChi1* ou *BChi2* (TIKHONOV *et al.*, 2002; DA-SILVA *et al.*, 2005; BARATTO *et al.*, 2006), ainsi, des neurotoxines telles que les alcaloïdes de type lolines et péramine chez *Neotyphodium* et *Epichloe* testés contre les aphides *Rhopalosiphum padi* et *Schizapus graminis* (Hemiptera, Aphididae) (RAKOCEVIC, 2005).

Le champignon endophyte *Trichoderma harzianum* a produit des substances non-volatiles inhibitrices telles que la viridiofungine A (AL-HASSAN *et al.*, 2009 In TING *et al.*, 2010). Cependant, des souches d'*Alternaria alternata* a été signalée récemment comme entomopathogènes par CHRISTIAS *et al.*, (2001) et HATZIPAPAS *et al.*, (2002).

D'autres substances ont pu être isolées à partir des formes entomopathogènes d'Alternaria (PODOVA et al., 1977 In CHRISTIAS et al., 2001) dont la «destruxine B» isolée d'A. brassicae. Cette même substance est également impliquée dans la pathogénèse vis-à-vis de Brassicae napus (BUCHWALDT & GREEN, 1992). Jusque là, les travaux conduits en la matière ont été basés sur l'inoculation directe des spores par injection ou par pulvérisation sur des espèces aphidiennes, telles que Myzus persicae, Macrosiphum euphorbiae, Rhopalosiphum padi, et Aphis nerii (Hemiptera, Aphididae) (CHRISTIAS et al., 2001; HATZIPAPAS et al., 2002) et des coléoptères (VEGA et al., 2008) où l'action était relativement plus prolongée par rapport de notre étude, lors de laquelle nous avons utilisé le filtrat.

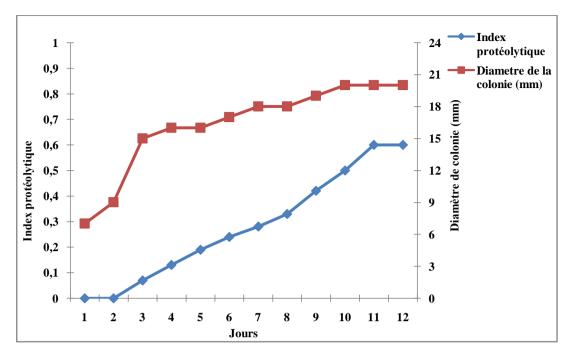
L'activité biologique de *Cladosporium echinulatum* et *Fusarium* sp. furent l'objet pour diverses études. Certains *Cladosporium* causent des épizooties dans les populations du puceron tropical de l'oranger: *Toxoptera citricidus* (Hemiptera, Aphididae), le puceron du cotonnier: *Aphis gossypii*, la cochenille rouge de l'oranger: *Aonidiella aurantii* (Hemiptera, Diaspididae), le pou rouge de Floride: *Chrysomphalus aonidum* (Hemiptera, Diaspididae), la cochenille du citronnier: *Planococcus citri* (Hemiptera, Pseudococcidae), la cochenille farineuse: *Pseudococcus longispinus* (Hemiptera, Pseudococcidae), et *Coccus aethiopicus* (SAMWAY'S & GRECH, 1986). Le genre *Fusarium* est réputé pour ses activités antimicrobiennes, antifongiques et surtout phytotoxiques (GOGOI *et al.*, 2007) mais également insecticides avec implication de l'acide fusarique (MICZULSKI & MACHOWICZ-STEFANIAL, 1977; LYNCH & LEWIS, 1978).

# III.11 Relation entre la croissance radiale des colonies fongiques et l'activité protéolytique des mycotaxons endophytes

La croissance radiale des colonies fongiques, est un indice de biomasse, cette dernière est considérée comme un élément essentiel de l'allure végétative des champignons sélectionnés, car elle témoigne la translocation des éléments nutritifs puisés à partir du milieu approprié.

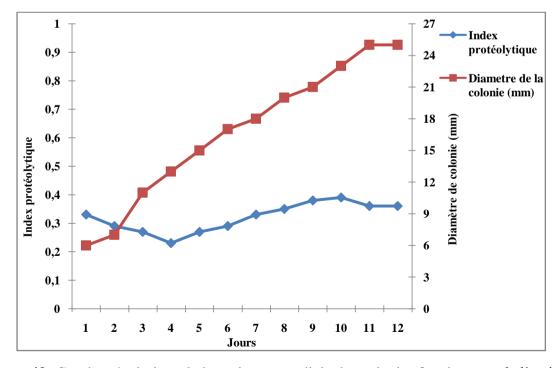
En revanche, cette croissance est accompagnée par une activité enzymatique parallèle, et qui peut varier quantitativement et qualitativement. Nous avons essayé de déceler un éventuel lien entre la croissance radiale des champignons endophytes testés et l'activité protéolytique accompagnante.

Les figures 42, 43, 44 et 45 nous donnent une image générale sur l'évolution de la croissance radiale et l'activité protéolytique des mycotaxons endophytes testés.



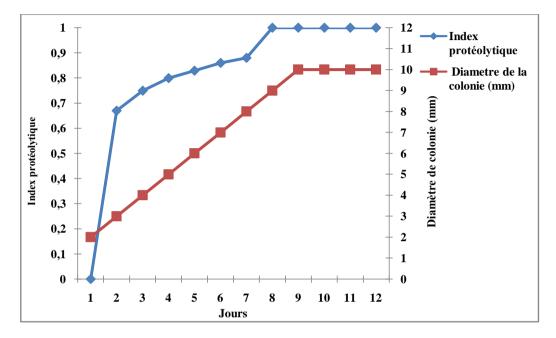
**Figure 42:** Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de l'activité protéolytique accompagnante, chez *Alternaria sp*.

D'après la figure 42, l'activité protéolytique de l'endophyte *Alternaria sp.* est proportionnelle avec celle de la croissance radiale. L'induction de cette activité commence dès le 2<sup>ème</sup> jour de la phase exponentielle de la croissance fongique, pour connaitre ensuite une stabilité à partir de la phase stationnaire.



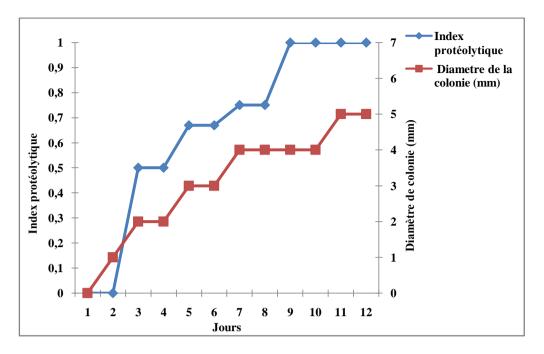
**Figure 43:** Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de l'activité protéolytique accompagnante, chez *F. oxysporum*.

En observant la figure 43, chez *F. oxysporum*, l'activité protéolytique commence dès la phase exponentielle de la croissance radiale fongique, pour connaître ensuite un déclin relatif jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour, ensuite une augmentation avec la phase exponentielle et enfin une stabilité à partir de la phase stationnaire.



**Figure 44:** Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de l'activité protéolytique accompagnante, chez *Chaetomium sp*.

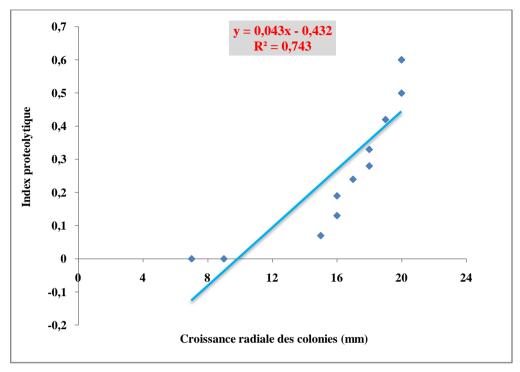
D'après la figure 44, chez *Chaetomium sp.*, l'activité protéolytique débute très rapidement dès la phase exponentielle de croissance radiale fongique pour connaître ensuite une stabilité à la fin de la phase exponentielle.



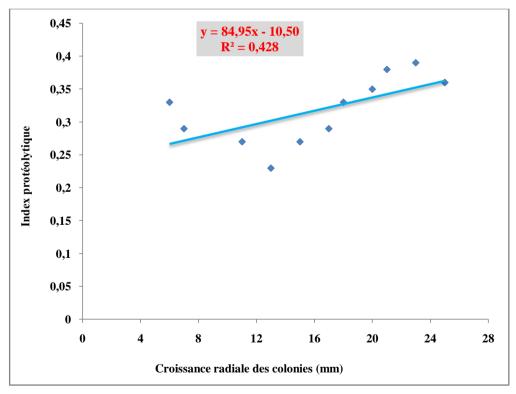
**Figure 45:** Courbes évolutives de la croissance radiale des colonies fongiques et de l'activité protéolytique accompagnante, chez *Trichoderma sp*.

La figure 45 nous montre que l'activité protéolytique est plus importante chez *Trichoderma sp.* malgré que la croissance radiale fongique est très lente et insignifiante. Cependant, de même que pour les deux mycotaxons endophytes; *F. oxysporum* et *Chaetomium sp.* l'induction protéolytique est plus marquante dès la phase exponentielle.

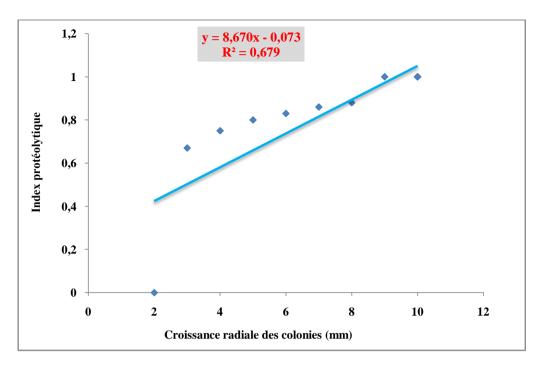
Pour connaître la nature de la relation entre la croissance radiale fongique (biomasse) et l'activité protéolytique des endophytes testés, nous avons effectué une analyse de régression en juxtaposant les deux paramètres précités. Les droites de régression, montrées dans les figures 46, 47, 48 et 49, représentent la corrélation entre la biomasse fongique et l'activité protéolytique chez les champignons endophytes; *Alternaria sp.*, *F. oxysporum*, *Chaetomium sp.* et *Trichoderma sp.* respectivement.



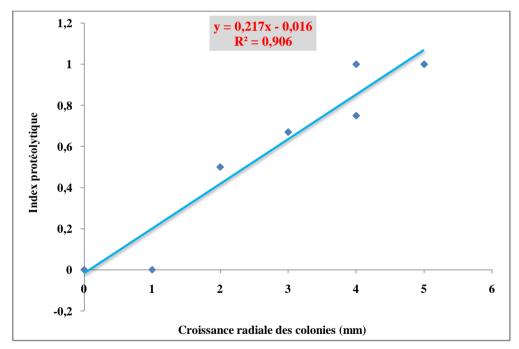
**Figure 46:** Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez *Alternaria sp*.



**Figure 47:** Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez *F. oxysporum*.



**Figure 48:** Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez *Chaetomium sp.* 



**Figure 49:** Droite de régression linéaire montrant la relation entre la croissance radiale des colonies fongiques et l'activité protéolytique chez *Trichoderma sp.* 

L'analyse effectuée résultante révéla une corrélation négative entre l'évolution de la croissance radiale et l'induction de l'activité protéolytique chez les quatre mycotaxons endophytes sélectionnés.

Dans le cas des endophytes *Alternaria sp.* et *F. oxysporum*, cette relation négative pour r= -0,862 (r: coefficient de corrélation de Pearson) et r= -0,654 pour les deux mycotaxons endophytes respectivement, est illustrée par le fait que l'activité protéolytique est largement dépassée par la biomasse fongique.

Chez *Chaetomium sp.*, cette relation négative pour r= -0,824 est illustrée par le fait que l'activité protéolytique exprimée par la formation du halo est importante comparativement au diamètre moyen des colonies fongiques.

Par contre, dans le cas de l'endophyte *Trichoderma sp.*, cette relation négative pour r= -0,952 est illustrée par le fait que le diamètre moyen des colonies fongiques est insignifiant (valeur maximale est de 5 mm) alors que le halo protéolytique formé est considérable.

Chez *Trichoderma sp.* et *Chaetomium sp.*, nous avons également remarqué que quelques heures après l'apparition du halo, il y a une formation d'une substance muqueuse blanchâtre occupant sa place (figure 50).



**Figure 50:** Formation de la substance blanchâtre après quelques heures de l'apparition du halo chez *Trichoderma sp.* et *Chaetomium sp.* respectivement.

### III.12 Discussion

Nous avons remarqué que le diamètre de la colonie et l'activité protéolytique sont deux paramètres corrélés négativement, cette relation n'est plus exprimée de la même manière pour les quatre taxons fongiques dont on a recordé une activité protéolytique. En effet, l'activité protéolytique chez *Chaetomium* sp. est importante par rapport à une production de biomasse, alors que chez *Trichoderma sp.*, cette biomasse faible est divergente par rapport à l'activité protéolytique très importante.

Les enzymes fongiques gagnent une place très importante dans l'agriculture, l'industrie et la santé humaine (MARIA *et al.*, 2005). Les enzymes de type protéases ont une importance commerciale (RAO *et al.*, 1998 In ORLANDELLI *et al.*, 2015). Ces enzymes sont considérées comme agents insecticides via leur rôle très important dans la digestion complète de la cuticule complexe des insectes (ANWAR & SALEEMUDDIN, 1998 In ORLANDELLI *et al.*, 2015).

Les protéases d'une variété de sources, dans notre cas, source de champignons ont une toxicité envers les insectes. Quelques-unes de ces protéases ayant une activité insecticide sont évoluées comme composants de venin, facteurs de résistance aux herbivores ou facteurs de pathogénicité microbienne. Cependant, d'autres protéases jouent un rôle dans le développement de l'insecte ou digestion, mais exercent un effet insecticide quand elles surexprimées de plantes génétiquement modifiées ou des pathogènes microbiens (HARRISON & BONNING, 2010).

POZO *et al.*, (2004) In ZHENG *et al.*, (2011) ont trouvé que le gène (*tsvp I*) codant la protéase de la sérine extracellulaire de *Trichoderma virens* joue un rôle dans le processus de biocontrôle contre les champignons pathogènes.

L'induction des protéases est un signe d'activité biologique plus ou moins importante, mais les répercussions peuvent être réparties entre les performances morphologiques et physiologiques du champignon. En effet, en 1987, MOSCOSO & ROSATO ont démontré une corrélation négative entre l'induction des protéases et la croissance radiale chez *Aspergillus nidulans*. Les mêmes observations ont été énoncées pour les deux champignons endophytes *Cladosporium echinulatum* et *Fusarium sp.* isolés à partir du faux-poivrier, d'où une corrélation négative entre l'induction protéolytique et la croissance radiale des colonies fongiques (ROUABAH, 2010).

D'autres conditions physiques, chimiques, des mutations, des hétérocaryoses ou des haploidisations (MURAYAMA & ISHIKAWA, 1973; MISHRA, 1977; MOSCOSO & ROSATO, 1987) peuvent être à l'origine de cette divergence, mais l'activité physiologique marquée par l'induction des protéases est un processus énergétique qui peut parfois épuiser les ressources destinées à l'établissement de la biomasse fongique. Les mêmes constatations ont été énoncées par ŽNIDARSIC & PAVKO, (2001).

La dégradation des protéines qui se trouvent dans les milieux nutritifs de base gélatineuse est parfois accompagnée par une hyper-diffusion de certaines enzymes de type α-amylase, gluco-amylase et tréhalase, qui peuvent altérer certains processus anaboliques de *Neurospora crassa* (GRATZNER, 1972) ou lors de la biodégradation des phthalates chez *Pleurotus ostreatus* (KIM & SONG, 2009) ou bien la Manganèse peroxydase (MnP) (BERMEK *et al.*, 2004). Mais, il est prématuré de retenir définitivement et d'affirmer ces constatations par rapport à nos résultats. En effet, les filtrats des quatre mycotaxons; *Alternaria sp.*, *F. oxysporum*, *Chaetomium sp.* et *Trichoderma sp.* sont pratiquement riches en substances actives telles que les enzymes, toxines ou autres métabolites secondaires.

Nos résultats nous indiquent que la croissance radiale des colonies fongiques chez *Alternaria sp.* est proportionnelle avec la vitesse de l'induction protéolytique. Ceci est dû au fait que ce champignon est marqué par une activité anabolisante importante.

Cependant, la croissance des colonies fongiques de *F. oxysporum* dépasse la vitesse de l'induction des protéases notamment à partir du 2<sup>ème</sup> jour d'observation. Ceci peut être attribué à une activité protéolytique juvénile qui sera minimisée, voir dominée par d'autres activités protéolytiques endogènes ou un métabolisme azoté insignifiant (formation de la chitine des parois fongiques et accumulation du glycogène).

En revanche, la croissance radiale moyenne chez *Chaetomium sp.* accompagnée par une activité protéolytique importante et la faible croissance radiale chez *Trichoderma sp.* accompagnée par une forte induction des protéases sont dûes probablement au fait que ces champignons sont marqués par une activité anabolisante faible, alors que la forte activité protéolytique peut exprimer un processus énergétique coûteux sur le plan physiologique, ainsi, on ignore si cette diffusion d'enzymes est accompagnée par la sécrétion de composés antibiotiques ou répulsifs.

On peut dire que l'activité protéolytique peut nous fournir des informations partielles pour expliquer pourquoi les filtrats fongiques des quatre mycotaxons endophytes se sont avérés efficaces contre les deux pucerons ciblés; *A. fabae* et *A. pomi*, notamment pour le champignon *Trichoderma sp.*. Cependant, il est préférable de caractériser la nature chimique des substances impliquées dans cette activité aphicide, telles que les chitinases et les alcaloïdes agissant comme des facteurs d'altération de la cuticule et de neurotoxicité, en d'autre terme, des facteurs d'entomopathogénèse.

## **Conclusion**

Dans ce manuscrit, nous avons pu mettre en évidence des champignons endophytes associés à la partie aérienne (feuilles et fruits) des deux espèces végétales; le faux-poivrier (*S. molle*, Anacardiaceae) et pour la première fois pour le Harmel (*P. harmala*, Zygophyllaceae).

Sur le plan quantitatif, la fréquence de colonisation (FC %) des mycoendophytes est signifiante dans les organes étudiés du faux-poivrier (feuilles 95%, fruits 88%) et du Harmel (feuilles 98%, fruits 56%), alors que le nombre des taxons identifiés est réduit. D'où l'intérêt de réaliser des travaux qui prendront en charge la saisonnalité comme élément déterminant du statut qualitatif de ces micro-organismes, par le fait qu'il détermine en quelque sorte les fluctuations physiologiques de l'hôte.

La majorité des champignons endophytes isolés est rangée au sein du groupe des champignons mitosporiques (Deutéromycètes), en particulier la classe des Hyphomycètes, ce groupe fongique semble le plus adapté à un mode de vie endophyte, même si le statut biochimique de *S. molle* et de *P. harmala* peut avoir un rôle dans la restriction des espèces colonisatrices.

Les filtrats issus des quatre mycotaxons; *Alternaria sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Chaetomium sp.* et de *Trichoderma sp.* ont une activité aphicide variable à l'égard des deux espèces aphidiennes ciblées; le puceron noir de la fève *Aphis fabae* et le puceron vert du pommier *Aphis pomi*. Cette variabilité est dûe principalement à la nature des métabolites produits par les mycotaxons testés.

Les taux (%) moyens de mortalité enregistrés vis-à-vis d'A. pomi sont largement déterminés par le type de filtrat et de la concentration préparée sur un spectre chronologique (après 2 heures et 24 heures du traitement) dont *Trichoderma sp.* avait la meilleure activité aphicide. Ainsi, l'évolution des taux moyens de mortalité enregistrés n'est plus proportionnelle par rapport au gradient de concentration où la mortalité maximale (91,76%) correspond à la concentration optimale (25% et 100%) et pas forcement la concentration maximale (c'est la loi de l'optimum). Cette variabilité de résultats peut refléter la nature des solvants (dans notre cas c'est l'eau distillée) qui peuvent affecter la structure biochimique des molécules des filtrats fongiques. Nous avons noté une vulnérabilité variable vis-à-vis des deux bio-agresseurs ciblés qui est dûe essentiellement aux variations intra-spécifiques et interspécifiques.

L'activité aphicide ne peut être exclusivement liée à l'induction des enzymes de type protéases. Ainsi, une corrélation négative entre la biomasse et l'activité protéolytique a été enregistrée chez les quatre champignons endophytes testés. Cette activité d'induction des protéases peut refléter par conséquence une activité biologique très importante dûe aux enzymes qui peuvent déterminées la virulence des mycotaxons choisis.

Néanmoins, nous pouvons dire que notre choix sera porté de préférence sur l'endophyte ayant une faible production en masse fongique et une forte activité protéolytique parallèle, donc *Trichoderma sp.* est considéré comme un bon candidat pour de futures expériences en la matière.

Il est recommandé dans les futures études de réaliser des travaux plus approfondis qui auront pour objectifs:

- 1. Réaliser davantage des études sur la mycoflore endophyte chez les deux espèces végétales; le faux-poivrier et le Harmel et faire identifier les mycotaxons sur le plan morphologique et moléculaire (identification de l'espèce et non seulement le genre par des techniques plus approfondies telles que la PCR et le séquençage), et faire diversifier les parties du végétal à investiguer (écorce, bois, racines, fleur, limbe, ...etc.);
  - 2. Etudier la variation du statut qualitatif des mycoendophytes suivant les saisons;
- 3. Etudier le comportement des espèces fongiques sélectionnées, à l'égard de divers milieux nutritifs et conditions physiques (température, lumière, humidité);
- 4. Cibler d'autres bio-agresseurs afin d'évaluer le spectre d'action des filtrats fongiques;
- 5. Etude histologique des individus ravageurs testés pour connaître le niveau de vulnérabilité;
- 6. Faire varier les solvants organiques utilisés pour les filtrats (solvants organiques de type alcools, acides, etc....) au lieu de se baser uniquement sur l'eau distillée;
- 7. Diversifier les formulations biologiques (formulation aqueuse, émulsion inverse, ...etc.) en diversifiant les adjuvants rajoutés aux formulations (talc, argile, ...etc.);
- 8. Etude des différentes activités enzymatiques chez les mycoendophytes sélectionnés;
- 9. Il est conseillé de choisir les champignons qui ont une faible biomasse fongique et une forte activité enzymatique d'où la nécessité de faire le dépistage des activités

enzymatiques extracellulaires des champignons endophytes (protéase, lipase, chitinase, cellulase, xylanase, oxydase, pectines, laccase, gélatinase, tyrosinase, ...etc.);

- 10. Caractériser la nature chimique des métabolites secondaires (alcaloïdes, flavonoïdes,...etc.) impliqués dans l'activité insecticide via l'application des méthodes perfectionnées (spectrophotomètre, électrophorèse, ...etc.);
- 11. Elargir les traitements sur des parcelles en plein champ afin de révéler l'efficacité des filtrats fongiques testés.

## Références bibliographiques

- 1. ABABOU A., CHOUIEB M., BOUTHIBA A., SAIDI D., M'HAMEDI B. M. & MEDERBAL K., 2013. Spatial pattern analysis of *Peganum harmala* on the solted lower Chelif plain, Algeria. *Turkish Journal of Botany*, 37: 111-128.
- **2.** ABBASIPOUR H., MAHMOUDVAND M., RASTEGAR F. & BASIJ M., 2010. Insecticidal activity of *Peganum harmala* seed extract against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Bulletin of Insectology*, **63** (2): 259-263.
- **3.** ABBASSI K., MERGAOUI L., ATAY-KADIRI Z., GHAOUT S. & STAMBOULI A., 2005. Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pélerin. *Zool. Baetica*, **16**: 31-46.
- **4.** ABBOTT W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18** (2): 265-267.
- **5.** ABDEL AZIZ H. G., ABDEL KADER S. M., EL-SAYED M. M., EL-MALT E. A. & SHAKER E. S., 2010. Novel B-carboline alkaloid from *Peganum harmala* as antibacterial agent. *Tenth Radiation Physics & Protection Conference*, *Egypt.* 10 p.
- **6.** ABUTBUL S., GOLAN-GOLDHIRSH A., BARAZANI O., OFIR R. & ZILBERG D., 2005. Screening of desert plants for use against bacterial pathogens in fish. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, **57** (2): 71-80.
- **7.** ACHOUR S., SAADI H., TUREANT A., BANANI A., MOKHTARI A., SOULAYMANI A. & SOULAYMANI B. R., 2012. Intoxication au *Peganum harmala* L. et grossesse: deux observations marocaines. *Médecine et Santé Tropicales*, **22**: 84-86.
- **8.** AHMAD M., ASHRAF M., KHAN M. S., JAVEED A., DURRANI A. Z., KHAN M. R., ALTAF I., IJAZ M. & MALIK N. A., 2013. Toxic effects of chloroform and aqueous extracts of *Peganum harmala* on hematological and growth parameters in rabbits. *Pakistan J. Zool*, **45** (4): 989-995.
- **9.** AL-MAHI I., IETIDAL A. & EIHAB I., 2013. Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. Egypt. *Acad. J. Biolog. Sci.*, **5** (1): 1-9.
- **10.** AMIN N., DAHA L., NASRUDDIN A., JUNAED M. & IQBAL A., 2013. The use of endophytic fungi as biopesticides against downly mildew *Peronosclerospora spp.* on maize. *Natural and Applied Sciences*, **4** (4): 153-159.

- 11. AMNA T., PURI S. C., VERMA V., SHARMA J. P., KHAJURIA R. K., MUSARRAT J., SPITELLER M. & QAZI G. N., 2006. Bioreactor studies on the endophytic fungus *Entrophospora infrequens* for the production of an anticancer alkaloid camptothecin. *Can. J. Microbiol*, 52: 189-196.
- **12.** ANDERSON C. M. T., MCGEE P. A., NEHL D. B. & MENSAH R. K., 2007. The fungus *Lecanicillium lecanii* colonises the plant *Gossypium hirsutum* and the aphid *Aphis gossypii*. *Australasian Mycologist*, **26** (2-3): 65-70.
- **13.** ARNOLD A. E., MAYNARD Z., GILBERT G. S., COLEY P. D. & KURSAR T. A., 2000. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse. *Ecology Letters*, **3**: 267-274.
- **14.** ARSHAD N., NEUBAUER C., HASNAIN S. & HESS M., 2008. Immunology, healthy and disease; *Peganum harmala* can minimize *Escherichia coli* infection in poultry, but long-term feeding may induce side effects. *Poultry Science*, **87**: 240-249.
- **15.** ATHMAN S. Y., DUBOIS T., VILJOEN A., LABUSCHAGNE N., COYNE D., RAGAMA P., GOLD C. S. & NIERE B., 2006. *In vitro* antagonism of endophytic *Fusarium oxysporum* isolates against the burrowing nematode *Radopholus similis*. *Nematology*, **8** (4): 627-636.
- **16.** AZEVEDO J. L., MACCHERONI J. R. W., PEREIRA J. O. & DEARAUJO W. L., 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electronic Journal of Biotechnology*, **3** (1): 40-65.
- **17.** BABAEI POUR A. & MOGHADAR N., 2012. Larval effect of extract of harmine and harmaline from *Peganum harmala* on juvenile of *Protostrongylus rufescens*. *Research in Pharmaceutical Sciences*, **7** (5): 1.
- **18.** BACON C. W. & WHITE J. F., 1994. Biotechnology of endophytic fungi. Jr. CRC Press, Boca Baton, Florida, 214 p.
- **19.** BAHADIR B., SENCAN S. & ONUR T., 2012. A case of serotonin syndrome with antidepressant treatment and concomitant use of the herbal remedy (*Peganum harmala*). *Bulletin of Clinical Psychopharmacology*, **22** (4): 359-361.
- **20.** BAHMANI M., RAFIEIAN-KOPAEI M., EFTEKHARI Z., BANIHABIB E., HAJIGHOLIZADEH G., BAHMANI F., AZADZADEH J., ABDOLLAHI R., KHEYRI A., SOTOUDEH A., KARAMATI S. A. & JELODARI M., 2013. Evaluating the anti-leech effects of methanolic extracts of *Peganum harmala* L. and *Oleae europeae* L. on *Limnatis nilotica*. *World's Vet. J.*, **3** (2): 33-37.
- **21.** BAKROUNE N. E., 2011. Diversité spécifique de l'aphidofaune (Homoptera, Aphididae) et de ses ennemis naturels dans deux (02) stations: El-Outaya et Ain Naga

- (Biskra) sur piment et poivron (Solanacées) sous abri-plastique. Thèse magister en Sciences agronomiques, option agriculture et environnement en région arides. Biskra, 124 p.
- **22.** BAO X., 2009. Endophytic fungi associated with pioneer plants growing on the Athabasca oil sands. Thèse Master en Science, Biologie, Saskatchewan, Canada, 99 p.
- **23.** BARATTO C. M., DUTRA V., BOLDO J. T., LEIRIA L. B., VAINSTEIN M. H. & SCHRANK A., 2006. Isolation, characterization, and transcriptional analysis of the chitinase *chi2* Gene (DQ011663) from the biocontrol fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Curr. Microbial*, **53**: 217-221.
- **24.** BATTA Y. A., 2004. Control of rice weevil (*Sitophilus oryzae* L., Coleoptera: Curculionidae) with various formulations of *Metarhizium anisopliae*. *Crop Protection*, **23**: 103-108.
- **25.** BELLONCIK S. & PARENT N., 1976. Toxicité du champignon entomopathogène *Cordyceps militaris* pour des larves de Culicidés. *Entomophaga*, **21** (4): 343-347.
- **26.** BENBOTT A., YAHYIA A. & BELAIDI A., 2012. Assessment of the antibacterial activity of crude alcaloids extracted from seeds and roots of the plants *Peganum harmala* L. *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, **2** (5): 568-573.
- **27.** BENSACI O. A., 2006. La mycoflore endophyte du cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Man.) dans le massif de Belezma (Aurès): Etude initiale. *Thèse Magist. Ing. Agr. Batna.* 96 p.
- **28.** BENSACI O. A., DAOUD H., LOMBARKIA N. & ROUABAH K., 2015. Formulation of the endophytic fungus *Cladosporium oxysporum* Berk. & M.A. Curtis, isolated from *Euphorbia bupleuroides* subsp. *luteola*, as a new biocontrol tool against the black bean aphid (*Aphis fabae* Scop.). *Journal of Plant Protection Research*, **55** (1): 80-87.
- **29.** BENTERROUCHE I., 2007. Réponses écophysiologiques d'essences forestières urbaines soumises à une fertilisation avec les boues d'épuration. Thèse magist. Ecologie et environnement en écologie végétale, Constantine, 217 p.
- **30.** BENZI V., STEFANAZZI N. & FERRERO A. A., 2009. Biological activity of essential oils from leaves and fruits of pepper tree (*Schinus molle* L.) to control rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, **69** (2):154-159.
- **31.** BERMEK H., GULSEREN I., LI K., JUNG H. & TAMERLER C., 2004. The effect of fungal morphology on ligninolytic enzyme production by a recently isolated wood-degrading fungus *Trichophyton rubrum* LSK-27. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **20**: 345-349.

- **32.** BEZERRA J. D. P., NASCIMENTO C. C. F., BARBOSA R. D. N., DA-SILVA D. C. V., SVEDESE V. M., SILVA-NOGUEIRA E. B., GOMES B. S., PAIVA L. M. & SOUZA-MOTTA C. M., 2015. Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-9.
- **33.** BHARATHIDASAN R. & PANNEERSELVAM A., 2011. Bio diversity of the endophytic fungi isolated from *Avicennia marina* in Ramanathapuram district, Karankadu. *World Journal of Science and Technology*, **1** (9): 01-05.
- **34.** BIDOCHKA M. J., & KHACHATOURIANS G. G., 1994. Basic proteases of entomopathogenic fungi differ in their adsorption properties to insect cuticle. *Journal of Invertebrate Pathology*, **64**: 26-32.
- **35.** BLACKMAN R. L. & EASTOP V. F., 2007. Taxonomic issues. **In** EMDEN H. F. V., HARRINGTON R. Aphids as crop pests. CAB International, London. pp 1-22.
- **36.** BOUZIANE N., 2012. Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* Boiss. & Reut. (Euphorbiaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) récoltés au sahara septentrional Est algérien sur les larves et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskal, 1775). Thèse magist. Ing. Agro., Ouargla. 72 p.
- **37.** BUCHWALDT L. & GREEN H., 1992. Phytotoxicity of destruxin band its possible role in the pathogenesis of *Alternaria brassicae*. *Plant Pathology*, **41**: 55-63.
- **38.** BUDIARTO B. R., MUSTOPA A. Z. & TARMAN K., 2015. Isolation, purification and characterization of extracellular protease produced by marine-derived endophytic fungus *Xylaria psidii* KT30. *Journal of Coastal Life Medicine*, **3** (1): 56-63.
- **39.** BURGUM A. A. & PRESCOTT J. M., 1965. Isolation and characteristics of a fungal endopeptidase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **111**: 391-398.
- **40.** CALZADA F., YEPEZ-MULIA L. & TAPIA-CONTRERAS A., 2007. Effect of mexican medicinal plant used to treat Trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of Ethnopharmacology*, **113**: 248-251.
- **41.** CAVALHER-MACHADO S. C., ROSAS E. C., BRITO F. A., HERINGE A. P., OLIVEIRA R. R., KAPLAN M. A. C., FIGUEIREDO M. R. & HENRIQUES M. D. G. M. O., 2008. The antiallergic activity of the acetate fraction of *Schinus terebinthifolius* leaves in IgE induced mice paws edema and pleurisy. *International Immunopharmacology*, **8**: 1552-1560.
- **42.** CHAVERRI P., GAZIS R. & SAMUELS G., 2011. *Trichoderma amazonicum*, a new endophytic species on *Hevea brasiliensis* and *H. guianensis* from the Amazon basin. *Mycologia*, **103** (1): 139-151.

- **43.** CHEPSTEW-LUSTY A. & WINFIELD M., 2000. Inca agroforestry: Lessons from the past. *Royal Swedish Academy of Sciences*, **29** (6): 322-329.
- **44.** CHOUGULE N. P. & BONNING B. C., 2012. Toxins for transgenic resistance to Hemipteran pests. *Toxins*, **4**: 405-429.
- **45.** CHRISTIAS C. H., HATZIPAPAS P., DARA A., KALLAFAS A. & CHRYSANTHIS G., 2001. *Alternaria alternata*, a new pathotype pathogenic to aphids. *Biocontrol*, **46**: 105-124.
- **46.** CLAY K., 1993. The ecology and evolution of endophytes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **44**: 39-64.
- **47.** CLAY K. & CHEPLICK G. P., 1987. Effect of ergot alkaloids from fungal endophyte-infected grasses on fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Journal of Chemical Ecology*, **15** (1): 169-182.
- **48.** CLEMENT S. L., WILSON A. D., LESTER D. G. & DAVITT C. M., 1997. Fungal endophytes of wild barley and their effects on *Diuraphis noxia* population development. *Entomologia Experimentalis & Applicata*, **82**: 275-281.
- **49.** CORDO C. A., MONACO C. I., SEGARRA C. I., SIMON M. R., MANSILLA A. Y., PERELLO A. E., KRIPELZ N. I., BAYO D. & CONDE R. D., 2007. *Trichoderma spp.* as elicitors of wheat plant defense responses against *Septoria tritici*. *Biocontrol Science and Technology*, **17** (7): 687-698.
- **50.** COSTA I. P. M. W., MAIA L. C. & CAVALCANTI M. A., 2012. Diversity of leaf endophytic fungi in mangrove plants of northeast Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*: 1165-1173.
- **51.** D'AMICO M., FRISULLO S. & CIRULLI M., 2008. Endophytic fungi occurring in fennel, lettuce, chicory and celery commercial crops in southern Italy. *Mycological Research*, **112**: 100-107.
- **52.** DARABPOUR E., BAVI A. P., MOTAMEDI H. & SEYYED NEJAD S. M., 2011. Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *EXCLI Journal*, **10**: 252-263.
- **53.** DA-SILVA M. V., SANTI L., STAATS C. C., DA-COSTA A. M., COLODEL E. M., DRIEMEIER D., VAINSTEIN M. H. & SCHRANK A., 2005. Cuticle-induced endo/exoacting chitinase CHIT30 from *Metarhizium anisopliae* is encoded by an ortholog of the *Chi3* gene. *Research in Microbiology*, **156**: 382-392.
- **54.** DASTAGIR G. & HUSSAIN F., 2013. Phytotoxic and insecticidal activity of plants of family Zygophyllaceae and Euphorbiaceae. *Sarhad J. Agric.*, **29** (1): 83-91.

- **55.** DEACON J., 2004. Fungal biology. 4ème édition. Blackwell publishing. London, 371 pp.
- **56.** DE ALMEIDA J., 2012. Aménagement d'une plate-bande de fleurs pour améliorer la lutte naturelle de deux ravageurs du pommier, *Hoplocampa testudinea* (Tenthredinidae) et *Aphis pomi* (Aphididae). Mémoire présenté comme exigence partielle de la maitrise en biologie. Université du Québec à Montréal, 91 p.
- **57.** DESHMUKH M. S. C. S. D., 2007. Molecular and cytological investigations of the fungal endophyte *Piriformospora indica* and its interactions with the crop plant barley. Thèse Doctorat. Naturwissenschaftlichen Fachbereiche der Justus-Liebig-Universität Gießen. Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie. 77 p.
- **58.** DEVECI O., SUKAN A., TUZUN N. & KOCABAS E. E. H., 2010. Chemical composition, repellent and antimicrobial activity of *Schinus molle L. Journal of Medicinal Plants Research*, **4** (21): 2211-2216.
- **59.** D'SOUZA M. A. & BHAT D. J., 2013. Occurrence of microfungi as litter colonizers and endophytes in varied plant species from the Western Ghats forests, Goa, India. *Mycosphere*, **4** (3): 567-582.
- **60.** EHSANPOUR A. A. & SA-ADAT E., 2002. Plant regeneration from hypocotyl culture of *Peganum harmala*. *Pak. J. Bot.*, **34** (3): 253-265.
- **61.** ELAMO P., HELANDER M. L., SALONIEMI I. & NEUVONEN S., 1999. Birch family and environmental conditions affect endophytic fungi in leaves. *Oecologia*, **118**: 151-156.
- **62.** ENNIGRU A., HOSNI K., CASABIANCA H., VULLIET E. & SMITI S., 2011. Leaf volatile oil constituents of *Schinus terebinthifolius* and *Schinus molle* from Tunisia. *FoodBalt*, 90-93.
- **63.** FAETH S. H. & HAMMON K. E., 1996. Fungal endophytes and phytochemistry of oak foliage: determinants of oviposition preference of leafminers?. *Oecologia*, **108**: 728-736.
- **64.** FATHIAZAD F., AZAMI Y. & KHODAIE L., 2006. Pharmacological effects of *Peganum harmala* seeds extract on isolated rat uterus. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences Spring*, **2** (2): 81-86.
- 65. FATTAH F. A. & WEBSTER J. M., 1989. Ultrastructural modifications of *Meloidogyne javanica* induced giant cells caused by fungal culture filtrates. *Revue Nematology*, 12 (2): 197-210.

- **66.** FERRERO A. A., CHOPA C. S., GONGALEZ J. O. W. & ALZOGARAY R. A., 2007. Repellence and toxicity of *Schinus molle* extracts on *Blattella germanica*. *Fitoterapia*, **78**: 311-314.
- **67.** FERRERO A. A., GONGALEZ J. O. W. & CHOPA C. S., 2006. Biological activity of *Schinus molle* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia*, **77**: 381-383.
- **68.** FERRERO A. A., MINETTI A., BRAS C. & ZANETTI N., 2007. Acute and subacute toxicity evaluation of ethanolic extract from fruits of *Schinus molle* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, **113**: 441-447.
- **69.** GLARE T., CARADUS J., GELERNTER W., JACKSON T., KEYHANI N., KOHL J., MARRONE P., MORIN L. & STEWART A., 2012. Have biopesticides come of age?. *Trends in Biotechnology*, **30** (5): 250-258.
- **70.** GOEL N., SINGH N. & SAINI R., 2009. Efficient in vitro multiplication of Syrian rue (*Peganum harmala* L.) using 6-benzylaminopurine pre-conditioned seedling explants. *Nature and Science*, **7** (7): 129-134.
- **71.** GOGOI D. K., DEKA H. P., SAIKIA B. R. & BORA T. C., 2007. Optimization of process parameters for improved production of bioactive metabolite by a novel endophytic fungus *Fusarium sp.* DF2 isolated from *Taxus wallichiana* of North East India. *World J. Microbiol Biotechnol.*: 1-9.
- **72.** GOLDSTEIN D. J. & COLEMAN R. C., 2004. *Schinus molle* L. (Anacardiaceae) chicha production in the central Andes. *Economic Botany*, **58** (4): 523-529.
- **73.** GOVEAS S. W., MADTHA R., NIVAS S. K. & D'SOUZA L., 2011. Isolation of endophytic fungi from *Coscinium fenestratum* —a red listed endangered medicinal plant. *Eurasia J. Biosci.*, **5**: 48-53.
- **74.** GRATZNER H. G., 1972. Cell wal alterations associated with the hyperproduction of extracellular enzymes in *Neurospora crassa*. *J. Bacteriol.*, **111**: 443-446.
- **75.** GUITTONNEAU G. G., 2011. La flore et la végétation de la Tunisie méridionale. *Société Botanique de France*, 281-359.
- **76.** HA T. N., 2010. Using *Trichoderma* species for biological control of plant pathogens in Vietnam. *J. ISSAAS.*, **16** (1): 17-21.
- **77.** HAGGAG W. M. & MOHAMED H. A. A., 2002. Enhancement of antifungal metabolites production from gamma-ray induced mutants of some *Trichoderma* species for control onion white rot disease. *Plant Pathology Bulletin*, **11**: 45-56.

- **78.** HAN L. R., WANG Z. H., ZHANG H. J., XUE L. S., FENG J. T. & ZHANG X., 2013. Isolation of endophytic fungi from *Tripterygium wilfordii* and their insecticidal activities. *African Journal of Microbiology Research*, **7** (9): 771-776.
- **79.** HARMAN G. E., HOWELL C. R., VITERBO A., CHET I. & LORITO M., 2004. *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Microbiology*, **2**: 43-56.
- **80.** HARRISON R. L. & BONNING C., 2010. Proteases as insecticidal agents. *Toxins*, **2**: 935-953.
- **81.** HASSAN A. E. H. A., 2007. Novel natural products from endophytic fungi of egyptian medicinal plants-chemical and biological characterization. Thèse Doctorat. Alexandria, Ägypten. 270 p.
- **82.** HATZIPAPAS P., KALOSAKA K., DARA A. & CHRISTIAS C., 2002. Spore germination and appressorium formation in the entomopathogenic *Alternaria alternata*. *Mycological Research*, **106**: 1349-1359.
- **83.** HAYOUNI A., CHRAIEF I., ABEDRABBA M., BOUIX M., LEVEAU J. Y., MOHAMMED H. & HAMDI M., 2008. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *International Journal of Food Microbiology*, **125**: 242-251.
- **84.** Ho M. Y., Chung W. C., Huang H. C., Chung W. H. & Wen-Hsin C. W. H., 2012. Identification of endophytic fungi of medicinal herbs of Lauraceae and Rutaceae with antimicrobial property. *Taiwania*, **57** (3): 229-241.
- **85.** HOWARD L. F. & MINNICH R. A., 1989. The introduction and naturalization of *Schinus molle* (pepper tree) in riverside, California. *Landscape and Urban Planning*, **18**: 77-95.
- **86.** HUANG W. Y., CAI Y. Z., HYDE K. D., CORKE H. & SUN M., 2008. Biodiversity of endophytic fungi associated with 29 traditional chinese medicinal plants. *Fungal Diversity*, **33**: 61-75.
- **87.** HUERTA A., CHIFFELLE I., PUGA K., AZÙA F. & ARAYA J. E., 2010. Toxicity and repellence of aqueous and ethanolic extracts from *Schinus molle* on elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola*. *Crop Protection*, **29**: 1118-1123.
- **88.** HYDE K. D. & SOYTONG K., 2008. The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity*, **33**: 163-173.

- **89.** IDRIS A. M., AL-TAHIR I. & IDRIS E., 2013. Antibacterial activity of endophytic fungi extracts from the medicinal plant *Kigelia africana*. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, **5** (1): 1-9.
- 90. IDRISSI-HASSANI L. M. & HERMAS J., 2008. Effets de l'alimentation en *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pélerin *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). *Zool. Baetica.*, 19: 71-84.
- **91.** IPONGA D. M., 2009. Invasive potential of the Peruvian pepper tree (Schinus molle) in South Africa. Thesis of Doctor of Philosophy. Stellenbosch University. Conservation ecology and entomology faculty of AgriSciences. 213 p.
- **92.** IPONGA D. M., CUDA J. P., MILTON S. J. & RICHARDSON D. M., 2008. *Megastigmus* wasp damage to seeds of *Shinus molle*, Peruvian pepper tree, across a rain fall gradient in South Africa: implications for invasiveness. *African Entomology*, **16** (1): 127-131.
- **93.** IPONGA D. M., MILTON S. J. & RICHARDSON D. M., 2009. Reproductive potential and seedling establishment of the invasive alien tree *Schinus molle* (Anacardiaceae) in South Africa. *SAAB Annual Meeting Abstracts*, 406 p.
- **94.** JALGAONWALA R. E. & MAHAJAN R. T., 2011. Evaluation of hydrolytic enzyme activities of endophytes from some indigenous medicinal plants. *Journal of Agricultural Technology*, **7** (6): 1733-1741.
- **95.** JALGAONWALA R. E., MOHITE B. V. & MAHAJAN R. T., 2011. A review: Natural products from plant associated endophytic fungi. *J. Microbiol. Biotech. Res.*, **1** (2): 21-32.
- **96.** JENA S. K. & TAYUNG K., 2013. Endophytic fungal communities associated with two ethno-medicinal plants of similipal biosphere reserve, India and their antimicrobial prospective. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **3** (4): 7-12.
- **97.** JINOUS A. & FERESHTEH R., 2012. Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **6** (22): 1573-1580.
- 98. KEMASSI A., BOUAL Z., BOUZIANE N., OULD EL HADJ-KHELIL A. & OULD EL HADJ M. D., 2013. Biological activity of essential oils leaves from one Sahara plant: Peganum harmala L. (Zygophyllaceae) on the locust desert. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 2 (8): 389-395.
- **99.** KHAN A. L., SHINWARI Z. K., KIM Y. H., WAQAS M., HAMAYUN M., KAMRAN M. & LEE I. J., 2012. Role of endophyte *chaetomium globosum* lk4 in growth of *Capsicum*

- annuum by producion of gibberellins and indole acetic acid. Pak. J. Bot., 44 (5): 1601-1607.
- **100.**KHAN R., SHAHZAD S., CHOUDHARY M. I., KHAN S. A. & AHMAD A., 2007. Biodiversity of the endophytic fungi isolated from *Calotropis procera* (AIT.) R. BR. *Pak. J. Bot.*, **39** (6): 2233-2239.
- **101.**KHARWAR R. N. & STROBEL G., 2011. Fungal endophytes: an alternative source of bioactive compounds for plant protection. **In:** DUBEY N. K., Natural products in plant pest management. Centre for advanced studies in botany Banaras Hindu University, Varanasi, India, pp 218-241.
- **102.**KHAWAR K. M., OZELT C. A., BALCIT S., OZCAN S. & ARSLANT O., 2005. Efficient shoot regeneration in Syrian rue (*Peganum harmala* L.) under *in vitro* conditions. *International Journal of Agriculture & Biology*, **7** (5): 790-793.
- **103.**KIM Y. M. & SONG H. G., 2009. Effect of fungal pellet morphology on enzyme activities involved in phthalate degradation. *The Journal of Microbiology*, **47** (4): 420-424.
- **104.**KNOTH. T. R., FAETH S. H. & ARNOTT D. L., 1993. Endophytic fungi alter foraging and dispersal by desert seed-harvesting ants. *Oecologia*, **95**: 470-473.
- **105.**KUCERA M., 1980. Proteases from the fungus *Metarhizium anisopliae* toxic for *Galleria mellonella* larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, **35**: 304-310.
- **106.**KUMALA S. & HANDAYANI A. P., 2011. Isolation of endophytic fungi from *Dipterocarpus grandiflorus* blanco and evaluation of xylanase enzyme activity from fermentation broth. *IJPSR*, **2** (1): 63-68.
- **107.**KUMARESAN V. & SURYANARAYANAN T. S., 2002. Occurrence and distribution of endophytic fungi in a mangrove community. *Mycological Research*, **105**: 1388-1391.
- **108.**KUSARI S., HERTWECK C. & SPITELLER M., 2012. Chemical ecology of endophytic fungi: origins of secondary metabolites. *Chemistry & Biology*, **19**: 792-798.
- **109.**LACEY L. A., FRUTOS R., KAYA H. K. & VAIL P., 2001. Insect pathogens as biological control agents: do they have a future ?. *Biological Control*, **21**: 230-248.
- 110.LAMBERT N., 2010. Lutte biologique aux ravageurs: Applicabilité au Québec. Centre universitaire de formation en environnement. Université de Sherbrooke, Québec, Canada. 103 p.
- **111.**LAMCHOURI F., ZEMZAMI M., JOSSANG A., SETTAF A., ISRAILI Z. H. & LYOUSSI B., 2013. Cytotoxicity of alkaloids isolated from *Peganum harmala* seeds. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **26** (4): 699-706.

- **112.**LAZNIK Z., CUNJA V., KAC M. & TRDAN S., 2010. Efficacy of three natural substances against apple aphid (*Aphis pomi* De Geer, Aphididae, Homoptera) under laboratory conditions. *Acta Agriculturae Slovenica*, **97** (1): 19-23.
- **113.**LEEPER J. R., 1980. Extension-based tree- fruit insect pest management strategies for apple and pear. *Plant Sciences*, **85**: 1-14.
- **114.**LO C. T. & LIN C. Y., 2002. Screening strains of *Trichoderma spp* for plant growth enhancement in Taiwan. *Plant Pathology Bulletin*, **11**: 215-220.
- **115.**LOPEZ-LLORCA L. V., CARBONELL T., & GOMEZ-VIDAL S., 2002. Degradation of insect cuticle by *Paecilomyces farinosus* proteases. *Mycological Progress*, **1** (3): 249-256.
- **116.**LYNCH R. E. & LEWIS L. C., 1978. Fungi associated with eggs and first instar larvae of the European corn borer. *Journal of Invertebrate Pathology*, **32**: 6-11.
- 117. MACHADO D. G., BETTIO L. E. B., CUNHA M. P., CAPRA J. C., DALMARCO J. B., PIZZOLATTI M. G. & RODRIGUES A. L. S., 2009. Antidepressant-like effect of the extract of *Rosmarinus officinalis* in mice: Involvement of the mono-aminergic system. *Progress in Neuro-Psychopharmacology, Biological Psychiatry*, 33: 642-650.
- **118.**MACHADO D. G., BETTIO L. E. B., CUNHA M. P., SANTOS A. R. S., PIZZOLATTI M. G., BRIGHENTE I. M. C. & RODRIGUES A. L. S., 2008. Antidepressant-like effect of rutin isolated from the ethanolic extract from *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the serotonergic and noradrenergic systems. *European Journal of Pharmacology*, **587**: 163-168.
- 119.MACHADO D. G., KASTER M. P., BINFARE R. W., DIAS M., SANTOS A. R. S., PIZZOLATTI M. G., BRIGHENTE I. M. C., CERVALHO D. A. & RODRIGUES A. L. S., 2007. Antidepressant-like effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the mono-aminergic system. *Progress in Neuro-Psychopharmacology, Biological Psychiatry*, 31: 421-428.
- **120.**MADAHI K. & SAHRAGARD A., 2012. Comparative life table of *Aphis pomi* (Hemiptera: Aphididae) on two host plants *Malus pumila* L. and *Chaenomeles japonica* under laboratory conditions. *J. Crop Prot.*, **1** (4): 321-330.
- **121.**MADHU BABU K. & BIKSHAL BABU K., 2012. A review on Brazilian pepper plant: *Schinus molle. Journal of Atoms and Molecules*, **2** (2): 6-13.

- **122.**MANGUNWARDOYO W., SUCIATMIH & GANDJAR I., 2012. Frequency of endophytic fungi isolated from *Dendrobium crumenatum* (Pigeon orchid) and antimicrobial activity. *Biodiversitas*, **13** (1): 34-39.
- **123.**MANSOUR M. & SOUDABE N., 2012. The effect of *Peganum harmala* and *Teucrium polium* halcoholic extracts on growth of *Escherichia coli* 0157. *Jundishapur J. Microbiol.*, **5** (3): 511-515.
- **124.**MANSOURI A., 2011. Les champignons endophytes chez le blé dur (*Triticum durum*.Desf): occurrence et rôle dans la tolérance au stress hydrique. *Thèse Magist*. *Ing. Agr. Batna*.127 p.
- **125.**MARIA G. L., SRIDHAR K. R. & RAVIRAJA N. S., 2005. Antimicrobial and enzyme activity of mangrove endophytic fungi of southwest coast of India. *Journal of Agricultural Technology*, **1**: 67-80.
- **126.**MARQUEZ S. S., BILLS G. F. & ZABALGOGEAZCOA I., 2007. The endophytic mycobiota of the grass *Dactylis glomerata*. *Fungal Diversity*, **27**: 171-195.
- **127.**MATERECHERA S. & HAE M. E., 2008. Potential of aqueous extracts from parts of the pepper tree (*Schinus molle* L.) to affect emergence and seedling development of wheat (*Triticum sativa* L.) and weeds in a manure amended soil. *The Open Agriculture Journal*, **2**: 99-104.
- **128.**MAYAD E. H., IDRISSI-HASSANI L. M., FERJI Z., CHEBLI B. & EL HADEK M., 2013. Quantitative and qualitative analysis by HPLC of major *Peganum harmala* alkaloids at different stages of development. *Journal of Natural Sciences Research*, **3** (11): 104-111.
- **129.**MENDONÇA ROCHA P. M., RODILLA J. M., DIEZ D., ELDER H., GUALA M. S., SILVA L. A. & POMBO E. B., 2012. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of aguaribay (*Schinus molle* L.). *Molecules*, **17**: 12023-12036.
- **130.**MERADSI F., 2009. Contribution à l'étude de la résistance naturelle de la fève *Vicia fabae* L. au puceron noir *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Homoptera, Aphididae). Thèse magister en agronomie, spécialité entomologie agricole et forestière. Batna, 83 p.
- 131.MICHAEL A. H. & RAJA N., 2012. Evaluation of *Melia azedarach* Linn *Croton macrostachys* Hochst and *Schinus molle* Linn plant extracts against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* Linn and their natural enemies *Diaeretiella rapae* (Mintosh) and *Hippodamia tredecimpunctata* Linn. *Asian Journal of Agricultural Sciences*, 4 (6): 411-418.

- **132.**MICZULSKI B. & MACHOWICZ-STEFANIAL Z., 1977. Fungi associated with the cereal leaf beetle *Oulema gallaeciana* (Coleoptera, Chrysomelidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, **29**: 386-387.
- **133.**MILENKOVIC S., MARCIC D. & RUZICIC L., 2013. Control of green apple aphid (*Aphis pomi* De Geer) in organic apple production. *Pestic. Phytomed.* (*Belgrade*), **28** (4): 281-285.
- **134.**MIRZAEI M., 2007. Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant *Peganum harmala*. *Korean Journal of Parasitology*, **45** (4): 267-271.
- **135.**MISHRA M., CHADHA N., KUMAR V., PRASAD R. & VARMA A., 2014. Root endophytic fungi from two extreme geographical regions of India. *Journal of Endocytobiosis and Cell Research*, **25**: 20-26.
- **136.**MISHRA N. C., 1977. Genitics and biochemistry of morphogenesis in *Neurospora*. *Adv. Genet.*, **19**: 341-405.
- **137.**MOLINA G., PIMENTEL M. R., BERTUCCI T. C. P. & PASTORE G. M., 2012. Application of fungal endophytes in biotechnological processes. *Chemical Engineering Transactions*, **27**: 289-294.
- **138.**MOMOTA P., SINGH B. K. & DEVI S. I., 2012. Role of endophytic microorganisms in sustainable agriculture. *Nebio*, **3** (2): 69-77.
- **139.**MONOD M., CAPOCCIA S., LECHENNE B., ZAUGG C., HOLDOM M. & JOUSSON O., 2002. Secreted proteases from pathogenic fungi. *International Journal of Medicinal Microbiology*, **292**: 405-419.
- **140.**MOSCOSO I. L. & ROSATO Y. B., 1987. Extracellular enzyme production by haploids, heterocaryons and diploids of *Aspergillus nidulans*. *Applied in Microbiol Biotechnology*, **26**: 365-368.
- **141.**MOSHIRI M., ETEMAD L., JAVIDI S. & ALIZADEH A., 2013. *Peganum harmala* intoxication, a case report. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, **3** (3): 288-292.
- **142.**MUJTABA A. V., 2011. Studies on production of oil based formulation of *Trichoderma* and their efficacy on foliar diseases of groundnut. Thesis master of Science (Agriculture) in plant pathology. Dharwad, 66 p.
- **143.**MURAYAMA T. & ISHIKAWA T., 1973. Mutation in *Neurospora crassa* affecting some of the extracellular enzymes and several growth characteristics. *J. Bacteriol*, **115**: 796-804.
- **144.**NAGARAJA T. G., 2011. Isolation and identification of seasonal endomycophytes of inner bark of *Castanospermum australe a. cunn* and *c. The Bioscan*, **6** (2): 263-265.

- **145.**NAVON A. & ASCHER K. R. S., 2000. Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes. CABI publishing, 337 p.
- **146.**NIDA A., 2012. Studies on reproductive biology of *Peganum harmala* L. Thèse Master. Département de Botanie, Kashmir, 146 p.
- **147.**OLIVEIRA D. F., PEREIRA A. C., FIGUEIREDO H. C. P., SILVA G., NUNES A. S., ALVES D. S. & CARVALHO H. W. P., 2007. Antibacterial activity of plant extracts from Brazilian south east region. *Fitoterapia*, **78**: 142-145.
- **148.**ORLANDELLI R. C., ALBERTO R. N., ALMEIDA T. T., AZEVEDO J. L. & PAMPHILE J. A., 2012. In vitro antibacterial activity of crude extracts produced by endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, **2** (10): 137-141.
- **149.**ORLANDELLI R. C., ALMEIDA T. T., ALBERTO R. N., POLONIO J. C., AZEVEDO J. L. & PAMPHILE J. A., 2015. Antifungal and proteolytic activities of endophytic fungi isolated from *Piper hispidum* Sw. *Brazilian Journal of Microbiology*, **46** (2): 359-366.
- **150.**OROZCO O. L. & LENTZ D. L., 2005. Poisonous plants and their uses as insecticides in Cajamarca, Peru. *Economic Botany*, **59** (2): 166-173.
- **151.**PADHI L., MOHANTA Y. A. K. & PANDA S. K., 2013. Endophytic fungi with great promises: A review. *Journal of Advanced Pharmacy Education & Research*, **3** (3): 152-170.
- **152.**PATEL C., YADAV S., RAHI S. & DAVE A., 2013. Studies on biodiversity of fungal endophytes of indigenous monocotaceous and dicotaceous plants and evaluation of their enzymatic potentialities. *International Journal of Scientific and Research Publications*, **3** (7): 1-5.
- **153.**PATEL K., GADEWAR M., TRIPATHI R., PRASAD S. K. & PATEL D. K., 2012. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid « harmine ». *Asian Pacific Journal of Biomedicine*, 660-664.
- **154.**PAUL N. C., KIM W. K., WOO S. K., PARK M. S. & YU S. H., 2006. Diversity of endophytic fungi associated with *Taraxacum coreanum* and their antifungal activity. *Mycobiology*, **34** (4): 185-190.
- **155.**PEDRINI P., GIOVANNINI P. P., MANTOVANI M., ANDREOTTI E. & COLALONGO C., 2009. Reduction screening with endophytic fungi: synthesis of homochiral secondary alcohols. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 1-6.

- **156.**PERVEEN A. & QAISER M., 2006. Pollen flora of Pakistan-XLIX. Zygophyllaceae. *Pak. J. Bot.*, **35** (2): 225-232.
- **157.**PIRTILLA A. M. M. N., 2001. Endophytes in the buds of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *Ouly, Finland*, 54 p.
- **158.**POOVENDRAN P., KALAIGANDHI V. & PARIVUGUNA V., 2011. *In vitro* study of antagonistic effect of *Trichoderma sp.*, on tea plant pathogen, *Phomopsis theae*. *Archives of Applied Science Research*, **3** (4): 352-358.
- **159.**PORRAS-ALFARO A. & BAYMAN P., 2011. Hidden fungi, emergent properties: endophytes and microbiomes. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **49**: 291-315.
- **160.**POWTHONG P., JANTRAPANUKORN B., THONGMEE A. & SUNTORNTHITICHAROEN P., 2012. Evaluation of endophytic fungi extract for their antimicrobial activity from *Sesbania grandiflora* (*L.*) *Pers. Int. J. Pharm. Biomed. Res.*, **3** (2): 132-136.
- **161.**PREMJANU N. & JAYANTHY C., 2012. Endophytic fungi a repository of bioactive compounds- a review. *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*, **2** (1): 135-162.
- **162.**QAZAN W. S., 2009. The effect of low levels of dietary *Peganum harmala* L. and *Ballota undulata* or their mixture on chicks. *Journal of Animal and Veterinary Advance*, **8** (8): 1535-1538.
- **163.**RAJU D. C., THOMAS S. M. & THOMAS S. E., 2015. Screening for extracellular enzyme production in endophytic fungi isolation from *Calophyllum inophyllum*. L leaves. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **7** (3): 900-904.
- **164.**RAKAUSKAS R., BASILOVA J. & BERNOTIENE R., 2015. *Aphis pomi* and *Aphis spiraecola* (Hemiptera, Sternorrhyncha, Aphididae) in Europe new information on their distribution, molecular and morphological peculiarities. *Eur. J. Entomol.*, **112** (2): 270-280.
- **165.**RAKOCEVIC T., 2005. Fungal endophytes, grasses and competition: an experimental and field approach. *These Master de science, York, Ontario*, 111 p.
- **166.**RAKOTONIRIANA E. F., MUNAUT F., DECOCK C., RANDRIAMAMPIONONA D., ANDRIAMBOLOLONIAINA M., RAKOTOMALALA T., RAKOTONIRINA E. J., RABEMANANTSOA C., CHEUK K., RATSIMAMANGA S. U., MAHILLON J., EL-JAZIRI M., QUETIN-LECLERCQ J. & CORBISIER A. M., 2007. Endophytic fungi from leaves of *Centella asiatica*: occurrence and potential interactions within leaves. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1-10.

- **167.**RAMESHA A., SUNITHA V. H. & SRINIVAS C., 2013. Antimicrobial activity of secondary metabolites from endophytic fungi isolated from *Nerium oleander L. International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **4** (1): 683-693.
- **168.**RASHMI P. A., JOSEPH D., JOY J. T. & MATHEW L., 2014. Bioactivities of Colletotrichum gloeosporioides an endophyte of Justicia athatoda. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, **5** (3): 552-558.
- **169.**RAVIRAJA N. S., MARIA G. L. & SRIDHAR K. R., 2006. Antimicrobial evaluation of endophytic fungi inhabiting medicinal plants of the Western Ghats of India. *Eng. Life Sci.*, **6** (5): 515-520.
- **170.**REZZAGUI A., 2012. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et de l'activité antioxydante des différents extraits des graines de *Peganum harmala*. Thèse magister. Faculté des sciences de la nature et de la vie, Sétif. 102 p.
- **171.** RITU A., ANJALI C., NIDHI T., SHEETAL P. & DEEPAK B., 2012. Biopesticidal formulation of *Beauveria bassiana* effective against larvae of *Helicoverpa armigera*. *Biofertilizers and Biopesticides*, **3** (3): 1-3.
- **172.**ROBERT A. & MESSING-AL-AIDROOS K., 1985. Acid production by *Metarhizium anisopliae*: Effect on virulence against mosquitoes and on detection of in vitro amylase, protease, and lipase activity. *Journal of Invertebrate Pathology*, **45**: 9-15.
- **173.**RODRIGUES K. F., 1994. The foliar endophytes of the Amazonian palm *Euterpe oleracea*. *Mycologia*, **86**: 376-385.
- **174.**RODRIGUES K. F. & SAMUELS G. J., 1999. Fungal endophyte of *Spondias mombin* leaves in Brazil. *J. Basic. Microbial*, **39** (2): 131-135.
- 175.ROUABAH K., 2010. Mise en évidence de l'activité bio-pesticide des champignons endophytes isolés à partir du faux-poivrier (*Schinus molle* L., Anacardiaceae). Mémoire Ing. Agr. Batna, 58 p.
- **176.**RUFFINENGO S., MARTIN E., FLORIS I., FAVERIN C., BAILAC P. & PONZI M., 2005. LD50 and repellant effects of essential oils from Argentinian wild plant species on *Varroa destructor. Journal of Economic Entomology*, **98**: 651-655.
- **177.**RUSMAN Y., 2006. Isolation of new secondary metabolites from sponge-associated and plantderived endophytic fungi. Thèse doctorat, *Düsseldorf*, 303 p.
- **178.**SADRATI N., DAOUD H., ZERROUG A., DAHAMNA S. & BOUHARATI S., 2013. Screening of antimicrobial and antioxidant secondary metabolites from endophytic fungi isolated from wheat (*Triticum durum*). *Journal of Plant Protection Research*, **53** (2): 128-136.

- **179.**SAIKKONEN K., WALI P., HELANDER M. & FAETH S.H., 2004. Evolution of endophyte-plant symbioses. *TRENDS in Plant Science*, **9** (6): 275-280.
- **180.**SAMUELS R. I. & PATERSON I. C., 1995. Cuticle degrading proteases from insect moulting fluid and culture filtrates of entomopathogenic fungi. *Component of Biochemical Physiology*, **110 B** (04): 661-669.
- **181.**SAMWAY'S M. J. & GRECH N. M., 1986. Assessment of the fungus *Cladosporium oxysporum* (Berk. and Curt.) as a potential biocontrol agent against homoptera. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **15**: 231-239.
- **182.**SANCHEZ-PEREZ L. C., BARRANCO-FLORIDO J. E., RODRIGUEZ-NAVARRO S., CERVANTES-MAYAGOITIA J. F. & RAMOS-LOPEZ M. A., 2014. Enzymes of entomopathogenic fungi, advances and insights. *Advances in Enzyme Research*, **2**: 65-76.
- **183.**SARGIN S., GEZGÍN Y., ELTEM R. & VARDAR F., 2013. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. *Turkish Journal of Biology*, **37**: 139-146.
- **184.**SARPELEH A., SHARIFI K. & SONBOLKAR A., 2009. Evidence of antifungal activity of Wild rue (*Peganum harmala* L.) on phytopathogenic fungi. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **116** (5): 208-213.
- **185.**SATHISH L., PAVITHRA N. & ANANDA K., 2012. Antimicrobial activity and biodegrading enzymes of endophytic fungi from *Eucalyptus*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **3**(8): 2574-2583.
- **186.**SCHARDL C. L., LIU J. S., WHITE J. F., FINKEL R. A., AN Z. & SIEGEL M. R., 1991. Molecular phylogenetic relationships of nonpathogenic grass mycosymbionts and clavicipitaceous plant pathogens. *P1. Syst. Evol.*, **178**: 27-41.
- **187.**SCOPEL R., NETO R. G., FALCÃO M. A., CASSEL E. & VARGAS R. M. F., 2013. Supercritical CO2 extraction of *Schinus molle* L. with co-solvents: Mathematical modeling and antimicrobial applications. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, **56** (3): 513-519.
- **188.**SEENA S. & SRIDHAR K. R., 2004. Endophytic fungal diversity of 2 sand dune wild legumes from the southwest coast of India. *Canadian Journal of Microbiology*, **50**: 1015-1021.
- **189.** SELIM K. A., EL-BEIH A. A., ABDEL-RAHMAN T. M. & EL-DIWANY A. I., 2012. Biology of endophytic fungi. *Current Research in Environmental & Applied Mycology*, **2** (1): 31-82.

- **190.**SEYE F., NDIAYE M., FAYE O. & AFOUTOU J. M., 2012. Evaluation of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* formulated with suneem (neem oil) against *Anopheles gambiae* s.l. and *Culex quinquefasciatus* adults. *Malaria Chemotherapy, Control and Elimination*, **1**: 1-6.
- **191.**Shahid M., Srivastava M., Sharma A., Kumar V., Pandey S. & Singh A., 2013. Morphological, molecular identification and SSR marker analysis of a potential strain of *Trichoderma/Hypocrea* for production of a bioformulation. *Plant Pathology and Microbiology*, **4** (10): 1-7.
- **192.**SHAKERI J. & FOSTER H., 2006. Proteolytic activity and antibiotic production by *Trichoderma harzianum* in relation to pathogenicity to insects. *Enzyme and Mycrobial Technology*, 1-8.
- **193.**SHARMA R. & KUMAR B. S. V., 2013. Isolation characterization and antioxidant potential of endophytic fungi of *Ocimum sanctum* Linn. (Lamiaceae). *Indian Journal of Applied Research*, **3** (7): 5-10.
- **194.**SHAO H., HUANG X., ZHANG Y. & ZHANG C., 2013. Main alkaloids of *Peganum harmala* L. and their different effects on dicot and monocot crops. *Molecules*, **18**: 2623-2634.
- **195.**SHI Y., ZHANG X. & LOU K., 2013. Isolation, characterization, and insecticidal activity of an endophyte of drunken horse grass, *Achnatherum inebrians*. *Journal of Insect Science*, **13** (5): 1-12.
- **196.**SHINYA R., AIUCHI D., KUSHIDA A., TANIM., KURAMOCHI K. & KOIKE M., 2008. Effects of fungal culture filtrates of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium spp.*) hybrid strains on *Heterodera glycines* eggs and juveniles. *Journal of Invertebrate Pathology*, **97**: 291-297.
- **197.**SHUKLA A. N., AROBA D. K. & DWIVEDI R. S., 1977. Effect of microbial culture filtrates on the growth of sal (*Shorea robusta* Gaertn.) leaf litter fungi. *Soil. Biol. Biochem.*, **9**: 217-219.
- **198.**SIA E. F., MARCON J., LUVIZOTTO D. M., QUECINE M. C., TSUI M., PEREIRA J. O., PIZZIRANI-KLEINER A. A. & AZEVEDO J. L., 2013. Endophytic fungi from the Amazonian plant *Paullinia cupana* and from *Olea europaea* isolated using cassava as an alternative starch media source. *Springer Plus*, **579** (2): 1-9.
- **199.**SIEBER T. N., 2007. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists?. *Fungal Biology Reviews*, **21**: 75-89.

- **200.**SINGH S. K., 2013. Endophytic fungi from *Jatropha curcus*: A preliminary study. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*, **2** (2): 26-29.
- **201.**SOLIMAN A. M. & FAHMY S. R., 2011. Protective and curative effects of the 15KD isolated protein from the *Peganum harmala* L. seeds against carbon tetrachloride induced oxidative stress in brain, tests and erythrocytes of rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **15**: 888-899.
- **202.** SPICHIGER R. E., SAVOLAINEN V. V. & FIGEAT M., 2000. Botanique systématique des plantes a fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. Presses polytechniques et universitaires romandes, 372 p.
- **203.**STEFANI F. O. P. & BERUBE J. A., 2006. Biodiversity of foliar fungal endophytes in white spruce (*Picea glauca*) from southern Québec. *Can. J. Bot.*, **84**: 777-790.
- **204.**STEKOLL M. & WEST C.A., 1978. Purification and properties of an elicitor of castor bean phytoalexin from culture filtrates of the fungus *Rhizopus stolonifer*. *Plant Physiology*, **61**: 38-45.
- **205.**STONE J. K., BACON C. W. & WHITE J. F., 2000. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. **In:** BACON C. W. & WHITE J. F. (Eds). Microbiol endophytes. Marcel Dekker, Inc. New York, Basel, pp 3-30.
- **206.**STONE J. K., POLISHOOK J. D. & WHITE J. F., 2004. Endophytic fungi. **In:** MUELLER G. M., BILLS G. F. & FOSTER M. S. (Eds). Biodiversity of fungi; inventory and monitoring methods. *Elsevier. Academic. Press*, pp 241-270.
- **207.**STUDER R. M., 1994. Interactions between green apple aphids (*Aphis pomi* De Geer) and apple plants (*Malus domestica* Borkh) subjected to water stress. Swiss Federal Institute of Technology Zurich for the degree of Doctor of Natural Sciences, Zurich. 175 p.
- **208.**Subbulakshmi G. K., Thalavaipandian A., Ramesh V., Bagyalakshmi & Rajendran A., 2012. Bioactive endophytic fungal isolates of *Biota orientalis* (L) Endl., *Pinus excelsa* Wall. and *Thuja occidentalis* L. *International Journal of Advanced Life Sciences*, **4**: 9-15.
- **209.**SUCIATMIH & RAHMANSYAH M., 2013. Endophytic fungi isolated from mangrove plant and have antagonism role against *fusarium* wilt. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, **8** (3): 251-257.
- **210.**SUN X. & GUO L. D., 2012. Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology*, **3** (1): 65-76.

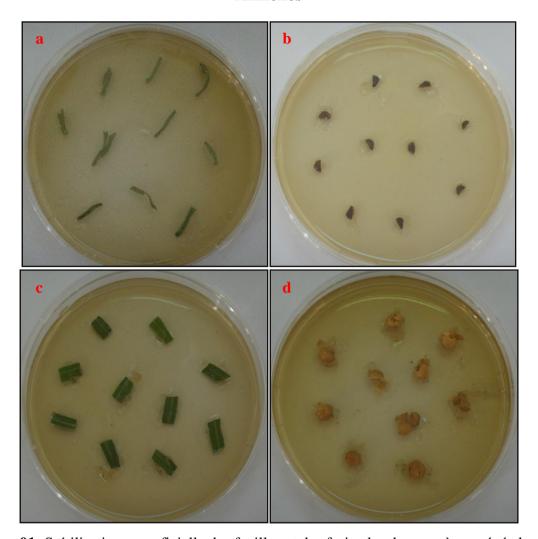
- **211.**SUNITHA V. H., DEVI D. N. & SRINIVAS C., 2013. Extracellular enzymatic activity of endophytic fungal strains isolated from medicinal plants. *World Journal of Agricultural* Sciences, **9** (1): 01-09.
- **212.**SURYANARAYANAN T. S. & THENNARASAN S., 2004. Temporal variation in endophyte assemblages of *Plumeria rubra* leaves. *Fungal Diversity*, **15**: 197-204.
- **213.**TANWEER A. J., CHAND N., KHAN S., QURESHI M. S., AKHTAR A. & NIAMATULLAH M., 2012. Impact of methanolic extract of *Peganum harmala* on the weight gain, feed conservation ratio, feed cost and gross return of broiler chicks. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, **22** (2): 264-267.
- **214.**TEJESVI M. V., MAHESH B., NALINI M. S., PRAKASH H. S., KINI K. R., SUBBIAH V. & SHETTY H. S., 2006. Fungal endophyte assemblages from ethnopharmaceutically important medicinal trees. *Can. J. Microbiol*, **52**: 427-435.
- 215.TIKHONOV V. E., LOPEZ-LLORCA L. V., SALINAS J. & JANSSON H. B., 2002. Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. Fungal Genetics and Biology, 35: 67-78.
- **216.**TING A.S.Y., MAH S.W. & TEE C.S., 2010. Identification of volatile metabolites from fungal endophytes with biocontrol potential towards *fusarium oxysporum* f. Sp. *Cubense* race 4. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, **5** (2): 177-182.
- **217.**TRAN H. B. Q., MCRAE J. M., LYNCH F. & PALOMBO E. A., 2010. Identification and bioactive properties of endophytic fungi isolated from phyllodes of *Acacia* species. *Applied Microbiology and Microbiol Biotechnology*, 377-382.
- **218.**VANDER-WERF E. A., 2005. 'Elepaio" anting" with a garlic snail and a *Schinus* fruit. *Journal of Field Ornithology*, **76** (2): 134-137.
- **219.** VEGA F. E., GOETTEL M. S., BLACKWELL M., CHANDLER D., JACKSON M. A., KELLER S., KOIKE M., MANIANIA N. K., MONZON A., OWNLEY B. H., PELL J. K., RANGEL D. E. N. & ROY H. E., 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, **2**: 149-159.
- **220.** VEGA F. E., POSADA F., AIME M. C., PAVA-RIPOLL M., INFANTE F. & REHNER S. A., 2008. Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control*, **46**: 72-82.
- **221.**VILAIN Y., IFFAT L. & DEOGRATIAS J. M., 2014. Observation du pathosystème *Pittosporum tobira / Aphis fabae* et choix de l'auxiliaire. AFPP-Dixième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture Montpellier, 10 p.

- **222.**WECKESSER W., 2013. First record of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) and subsequent eradication treatment. *Phytoneuron*. **71**: 1-5.
- **223.**WHETSTONE P. A. & HAMMOCK B. D., 2007. Delivery methods for peptide and protein toxins in insect control. *Toxicon*, **49**: 576-596.
- **224.**YEO H., 2000. Mycoinsecticides for aphid management: A biorational approach. Thesis Doctor of phylosophy. University of Nottingham, 286 p.
- **225.**YOVO K., 2010. Consentement à payer les biopesticides: une enquête auprès des maraichers du littoral au Sud-Togo. *Tropicultura*, **28** (2): 101-106.
- **226.**ZAKI F. A., 1994. Effect of culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* on *Meloidogyne javanica*. *Nematology Mediterranean*, **22**: 41-43.
- **227.**ZAKI M. J., 1999. Effect of fungal culture filtrates on mortality and hatching of *Meloidogyne javanica. Pakistan Journal of Biological Sciences*, **2** (1): 161-163.
- **228.**ZERROUG A., 2011. Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.). *Thèse Magist. Ing. Micro. Sétif.* 89 p.
- **229.**ZHENG Y., XUE Q. Y., XU L. L., XU Q., LU S., GU C. & GUO J. H., 2011. A screening strategy of fungal biocontrol agents towards *Verticillium* wilt of cotton. *Biological Control*, **56**: 209-216.
- **230.**ZNIDARSIC P. & PAVKO A., 2001. The morphology of filamentous fungi in submerged cultivations as a bioprocess parameter. *Food. Technol. Biotechnol.*, **39** (3): 237-252.

#### Sites web

- 1. http://en.wikipedia.org/wiki/Peganum\_harmala.
- **2.** http://de.wikipedia.org/wiki/Steppenraute.
- **3.** http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/07/Schinus\_molle01.
- **4.** http://www.chileflora.com.
- **5.** http://photosynthese.fr/plantes/plante-36917-Shinus-molle.html.
- **6.** http://de.wikipedia.org/wiki/Aphis pomi.
- 7. http://de.wikipedia.org/Aphis fabae.

# Annexes



**Figure 01:** Stérilisation superficielle des feuilles et des fruits des deux espèces végétales; (a): feuilles de *P. harmala*, (b): graines de *P. harmala*, (c): feuilles de *S. molle*, (d): fruits de *S. molle*.

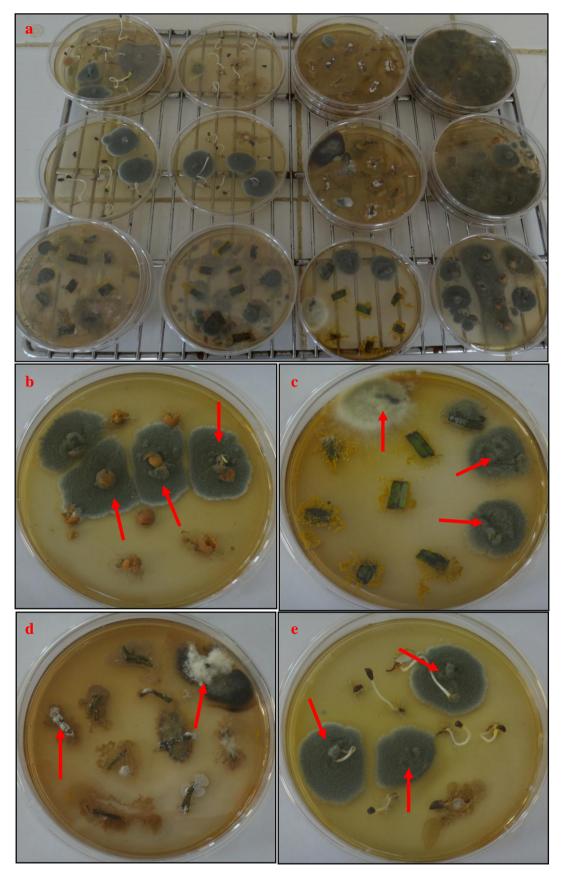
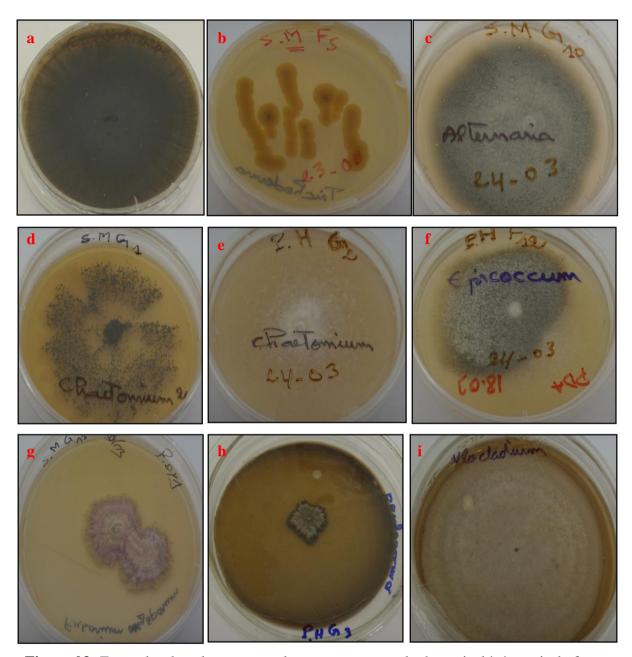
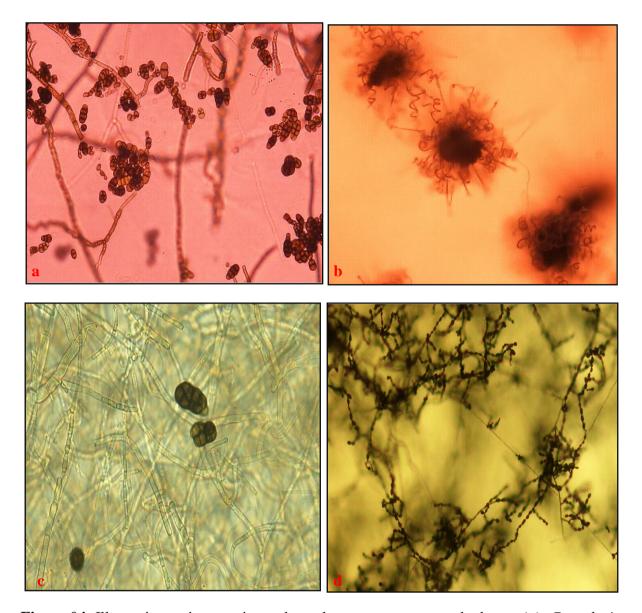


Figure 02: (a), (b), (c), (d), (e); Emergence des colonies endophytes à partir des feuilles et des fruits au sein du faux-poivrier et du Harmel.



**Figure 03:** Exemples de cultures pures des mycotaxons endophytes isolés à partir du faux-poivrier et du Harmel; (a): *Curvularia sp.*, (b): *Trichoderma sp.*, (c): *Alternaria sp.*, (d), (e): *Chaetomium sp.*, (f): *Epicoccum sp.*, (g): *Fusarium oxysporum*, (h): *Botryoderma sp.*, (i): *Ulocladium sp.* 



**Figure 04:** Illustrations microscopiques de quelques mycotaxons endophytes; (a): *Curvularia* sp. (G× 100), (b): *Chaetomium sp.* (G× 100), (c): *Ulocladium sp.* (G× 100), (d): *Alternaria* sp. (G× 40).

### Milieu de «WICKERHAM»:

D'après HASSAN (2007), le milieu est composé essentiellement de:

- L'agar: 3g;
- Extrait de malt: 3g;
- Peptone: 5g;
- Glucose: 10g;
- Eau distillée: 1000 ml (1L);
- Le pH est compris entre 7,2 et 7,4.

## Milieu de l'induction de l'activité protéolytique:

D'après LOPEZ-LLORCA *et al.*, (2002), le milieu de culture utilisé est une solution saline composée essentiellement de:

- NaCl: 0.3g;
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 0.3g;
- MgSo<sub>4</sub>.7 H<sub>2</sub>O: 0.3g;
- Agar: 10g;
- Gélatine: 5g;
- Eau distillée: 1000 ml (1L).

#### Résumé

Les mycotaxons endophytes ont été détectés et isolés à partir de la partie aérienne (feuilles et fruits) des deux espèces végétales; le faux-poivrier (Schinus molle L., Anacardiaceae) et pour la 1<sup>ère</sup> fois pour le Harmel (Peganum harmala L., Zygophyllaceae). Vingt trois mycotaxons furent identifiés dont onze isolés du faux-poivrier et douze isolés de la 2 eme espèce où la majorité des isolats fongiques est rangée au sein du groupe Mitosporique (Deutéromycètes). Quatre isolats endophytes ont été testés pour caractériser leurs potentialités bioinsecticide à l'égard d'Aphis fabae et A. pomi via leurs filtrats fongiques. Il s'est avéré que les quatre filtrats fongiques ont une activité aphicide variable à l'égard des pucerons ciblés, mais beaucoup plus marquante vis-à-vis d'A. pomi, avec 91,76% de mortalité. D'autre part, cette activité n'est pas proportionnelle au gradient de concentration à cause de leur nature biochimique et au type de solvant qui peut affecter la stabilité des molécules impliquées au sein du filtrat. Alors que la croissance radiale des colonies fongiques suit une allure exponentielle, elle est cependant corrélée négativement à l'activité protéolytique caractérisée chez les quatre mycotaxons testés; Alternaria sp., Fusarium oxysporum, Chaetomium sp. et Trichoderma sp. La production des protéases ne peut plus être le seul élément explicatif de l'activité aphicide des champignons endophytes sélectionnés pour cette étude. Le choix des candidats rentables pour un processus de production en masse de bioaphicide doit prendre en compte des données biologiques et techniques liées à chaque endophyte, dont le moins exigeant et le plus actif sera le mieux adapté pour une production à grande échelle; c'est le cas de Trichoderma sp.

<u>Mots clés:</u> *Schinus molle*, *Peganum harmala*, champignons endophytes, filtrats fongiques, bioaphicide, activité protéolytique, lutte biologique.

اكتشفت الفطريات الداخلية وعزلت من الجهة العلوية (أوراق و ثمار) للفلفل الكاذب (Schinus molle L.) و لأول مرة للحرمل (Peganum harmala L.) ، إذ تم التعرف على ثلاثة و عشرون صنفا حيث تم عزل إحدى عشر صنفا من الفلفل الكاذب و إثنا عشر من الحرمل. صنفت أغلبية الفطريات ضمن مجموعة الفطريات الناقصة (Mitosporique). تم تجربة رشاحة أربعة أصناف منها لمعرفة مدى فعاليتها ضد حشرات المن (Aphis fabae, A. pomi) وأثبتت التجربة أن لها فعالية نسبية ضد هذه الحشرات، و أن أكثرها تأثرا هي حشرة من التفاح من المسبة 1,76 %. و من ناحية أخرى لا يتوافق هذا النشاط البيولوجي مع تركيز الرشاحة العائد إلى الطبيعة البيولوجية للرشاحة ونوع المذيب الذي له قدرة التأثير على ثبات الرشاحة. كما أثبتت التجربة أن تطور نمو المستعمرات يخضع لزيادة مستمرة يتوافق سلبا مع النشاط الإنزيمي لكل من الفطريات المجربة: Alternaria sp., Fusarium oxysporum, Chaetomium sp و إطار اختيار لا يمكن اعتبار إفراز الإنزيمات الهادمة للبروتينات عاملا أساسيا في تفسير النشاط الحيوي لهذه الفطريات ضد حشرات المن. في إطار اختيار رشاحة الفطر الأكثر نجاعة ضد الحشرات، من الضروري الأخذ بعين الاعتبار مختلف المعطيات البيولوجية والتقنية لكل فطر؛ فالفطر الأقل استهلاكا والأكثر نشاطا هو الذي ينصح باستعماله في الإنتاج على نطاق أوسع (حالة 1,77 راسة (Trichoderma sp.)).

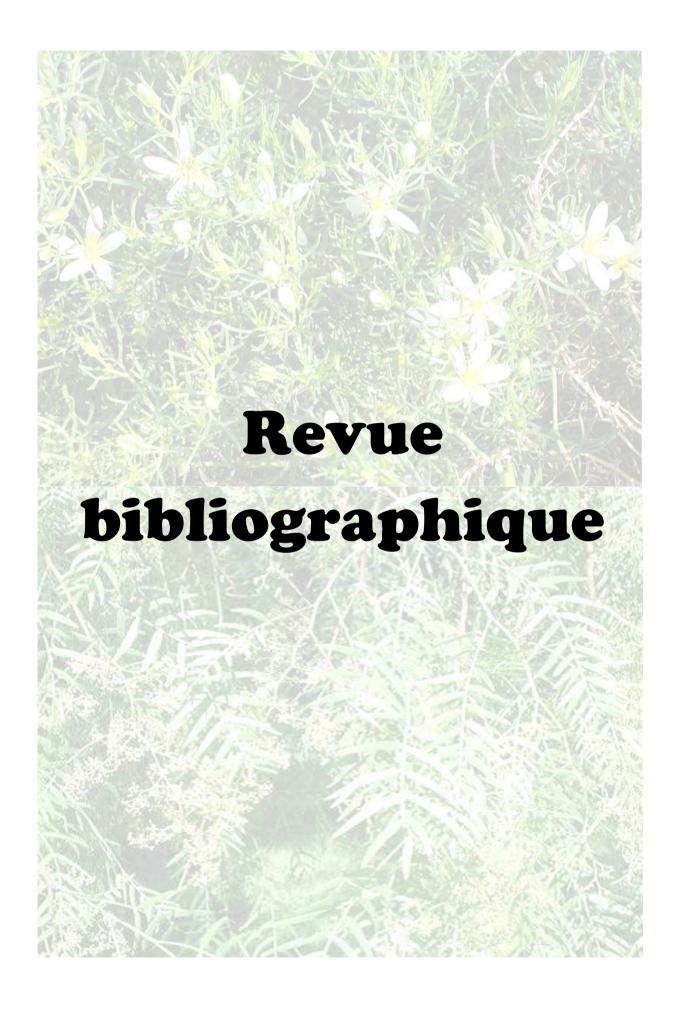
الكلمـــات المفتاحيـــة: الفلفل الكاذب، الحرمل، الفطريات الداخلية، مركب حيوي، نشاط إنزيمي بروتيني، مكافحة بيولوجية.

<u>Abstract</u> Bioprospection of the potentialities aphicids of endophytes fungi against two aphids; *Aphis fabae* and *Aphis pomi* (Hemiptera, Aphididae)

Endophytes fungi were isolated from aerial part (leaves and fruits) of Brazilian pepper tree (Schinus molle L., Anacardiaceae) and for the first time of the Harmel (Peganum harmala L., Zygophyllaceae). Twenty three mycotaxa were identified whose eleven isolated from S. molle and twelve isolated from the second plant. The vast majority are included in Mitosporic group (Deuteromycota). Four fungi isolates were tested for their aphicid activity against black bean aphid (Aphis fabae) and green apple aphid (A. pomi) through their filtrates. All filtrates were variable aphicid activity against targeted aphids, but more efficiency against A. pomi with a mortality rate of 91,76%. In the other hand, this activity is not proportionally expressed regarding to concentration gradient because of the biochemical nature and type of solvent which can affect molecular stability of filtrate compounds. While colony's radial growth follows an exponential rate, however, it have a negative correlation to proteolytic activity detected in all isolates tested; Alternaria sp., Fusarium oxysporum, Chaetomium sp. and Trichoderma sp. Protease synthesis can not be the only factor explaining the insecticid activity of the selected endophytic fungi. The choice of best rentable candidates for a bioaphicid mass production process must take in account biological and technical data related to each endophyte species, among them the less demanding and more active is the better suited for mass production (Trichoderma sp. case).

<u>Keywords</u>: *Schinus molle*, *Peganum harmala*, endophytic fungi, filtrates, bioaphicid, proteolytic activity, biological control.











# Références bibliographiques

# Annexes