

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHESCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire

De fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : Biodiversité et environnement

Thème

**Evaluation de l'effet bio-insecticide d'*Evernia prunastri* sur
le charançon du riz (*Sitophilus oryzae. L*)**

Présenté par : -M^{elle} Alouache Kamelia
-M^{elle} Slimane Zahia

Soutenu devant le jury :

Présidente : M^{me} Aouar-sadli.M Professeur à l'UMMTO

Promotrice : M^{me} Sahmoune.F Maitre assistante classe A à l'UMMTO

Examinatrice : M^{me} Lardjane.N Maitre de conférence classe A à l'UMMTO

Promotion : 2020/2021

Remerciements

Remerciements

On tient avant tout a remercié Dieu à nous donner la volonté et la force pour achever ce Travail.

*D'abord on voudrait adresser toute nos profonds et sincères remerciements à madame **SAhmoune Fadila**, on tient tout particulièrement à la remercie de nous avoir encadré, conseillé, encouragé et soutenue, qu'elle soit assuré de notre respect.*

*On désir aussi remercier madame **Aouar-sadli Malika**, de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*Nous remercions aussi Madame **Lardjane Nadia** de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail et de l'enrichir par leurs critiques constructives.*

*On désir aussi remercier la responsable de notre spécialité M^{me} **Sadoudi Djamila** professeure a l'UMMTO de nous avoir fournis les outils nécessaires à la réussite de nos études durant ces deux dernières années.*

*On remercier aussi notre chef du département et notre prof monsieur **oudjiane Ahmed** qui nos a soutenu et encouragé dans nos études.*

Nous remercions tous les enseignants ayant contribué à notre formation.

Enfin, un grand Merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin au succès et ou réalisation de ce travail pour leur aide et encouragement.

Kamelia & Zahia

Kamelia & Zahia

Dédicace

*Un moral d'acier et une volonté de fer décrivent bien mon parcours jusqu'ici.
Ce dire combien il m'a été difficile de patienter toute une décennie pour
prétendre à ce Master. Dieu merci, j'ai été bien entouré et je tiens à dédier ce
mémoire.*

*A mes chers parents ESSAID et YAMINA qui m'ont soutenu depuis mon premier
jour dans ce monde et qui m'ont encouragé durant toutes mes études que dieu
tout puissant me les gardes.*

A mes chers frères KAMEL, KARIM, et YACINE.

A mes sœurs NAIMA, RABEA et ces enfants AKSIL et ILINE.

A tous mes amis.

Et Particulièrement a ma binôme KAMELIA.

ZAHIA

Dédicace

*Le grand merci à **ALLAH** le tout puissant et le miséricordieux.*

A la mémoire de ma mère Hafida qui nous a quittés pour toujours

Aucune dédicace ne saurait être suffisante pour exprimer l'amour, l'estime, le respect, que je t'ai toujours eu pour toi.

*Rien au monde ne vaut les efforts que tu as fournis depuis ma naissance jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. tes conseils tes paroles ton sourire ne détache jamais ma mémoire. Que ce modeste travail soit l'un de tes vœux et le fruit de tes sacrifices. **Puisse Allah, le miséricordieux t'accorde son paradis.***

A mon très cher père Mohamed

Vous présentez pour moi le symbole de mon bonheur par excellence et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.

Tu as fait plus qu'un père puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Aucune dédicace ne serait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez. Puisse dieux, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher Mari Yazid

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour

Ma vie à tes cotés est remplie de belles surprises et souvenir. Tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse, ton profond attachement m'ont permis de réussir.

Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements j'aurai du perdre.

Que dieu réunisse nos chemins et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et De mon amour sincère et fidèle.

Je dédie ce modeste travail ;

*A mes sœurs, **Kahina, Karima, safia, Samira, et Lydia** et leurs enfants, surtout mes nièces **Nesrine, Aya, Alycia**, et ma petite belle **Amel**.*

*A mes frères **Said, Kaci** et leurs enfants et mon très cher frère que je l'aime trop **lounes** que dieu le protège à l'étranger.*

*A ma grand -mère **wardia** que dieu t'accorde son paradis.*

*A toute ma famille et ma belle-famille surtout ma belle-mère **Djouhare** et beau père **Mohamed** je vous accordez santé, et longue vie et bonheur.*

*A tous mes amis. Et ma très cher binôme **Zahia**.*

Kamelia

Liste des abréviations

CCM : Chromatographie sur couche mince.

RE : Rendement d'extraction.

RF : Rapport frontal.

GAW : Glycérol-Ethanol-eau.

GE : Glycérol-Acide acétique glacial.

Liste des figures

Figure 01 : Structure homéomère de <i>collematenax</i> (Ozenda et Clausade, 1970)	03
Figure 02 : Structure hétéromère stratifiée de <i>Lobaria pulmonaria</i> (Tievant, 2001).....	04
Figure 03 : Structure hétéromère radiée (Tievant, 2001)	05
Figure 04 : Relations nutritionnelles entre les constituants du les lichens et le milieu extérieure (Souchon, 1970)	07
Figure 05 : Biogenèse des substances lichéniques (Van Haluwyn et Lerond, 1993).....	10
Figure 06 : Cartes de localisation de la forêt de Tala-Guilef	16
Figure 07 : Différents états de <i>Sitophylus oryzae</i> . L A: larve, B: nymphe, C: adulte (Walter, 2002).....	18
Figure 08 : Le protocole d'extraction acétonique à partir de matière lichénique.....	21
Figure 09 : La moyenne de mortalité en % en fonction du temps pour le témoin (0g)	27
Figure 10 : La moyenne de mortalité en % en fonction du temps pour la dose de 2g	28
Figure 11 : La moyenne de mortalité en % en fonction du temps pour la dose de 4g	29
Figure 12 : La moyenne de mortalité en % en fonction du temps pour la dose de 6g	30
Figure 13 : La moyenne de taux de mortalité en fonction de temps pour les quatre doses	31

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les résultats obtenus en % pour le témoin (0g)	27
Tableau 02 : Les résultats obtenus pour la dose deux (2) grammes.....	28
Tableau 03 : Les résultats obtenus pour la dose de quatre (4) grammes.....	29
Tableau 04 : Les résultats obtenus pour la dose de six (6) grammes	30
Tableau 05 : Tableau global de la moyenne de mortalité en % pour les quatre doses.....	31

Liste des photos

Photo 01 : La zone de récolte de l'espèce lichénique <i>Evernia prunastri</i>	18
Photo 02 : <i>Evernia prunastri</i>	19
Photo 03 : Méthode de préparation du matériel végétal.....	20
Photo 04 : L'isolement de substance majoritaire de l'extrait lichénique	20
Photo 05 : Lames préparées pour la micro-cristallisation.	22
Photo 06 : Le test en contact de la poudre lichénique mélangée avec le riz contre le ravageur (<i>Sitophilus oryzae. L</i>)	23
Photos 07 : Les substances lichéniques observées en microscope en lumière polarisés Chez <i>Evernia prunastri</i> dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE.....	25
Photos 08 : Profil chromatographique en phase mobile (130 ml d'Hexan, 80 ml Diethylether, 20 ml d'acide formique.).....	26

Sommaire

Introduction	1
PARTIE I : Synthèse bibliographique	
I- Généralités sur les lichens	3
I-1- Définition	3
I-2- L'anatomie des lichens.....	3
I-3- La reproduction des lichens.....	5
I-3-1-Multiplication végétative	5
I-3-2- Reproduction sexuée	6
I-4-La symbiose lichénique	6
I-4-1-Les constituants des lichens	6
I-5-Les rapports algues-champignon et nature de la symbiose lichénique	7
I-5-1 -Rapport cytologique.....	7
I-5-2 -Rapport métabolique	7
I-6-Biochimie des lichens.....	8
I-6-1- Biosynthèse des substances lichéniques	8
I-6-2-La voie acétate –malonate.....	8
I-6-3-La voie mévalonate	10
I-6-4-La voie de l'acide shikimique	10
I-6-5- Localisation des substances lichéniques	10
I-7- Ecologie des lichens	11
I-7-1-Facteurs édaphiques	11
I-7-2-Facteurs climatiques.....	11
I-7-3- Facteurs biologiques	12
I-8- Usage des lichens	12
I-8-1 Usage alimentaires	12
I-8-2- Usages médicaux	12
I-8-3- Usage industriels.....	13

Sommaire

I- 9-Généralités sur les bio-pesticides	13
I-9-1-Définition des bio-pesticides.....	13
I-9-2-Les différentes catégories des bio-pesticides	14
I-9-3- les avantages des bio-pesticides	14
I-9-4- Inconvénients	15

PARTIE II : Matériel et Méthodes

II-Matériel	16
II-1-Matériel végétal	16
II-1-1-Présentation de site du prélèvement	16
II-1-2- Géolocalisation de la forêt de Tala-Guilef.....	16
II-2- Matériel animal	17
II-2-1- Le charançon de riz (<i>Sitophilus oryzae</i> L.).....	17
II-3- La méthodologie	18
II-3-1- La récolte des lichens.....	18
II-3-2- La conservation des lichens au laboratoire	18
II-4- Description d' <i>Evernia prunastri</i>	19
II -4-1-Classification d' <i>Evernia prunastri</i>	19
II-5-Préparation du matériel végétal	19
II-6- Identification des composés lichénique par la micro-cristallisation	22.
II-6-1-Mode opératoire de la micro-cristallisation.....	22
II-7- Chromatographie sur couche mince.....	22
II-7-1-Description de la technique	22
II-7-2- Paramètres calculés.....	22
II-8- Activité bio-insecticide de la poudre lichénique d' <i>Evernia prunastri</i>	23
II-9-Analyse statistique	23

Sommaire

PARTIE III : Résultats et discussion

III- Résultats et interprétations.....	25
III-1 Résultat de rendement d'extractions RE	25
III-2-Résultats d'observation au microscope en lumière polarisée	25
III-3-Résultats de la chromatographie	26
III-4-Résultats de l'activité bio-insecticide de la poudre lichénique d' <i>Evernia prunasti</i>	27
III-5-Discussion.....	32

Conclusion.....	33
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Introduction

Le mot lichen remonte à l'Antiquité grecque, il fut pour la première fois appliqué à des végétaux au IV^e siècle av. J.-C., par le grec Théophraste, disciple d'Aristote. Ce mot signifiant d'artre ou crouste et désignait alors des végétaux comprenant à la fois les lichens, les mousses et les hépatiques (Pascale, 2001).

Cette confusion entre mousse et lichen persista jusqu'à la fin du XVII^e siècle. Linné lui-même, qui leur donna un début de classification, incluait les lichens dans les algues (Pascale, 2001).

Les lichens sont les organismes uniques, produisant les métabolites biologiquement actifs (Joël et al., 2005), leurs métabolites sont généralement divisés en deux : métabolites primaires et métabolites secondaires. Les métabolites primaires sont les protéines, les lipides et les carbohydrates.

Les métabolites secondaires appelés aussi substances lichéniques ou acides lichéniques, sont des molécules très complexes insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. Elles exercent plusieurs effets biologiques : antivirales, antibactériens, antioxydants, antihelminthiques et insecticides (Vinyaka et al., 2009., Tatjana et al, 2011).

Des travaux ont été réalisés pour montrer l'effet antibiotique de certaines substances lichéniques, notamment l'acide usnique contre certaines bactéries pathogènes de l'homme (Chaba, 2012).

Mais aucune étude sur l'effet bio-insecticide de la poudre lichénique n'a été encore réalisée au sein de notre université, c'est pour cela l'étude que nous avons menée vise à montrer l'activité bio-insecticide d'une espèce lichénique sur un insecte ravageur de riz, le Charançon du riz (*Sitophilus oryzae* L). Nous nous sommes intéressées à une espèce fruticuleuse qui est *Evernia prunastri*. Cette espèce lichénique a été récoltée dans la forêt de Tala guilef qui est caractérisée par une abondance des espèces lichéniques.

Ainsi notre travail est structuré comme suit:

- **La première partie** : décrira les lichens et plus particulièrement leurs métabolites secondaires, leur voie de biosynthèse, ainsi que leurs propriétés biologiques à travers une revue bibliographique.

Introduction

-*La seconde partie* : matériel et méthodes.

- *La troisième partie* : est consacré aux résultats et discussion et une conclusion.

I-Généralités sur les lichens

I-1-Définition

Les lichens sont des organismes composites résultent de l'association symbiotique d'un champignon appelé mycobionte et d'une algue verte et/ou d'une cyanobactérie appelée photobionte. Le lichen ne possède ni racine, ni tige, ni feuille, mais possède un appareil végétatif rudimentaire (Van haluwyn et Lerond, 1993).

Il existe 13250 espèces de champignons et 40 espèces d'algues qui sont lichénisantes (Van haluwyn et Lerond, 1993).

I-2-L'anatomie des lichens

Il existe deux structures :

- Structure homéomère (figure01).
- Structure hétéromère (figure02).

a - Structure homéomère: La répartition des constituants est assez homogène dans l'épaisseur du thalle mais avec une densité importante près de deux phases.



Figure 01: structure homéomère de *collematenax* (Ozenda et Clausade, 1970).

b -Structure hétéromère

Le photosymbiote constitue une zone bien délimitée entre les couches du mycosymbiote (Van Haluwyn et Lerond, 1993). Bien plus répandue, elle est caractérisée par l'existence de plusieurs couches superposées bien visibles (Ozenda et Clauzade, 1970).

Deux types de structures sont reconnus :

➤ **Structure stratifiée**

Correspond à la présence des couches superposées, une coupe transversale montre à partir de la phase supérieure (Ozenda et Clauzade, 1970)

- Un cortex supérieur de nature fongique à hyphes très serrées.
- Une couche algale comportant également des hyphes beaucoup plus lâches.
- Une médulle à hyphes encore plus lâches.
- Un cortex inférieur à hyphes serrées.

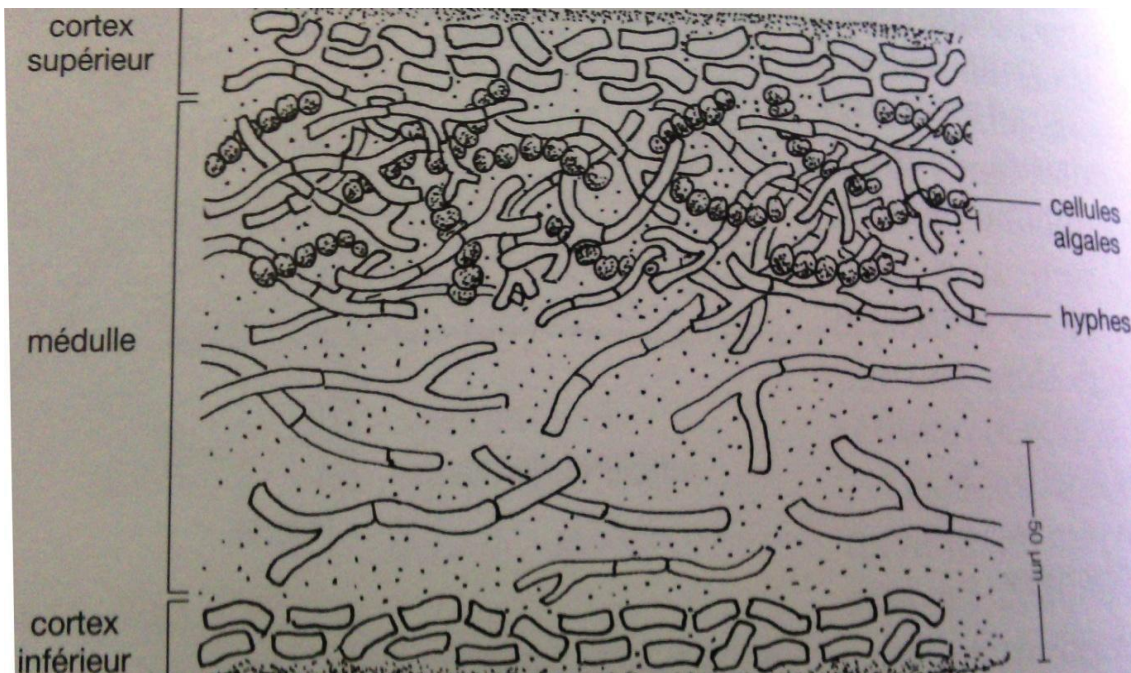


Figure 02: Structure hétéromère stratifiée de *Lobaria pulmonaria* (Tievant, 2001).

➤ **Structure radiée**

La majorité des lichens fruticuleux correspondent à une structure radiée où les couches sont disposées concentriquement (Ozenda et Clauzade, 1970) (figure 03).

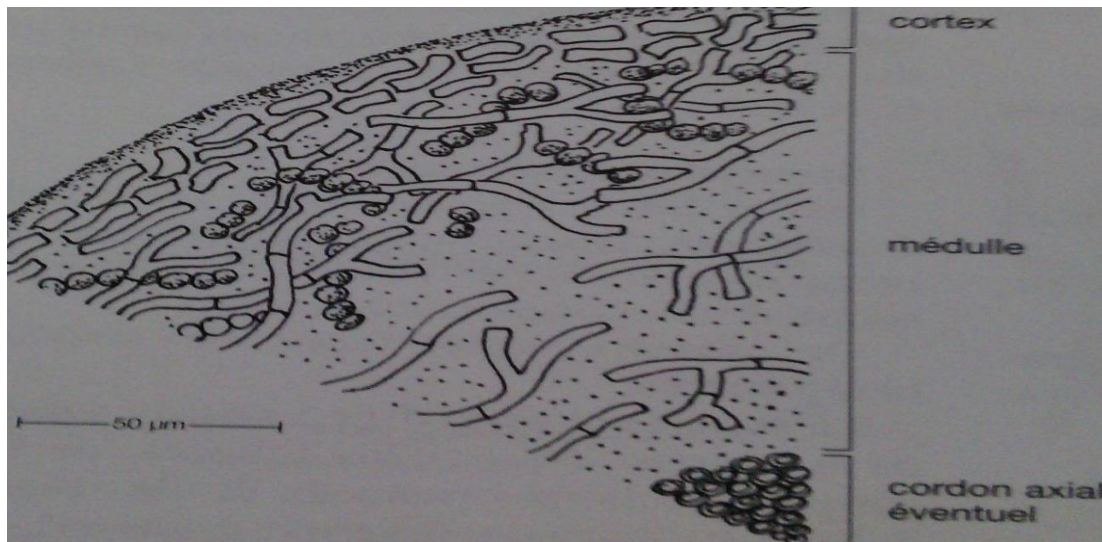


Figure 03: Structure hétéromère radiale : coupe transversale du thalle (Tievant, 2001).

I-3- La reproduction des lichens

La reproduction du lichen se fait par deux manières :

- Multiplication végétative du lichen ;
- Reproduction sexuée du champignon.

I-3-1 Multiplication végétative

Elle se fait soit par dissémination de fragment du complexe lichénique et dans chaque fragment l'algue et le champignon sont présents, ce qui permet une reprise de croissance et la formation d'un nouveau thalle, ou par émission de sorédies ou d'isidies.

- **Fragmentation du thalle**

Entre les périodes de pluie ou d'humidité, les Lichens se dessèchent très vite et à l'état Sec car ce sont des organismes reviviscents ils sont extrêmement cassants. Le piétinement des animaux et de l'homme, puis la dispersion des débris par le vent joue un rôle difficile à apprécier (Ozenda et Clauzade, 1970).

- **Emission des sorédies et isidies**

Soralie : constitue de médulle libère par une déchirure de cortex supérieure en amas granuleux. Les soralies ont des formes extrêmement variable et peuvent être situées sur la surface du thalle ou sur les extrémités des lobes des thalles foliacés.

Les soraliers peuvent donner naissance à des isidies on les appelle alors soralie isi-diffères (Tievant, 2001).

Isidies : c'est une sorte de bourgeonnement du thalle, présentant hyphes et gonidie avec cortex (Ozenda, 2000).

I-3-2- Reproduction sexuée

L'appareil reproducteur des lichens est en fait celui de mycosymbiote ; le phytosymbiote, lui ne se multiplie que de façon végétative (Deruelle et Lallemand, 1983).

Elle se réalise par deux types d'organes :

- **Apothécie**

C'est la fructification des discomycètes, en forme de coupe, garnie intérieurement d'un hymenium nu constitué d'asques et de paraphyses (Van Haluwyn et Lerond, 1993).

- **Périthèces**

Ce sont des fructifications en forme de sphérules creuses, s'ouvrant au sommet par un port ou ostiole à travers lequel sont émises des spores (Ozenda et Clauzade, 1970).

I-4- La symbiose lichénique

Le terme symbiose au grec «symbiosis» signifie : vie ensemble. La symbiose chez les lichens implique un échange de substances chimiques entre les deux partenaires, ce qui permet de comprendre l'existence des relations anatomiques entre l'algue et le champignon (Van Haluwyn et Lerond, 1993).

I-4-1- Les constituants des lichens

Le lichen est une association d'un élément fongique et d'un élément algale, forme nouvelle qui résulte des interactions entre ses constituants (biomorphose). Il s'agit d'un binôme qui doit d'abord être analysé du point de vue des phytosymbiotes (algues) et mycosymbiotes (champignons) qui le composent (Tievaux, 2001).

➤ **Le mycosymbiote**

Le champignon lichénisant est hétérotrophe, inconnu à l'état libre joue un rôle dans la reproduction sexuée et dans la morphologie. Il possède un grand pouvoir d'absorption, de stockage et de sels minéraux qu'il fournit à l'algue.

➤ **Le photosymbiote**

L'algue des lichens est l'associé interne encore appelé gonidie, chlorophyllienne, autotrophe, et qui réalise les synthèses organiques (Deruelle et Lallemand, 1983).

I-5- Les rapports algues-champignon et nature de la symbiose lichénique

Un lichen résulte de l'association symbiotique entre une algue chlorophyllienne microscopique et un champignon, ce dernier représentant plus de 90 % du lichen.

La symbiose signifie qu'il y a des échanges bénéfiques au niveau nutritionnel entre l'algue et le champignon (figure 04).

I-5-1 - Rapport cytologique

Dans le thalle lichénique existe entre eux divers types de relations c'est seulement dans la couche dite gonidiale que les cellules algales et les hyphes voisinent, allant depuis un simple contact jusqu'à la pénétration des suçoirs mycéliens dits haustoriis à l'intérieur même de l'algue (Souchon, 1971).

I-5-2 - Rapport métabolique

Les rapports d'ordre trophique entre le thalle lichénique et le substrat ou entre les deux Protagonistes, sont complexes et varient dans le temps et l'espace, ainsi que selon les stations, il ressort des besoins respectifs de l'un et de l'autre dont beaucoup sont encore à préciser ou même à dégager (Gorenflot et Gueren, 1989).

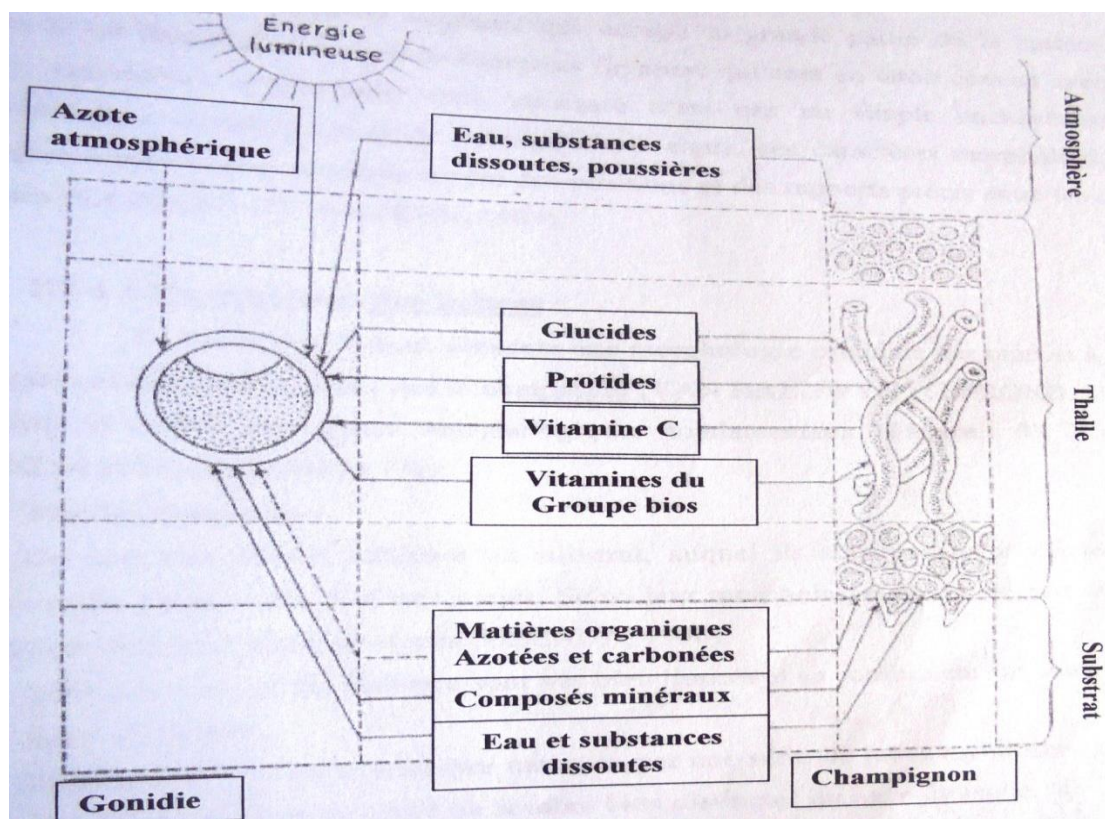


Figure 04: Relations nutritionnelles entre les constituants du les lichens et le milieu extérieure (Souchon, 1970).

I-6- Biochimie des lichens

L'étude biochimique des lichens a conduit à la mise en évidence des substances fondamentales communes à tous les êtres vivants, ce sont les substances lichéniques (Souchon, 1971).

I-6-1- Biosynthèse des substances lichéniques

Il existe trois voies de synthèses à la base de nature chimique et la biogénèse de substances lichéniques. Ces composés sont synthétisés par le champignon et le carbone nécessaire à leurs biosynthèses est formé par l'algue via les sucres ou les polyols issus de la photosynthèse.

- La voie des polyacétates – polymalonates
- La voie du mévalonate
- La voie du shikimate

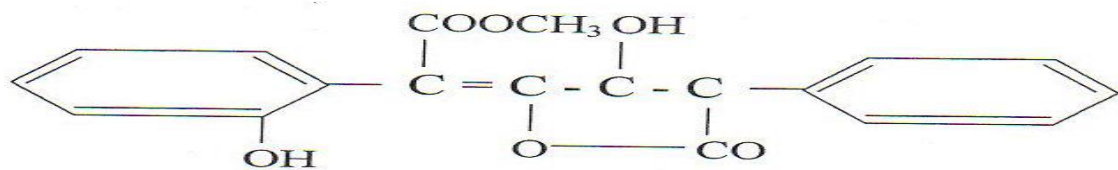
I- 6-2-La voie acétate – malonate

Cette voie est répartie dans environ 13 classes chimiques différentes (les composées aromatiques). La molécule associée à cette voie dérive de l'accumulation d'un composé issu du métabolisme primaire : l'acétyl- ScoA.

- **Les composées aromatiques** : la plupart des substances lichéniques sont de nature aromatique et dérivent de l'orcinol ou de corps issu de l'orcinol comme les dépsides (souchon, 1971).

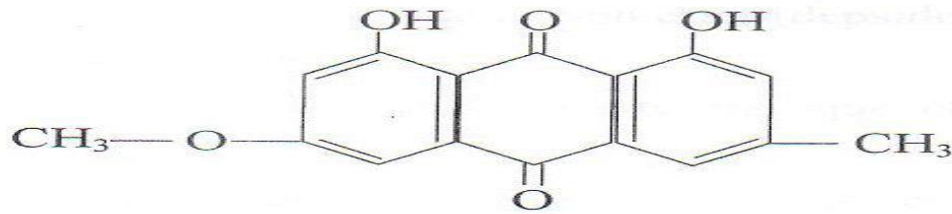
Les plus importants sont :

- a) Dérivés de l'acide pulvinique (ou acide pulvique)** : ce sont des substances de teinte jaune, souvent acide, peu ou pas colorables par les réactifs utilisés en lichénologie.



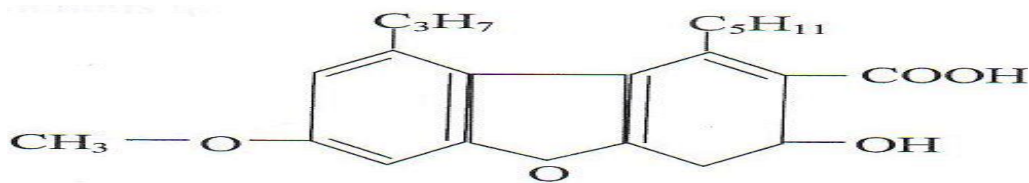
Acide pulvique

- b) Dérivés de l'antraquinone** : sont colorés en jaune orangé ou rouge, et deviennent pourpres foncés sous l'action de la potasse.



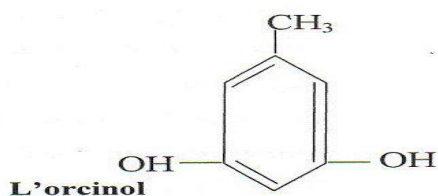
Pariétine

c) **Dérivés de dibenzofurane** : le plus répandu est l'acide usnique qu'on trouve non seulement chez *Usnea*, mais chez plusieurs dizaines d'espèces de lichens. Tous les dérivés de dibenzofurane sont incolores sauf l'acide usnique est jaune clair.

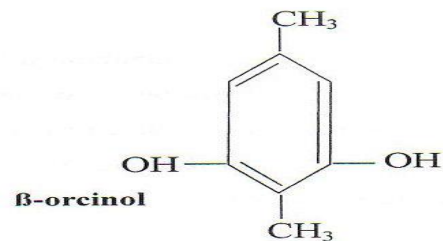


Acide didymique

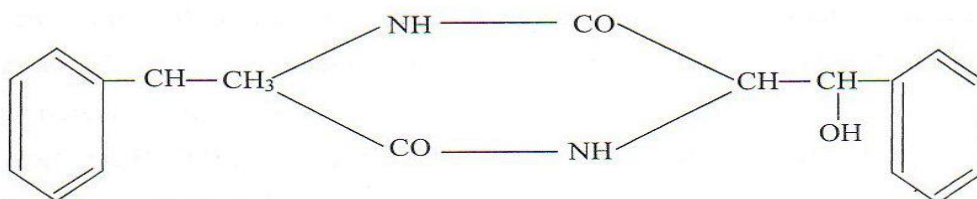
d) **Dépsides et dépsidones** : toutes ces substances sont incolores, mais beaucoup donnent des réactions très nettes (Ozenda et Clauzade, 1970). Elles dérivent toutes de deux phénols, l'orcinoïl (5-méthyl-1,3-benzendiol) et du β -orcinoïl (2,5-diméthyl-1,3-benzendiol), reliées par une liaison ester (depside) ou par une liaison ester et éther (depsidone) qui lient les deux noyaux.



L'orcinoïl

 β -orcinoïl

e) **Composés hétérocycliques azotés** : ils ne sont présentés chez les lichens que par picrorocceline extraite de *Roccelle fuciformis*.



Picrorocceline

I-6-3- La voie mévalonate

Cette voie conduit essentiellement aux di- et triterpènes, stéroïdes et aux caroténoïdes. Ces composés ne sont pas spécifiques des lichens et sont issus de l'assemblage d'unités isopréniques formées à partir de l'acétyl-coenzyme A. Les triterpènes sont plus connus chez les lichens tels que la zéorine et ses dérivés (figure 05).

I-6-4-La voie de l'acide shikimique

Elle donne naissance à des substances non spécifiques aux lichens :

- l'acide polyporique : présent chez le genre *Sticta* et certains polypores (champignons non lichénisants).
- l'acide théléphorique : rencontré chez *Lobaria pulmonaria* et chez une Hydnacée (champignon non lichénisants).

I-6-5- Localisation des substances lichéniques

Les substances lichéniques ou métabolites secondaires sont localisées dans le cortex, la médulle.

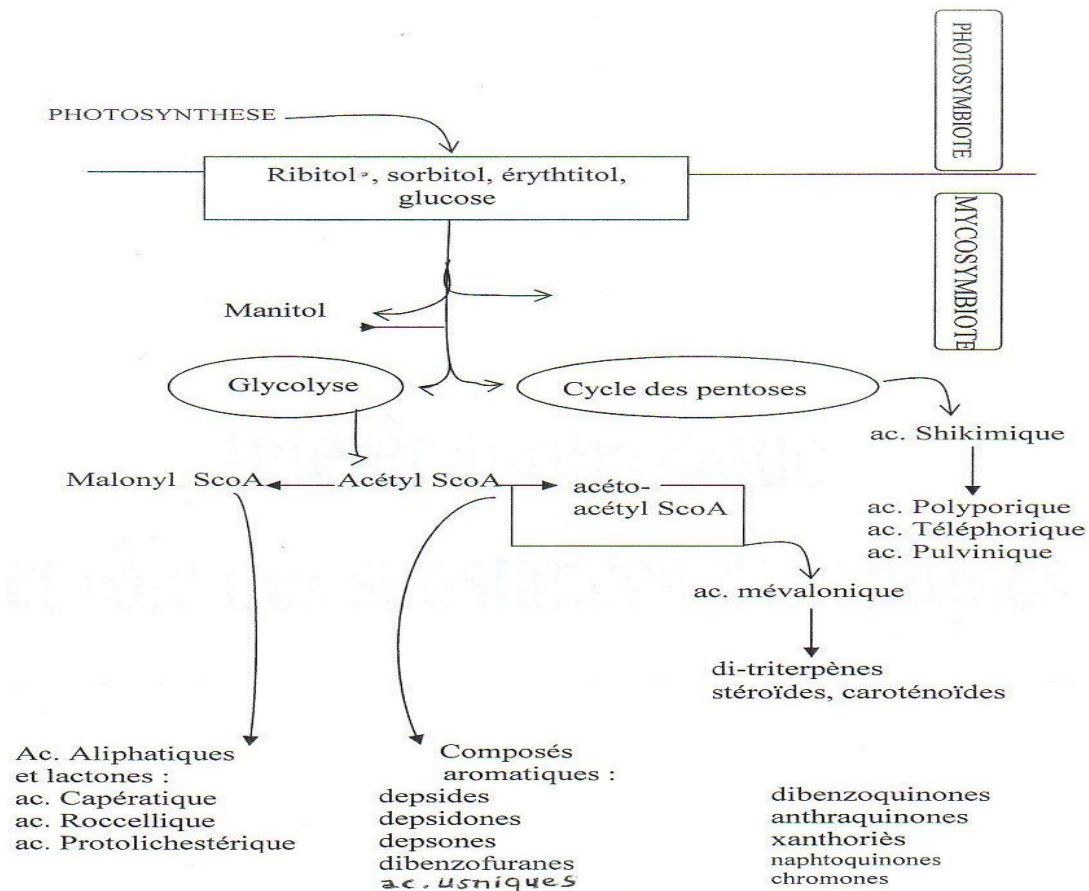


Figure 05 : Biogenèse des substances lichéniques (Van Haluwyn et Lerond, 1993).

I-7-Ecologie des lichens

Les lichens sont répandus à travers presque toutes les régions de monde : des zones les plus extrêmes vers les pôles jusqu'aux sommets à la limite des neiges éternelles, dans les déserts rocheux (Tiévant, 2001).

I-7-1-Facteurs édaphiques

Chaque espèce de lichen a besoin pour se développer de conditions écologiques très strictes ce qui rend intéressant à l'étude de la relation de lichen et du milieu, et selon la nature du substrat on distingue:

Espèces corticoles : croissant sur l'écorce des arbres. **Ex:** *Pamelia caperata*

Espèces saxicoles : couvrant les rochers. **Ex:** *Rhizocarpon geographicum*.

Espèces lignicole : vivant sur le bois et la terre. **Ex:** *Lecanora strobilina*.

Espèces lichénicole : vivant sur un autre lichen. **Ex:** *Rhizocarpon viridiatrum*

Espèce acidophile : préférant le pH acides. **Ex:** *Rladonia chlorophaea*.

Espèce basidophile : préférant le pH basiques. **Ex** *Diploicia chlorophaea*.

I-7-2- Facteurs climatiques

Les lichens bénéficient du phénomène de reviviscence, c'est-à-dire qu'ils sont capables de passer de l'état de vie active à une vie ralentie quand ils sont plus hydratés, et ceci pendant une période plus au moins longue, puis en suite de reprendre l'état de vie active quand les conditions redevienne favorables (Tiévant, 2001)

- **L'humidité**

Certaines espèces ont besoin d'un substrat régulièrement mouillé par les écoulements d'eau de pluies ou par les embruns et quelques-uns exigent d'être périodiquement submergé (Souchon, 1971).

- **La température**

La température intervient plutôt en commandant la répartition géographique et ne constitue un facteur du microclimat que dans la mesure où elle influence l'humidité (Souchon, 1971).

- **La lumière**

Les lichens se rencontrent aussi bien, selon les espèces, dans les stations vivement éclairées que dans les milieux ombragés (Souchon, 1971).

- **Le vent**

En favorisant l'évaporation, agit aussi directement sur l'humidité. Par son action mécanique, plus sensible sur les lichens fruticuleux, le vent peut briser les thalles et provoquer des modifications morphologiques du thalle (Souchon, 1971).

I-7-3- Facteurs biologiques

- **La végétation**

La concurrence vitale se traduit entre les espèces lichéniques eux même et avec d'autres plantes telles que les mousses et les phanérogames qui modifient les conditions climatiques et substratiques en créant des microclimats et des micros stations (Van halluwyn et Lerond, 1993)

- **Les animaux**

Peuvent être à l'origine des modifications locales de l'environnement par leur décomposition.

- **L'homme**

Beaucoup d'espèces de lichens sont devenues rares parce que leur espace vital est réduit par les activités humaines, notamment les activités agricoles d'une part (en particulier l'épandage d'engrais sur les pelouses sèches) en outre, la pollution atmosphérique induite par l'homme (Kirschbaum et Wirth, 1997).

I-8- Usage des lichens

I-8-1 Usage alimentaires

Les hommes à travers les âges ont utilisé les lichens comme aliment (Tiévant, 2001). Seul *Cetraria islandica* dite mousse d'Islande, a été utilisée sous forme de farine mélangée à la farine panifiable pour la fabrication du pain pour les diabétiques (Ozende et Clauzade, 1970).

I-8-2- Usages médicaux

L'acide usnique des Usnées semble actif contre une vingtaine de Bactérie, dont le Colibacille et divers agents de la tuberculose. Une autre substance antibactérienne a été obtenue à l'état cristallisé à partir de *Ramalina reticulata* ; elle est active contre divers Pneumocoques, Streptocoques et Staphylocoques, D'autre part *Cetraria islandica* est encore utilisé en pharmacie dans la fabrication des pâtes pectorales en raison des propriétés émoullientes de la lichenine (Ozenda, 2000).

I-8-3- Usage industriels

- **Matières colorantes**

Actuellement les lichens en tant que fournisseurs de matières colorantes ne sont plus guère utilisés en raison de l'emploi de colorants synthétiques (Ozenda, 2000).

- **Mucilages**

Différents lichens peuvent donner par extraction à l'eau chaude et éventuellement par hydrolyse partielle, des substances mucilagineuses qui ont été utilisées comme succédanés de gomme arabique notamment pour l'encollage des tissus (Ozenda et Clauzade, 1970).

- **Parfums**

C'est la seule utilisation industrielle des lichens qui conserve aujourd'hui une importance notable, c'est aussi l'une des plus anciennes. L'espèce *Evernia prunastri* est la plus utilisée, elle est connue universellement sous le nom de « Mousse de chêne » et donne les parfums à odeur de Chypre d'Orient, de Fougère, de cuire de Russie, pour la plupart dérivés de l'acide usnique à la suite d'estérification par les alcools des solvants (Ozenda, 2000).

- **Glucose et alcool**

L'hydrolyse industrielle du lichen a donné la possibilité d'obtenir ces deux corps, mais la difficulté de récolter les lichens nécessaires en grande quantités a déterminé un déclin rapide de cette industrie.

- **Décoration**

Les lichens sont également utilisés dans la décoration des tables et la confection de maquettes où ils représentent des arbres.

I-9- Généralités sur les bio-pesticides

I-9-1- Définition des bio-pesticides

Un bio-pesticide se définit étymologiquement comme tout pesticide d'origine biologique, c'est-à-dire organisme vivant ou substance d'origine naturelle synthétisé par ces dernier, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie. Cependant pour certain auteurs, le terme bio-pesticide doit être réservé au agent biologique de lutte au de contrôle des insectes (Vincent et Coderre, 1992; Van Driesche, 1996; Vincent, 1998).

I-9-2-Les différentes catégories des bio-pesticides

Ils peuvent être classés en trois grandes catégories, selon leur nature (Deravel et al., 2014).

➤ Bio-pesticide microbien

Cette catégorie comprend les bactéries, champignons, oomycètes, virus et protozoaires. L'efficacité d'un nombre important d'entre eux repose sur des substances actives dérivées des micro-organismes. Ce sont, en principe, ces substances actives qui agissent contre le bio-agresseur plutôt que le micro-organisme lui-même (Deravel et al., 2014).

➤ Bio-pesticide végétal

Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des insectes. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires qui à l'origine protègent les végétaux des herbivores. D'autres extraits de plantes ont des activités insecticides ; ainsi, *Tanacetum (Chrysanthemum) cinerariaefolium*, plus communément appelé pyrèthre, est une plante herbacée vivace cultivée pour ses fleurs dont une poudre insecticide est extraite.

Ses principes actifs, appelés pyréthrinés, attaquent le système nerveux de tous les insectes (Deravel et al., 2014).

I-9-3- les avantages des bio-pesticides

- Eliminer l'utilisation d'insecticides chimiques.
- Favoriser lors d'une utilisation en serre (culture serricole de haute valeur économique) (Deravel et al., 2014).
- Peuvent conférer à certaines cultures une tolérance aux stress abiotiques comme la sécheresse (Deravel et al., 2014).
- L'un des grands avantages des bio-pesticides est qu'ils sont élaborés de façon à ne cibler que certains types d'insectes (Deravel et al., 2014).
- les bio-pesticides destinés à la lutte antiacridienne ne nuisent pas aux insectes «utiles», lesquels peuvent continuer à poloniser les végétaux et à participer au cycle de l'écosystème local (Deravel et al., 2014).
- De plus, étant sans danger pour la faune et n'ayant aucun effet négatif sur les végétaux.

- Les bio-pesticides diminuant les risques de pollution de sol.
- Maintenir la biodiversité des biotopes.

I-9-4-Les inconvénients

- Seuil de tolérance très bas pour la grande pression du ravageur.
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre.
- Excellente connaissance dans la relation proie – prédateur.
- Certains professionnels de l'agriculture estiment que les bio-pesticides ne leur conviennent pas car ils ne sont pas assez efficaces (Deravel et al., 2014)

II-Matériel

II-1-Matériel végétal

II-1-1-Présentation du site du prélèvement :

- **Tala-Guilef**

La récolte de l'espèce lichénique, *Evernia prunastri* a été effectuée au mois de mars 2021, dans la forêt de Tala-Guilef à 1000 m d'altitude. Ce site est situé dans la partie Nord occidentale du massif montagneux du Parc National du Djurdjura.

Elle est délimitée :

- **Au Nord**, par la crête de Tazerout-Tamellalt à 1708 m d'altitude;
- **Au Sud**, par Djebel Haizer où le point culminant est celui nommé la dent du lion à 2123 m d'altitude;
- **A l'Est**, une ligne de crête débutante au Tachgagalt à 2147 m, passant par le pic Long à 2120 m, puis le col blanc à 1814 m, et par le pic des cèdres à 1882 m;
- **A l'Ouest**, les villages d'Ait-Ali et Beni-Koufi.

La superficie totale de la cédraie de Tala-Guilef est d'environ 402 ha, elle est circonscrite entre les latitudes 614 et 620 (km) et entre les longitudes 352 et 355 km (Bouzegza et Halit, 2009).

II-1-2- Géolocalisation de la forêt de Tala-Guilef



Figure 06: carte de localisation de la forêt de Tala-Guilef (source google maps, 2021).

II-2- Matériel animal

II-2-1- Le charançon de riz (*Sitophilus oryzae* L.)

- **Caractères généraux de la famille des *Curculionidae***

La famille des *Curculionidae*, famille la plus importante du groupe des *Rhynchophora*, est composée d'insectes facilement identifiables à leurs têtes prolongées en un bec allongé en rostre à l'extrémité duquel se trouvent les organes buccaux broyeurs (Lepesme, 1944).

Cette famille a été étudiée par (Lepesme, 1944), elle compte environ 60.000 espèces; elle est divisée en 9 sous familles. C'est un groupe très hétérogène, caractérisé par une systématique interne très complexe (Paulian, 1988).

- **Position systématique de *Sitophilus oryzae* L.**

Selon (Lepesme, 1944) (*Sitophilus oryzae* L.) appartient à :

Embranchement: Arthropoda.

Classe: Insecta.

Ordre: Coleoptera.

Sous ordre: Heterogastra.

Famille: Curculionidae.

Sous famille: Calandrinae.

Genre: *Sitophilus*

Espèce: *Sitophilus oryza* L.

- **Description morphologique des différents états de l'insecte**

- ✓ **ŒUF :** l'œuf est ovale ou piriforme, sa couleur est d'un blanc opaque et brillant. Il mesure 0,6 à 0,7 mm de longueur et 0,2 à 0,3 mm de largeur (Appert et Deuse, 1985).
- ✓ **Larve :** la larve est blanche, globuleuse et se caractérise par sa forme ramassée. Au terme de son développement, elle mesure 2,5 à 3 mm de long (Appert et Deuse, 1985).
- ✓ **Nymphe :** la nymphe de forme cylindrique, mesure 3,75 à 4 mm de long, sa couleur passe du blanc au brun à mesure qu'elle évolue. Elle subit la mélanisation et la sclérotinisation de la cuticule (Lepesme, 1944).

Le mâle se distingue de la femelle par un rostre plus épais, plus court et plus profondément ponctué, les derniers sternites abdominaux sont plus courbés ventralement chez le mâle que chez la femelle (Lepesme, 1944).

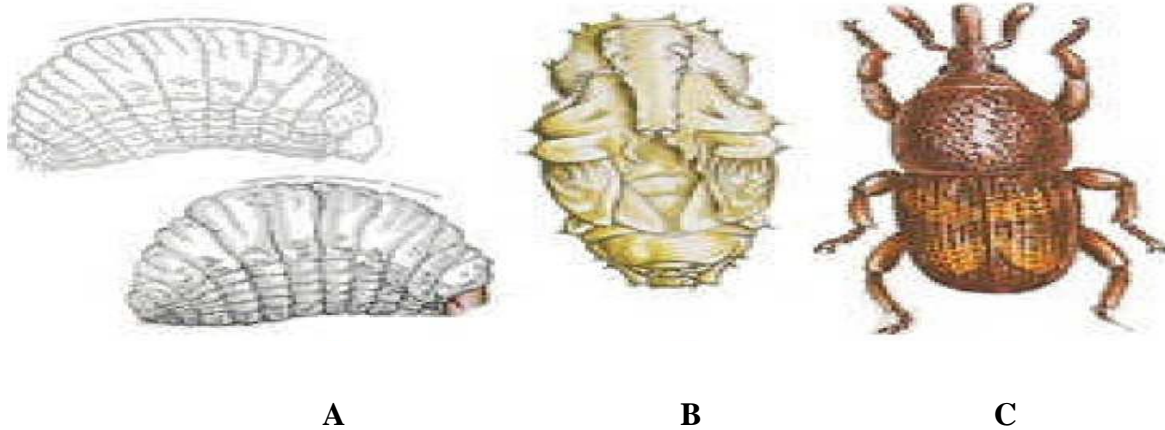


Figure 07 : Différents états de *Sitophylus oryzae*. A: larve, B: nymphe, C: adulte (Walter, 2002).

II-3- La méthodologie

II-3-1- La récolte des lichens

La récolte des lichens est très facile, elle peut se faire en toute saison et ne présente aucune difficulté particulière.

L'espèce choisie est *Evernia prunastri*, récoltée sur le Pin noir (*Pinus nigra*) à 1000 m d'altitude.



Photo n°1: la zone de récolte de l'espèce lichénique *Evernia prunastri* (Originale, 2021)

II-3-2- La conservation des lichens au laboratoire

L'espèce récoltée a été conservée à une température ambiante afin de la sécher.

II-4- Description d'*Evernia prunastri*

Lichen fruticuleux en forme de lanières, verdâtre pale à jaune verdâtre avec des soralies. Thalle fruticuleux à lanières peu divisées, souvent ridées. Il présente une face supérieure verte grise à verte jaune cortiquée. La face inférieure est blanchâtre, un peu canaliculée, non cortiquée. La face supérieure apothécies est très rare. Cette espèce préfère les écorces plus au moins riches en substances nutritives, dans les endroits exposés au vent et les zones éclairées (Ozenda et Clauzade, 1970).

II -4-1-Classification d'*Evernia prunastri* (L.Ach., 1810)

Règne : Fungi

Division : Ascomycota

Sous-division : Pezizomycotina

Classe : Lecanoromycetes

Ordre : Lecanorales

Sous-ordre : Lecanorineae

Famille : parmeliaceae

Genre : *Evernia*

Espèce : *Evernia prunastri*



Photo n° 2: *Evernia prunastri* (Originale, 2021)

II-5-Préparation du matériel végétal

L'espèce lichénique récoltée est séchée à l'air ambiant pendant 72 heures et réduite en poudre.



Photo n°3: méthode de préparation du matériel végétal (Originale, 2021).

- **L'extraction des substances lichéniques**
- 6 g de lichen sec a été broyé et mis en contact avec 20 ml d'acétone, afin de préserver l'intégrité des substances.
- l'extraction a été réalisée à température ambiante pendant plusieurs heures avec agitation de temps en temps.
- L'extraction à été répétée quatre fois afin d'extraire un maximum de métabolites, c'est à dire jusqu'à l'obtention d'un extrait incolore.



Photo n°4: L'isolement de substance majoritaire de l'extrait lichénique (Originale, 2021).

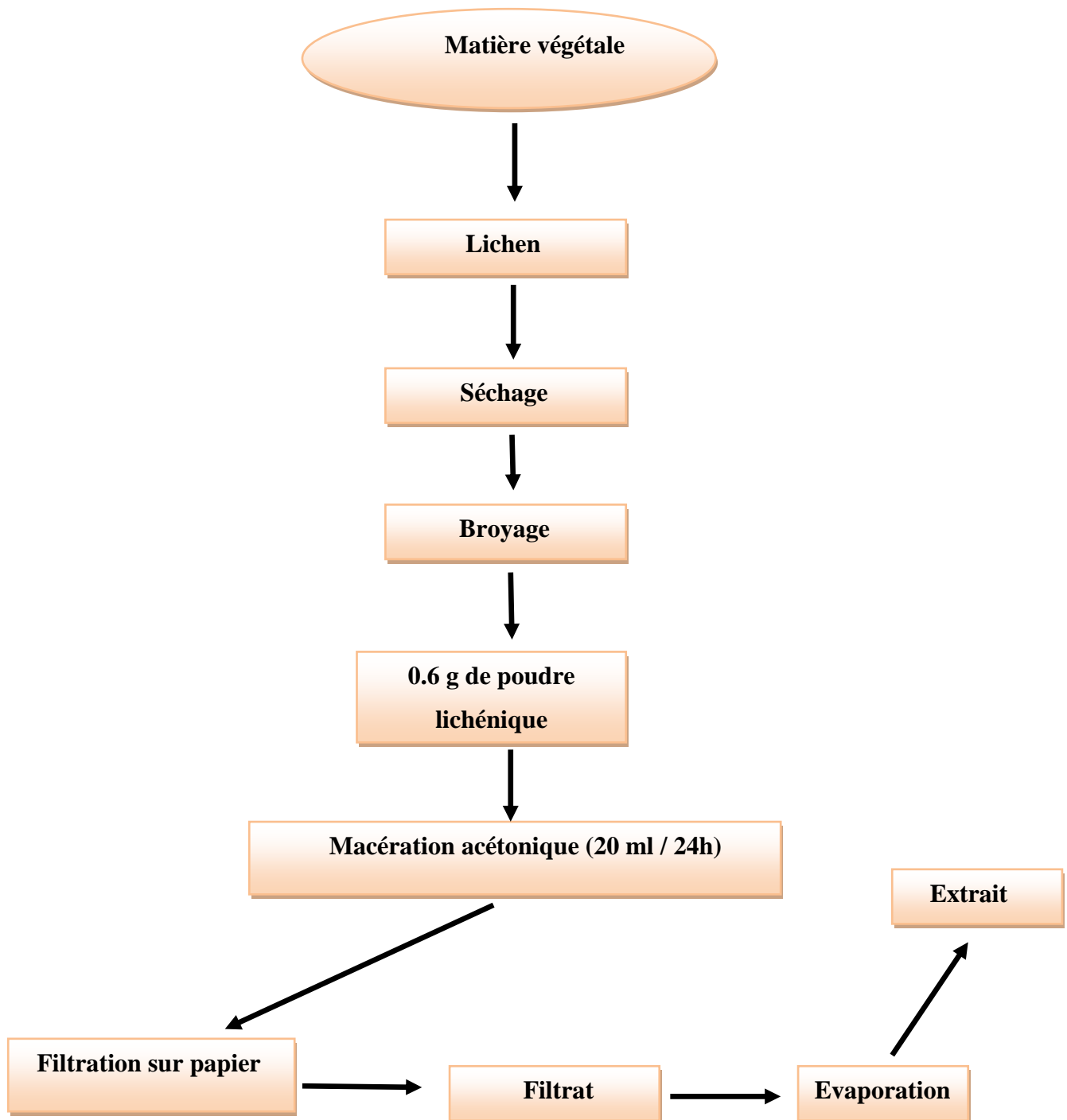


Figure 08: Le Protocole d'extraction acétonique à partir de matière lichénique.

- **Paramètre calculé**

Le rendement d'extraction RE%

$$\text{RE\%} = \frac{\text{Poids initial en g}}{\text{Poids final en g}} \times 100$$

II-6- Identification des composés lichéniques par la micro-cristallisation

La micro-cristallisation consiste à faire cristalliser les substances lichéniques à l'aide des réactifs cristallogènes. Les cristaux formés par ces substances sont observés au microscope équipé d'un système de polarisation (Gaverniaux, 2003).

II-6-1- Mode opératoire de la micro-cristallisation

Le prélèvement de l'extrait lichénique a été effectué à l'aide d'une micropipette, puis déposé sur une lame préalablement chauffée à 40° -50° auquel nous rajoutons une goutte de réactif cristallogène (GE ou GAW).



Photo n°5 : lames préparées pour la micro-cristallisation.

II-7- Chromatographie sur couche mince « CCM »

II-7-1-Description de la technique

La chromatographie est une méthode physique de séparation de mélanges en leurs constituants, elle est basée sur les différences d'affinité des substances à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile, nommée éluant.

L'analyse chromatographique nous a permis de donner le profil chimique de cette espèce lichénique.

II-7-2-Paramètres calculés

Le rapport frontal **Rf** est calculé par l'équation suivante :

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant (d)}}{\text{Distance parcourue par l'éluant (D)}}$$

Les distances sont mesurées à partir du centre de dépôt initial jusqu'au centre du spot de la substance après migration (Culberson et Kristinson, 1970).

II-8- Activité bio-insecticide de la poudre lichénique d'*Evernia prunastri*

Afin d'évaluer l'activité bio-insecticide dans les conditions de laboratoire, nous avons utilisé la poudre lichénique d'*Evernia prunastri* sur le ravageur stocké.

Nous avons introduits le riz dans des boites en plastique contenant préalablement des adultes de Charançon du riz (*Sitophilus oryzae L.*).

Ce bio-test par contact est réalisé en mélangeant 50g de riz avec différentes quantités de poudre d'*Evernia prunastri*. Les doses du lichen additionnées au riz sont 2, 4, 6 g.

Une boite de témoin (0g) ne contient que le riz sans poudre de lichen. Nous avons introduit 20 individus adultes de Charançon du riz (*Sitophilus oryzae L.*) dans chaque boite. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque dose. Un comptage des individus morts est effectué chaque jour. Les insectes morts sont éliminés de la boite après chaque comptage.



Photo n°6: Le test on contact de la poudre lichénique mélangée avec le riz contre le ravageur (*Sitophilus oryzae L.*) (Originale, 2021).

II-9- Analyse statistique

Afin d'évaluer les résultats obtenus pour chaque paramètre étudié, nous avons fait appel à un test statistique en utilisant le logiciel R (version 3.6.2).

Nous avons comparé les résultats de taux de mortalités obtenus pour chaque dose (0, 2, 4, 6g) exprimées en heures.

Le test statistique vise à savoir si la différence entre les doses est significative ou pas en fonction du temps.

Nous avons appliqué le test de kruskal walis et Anova et la p-value obtenue est comparée a un seuil de signification $\alpha = 0.05$.

Nous avons vérifié s'il ya avait une différence statistiquement significative entre l'efficacité des différentes doses de la poudre lichénique testé sur le charançon de riz.

III- Résultats et interprétations

III-1 Résultat de rendement d'extractions RE

Les résultats du rendement d'extraction RE% de l'extrait lichénique d'*Evernia prunastri* est :

$$\text{RE}\% = \frac{\text{Poids initial en g}}{\text{Poids final en g}} \times 100$$

- Pour la dose 2g est: 82,5 %
- Pour la dose 4g est : 84,7 %
- Pour la dose 6g est : 87,5 %

III-2- Résultats d'observation au microscope en lumière polarisée

- Les résultats sont basés sur l'aspect de ces substances lichéniques cristallisées selon le réactif de cristallisation utilisé. Les observations sont réalisées au microscope en lumière polarisée et au microscope photonique.
- L'application des réactifs cristallogènes sur l'extrait des composés majoritaires d'*Evernia prunastri* nous a permis d'observer l'acide usnique visiblement en forme d'étoiles avec les deux réactifs GE et GAW.

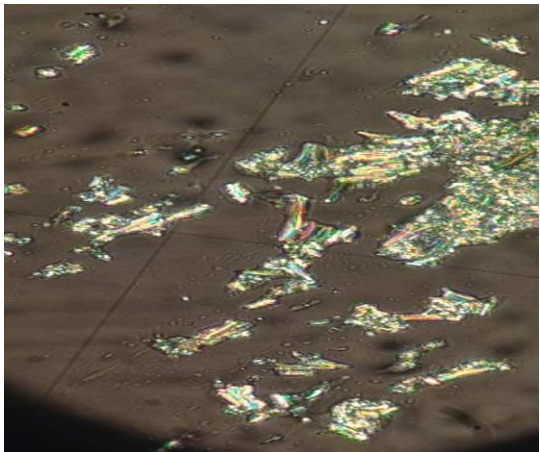
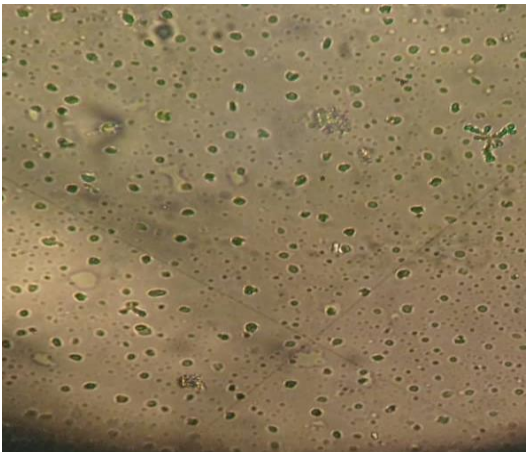
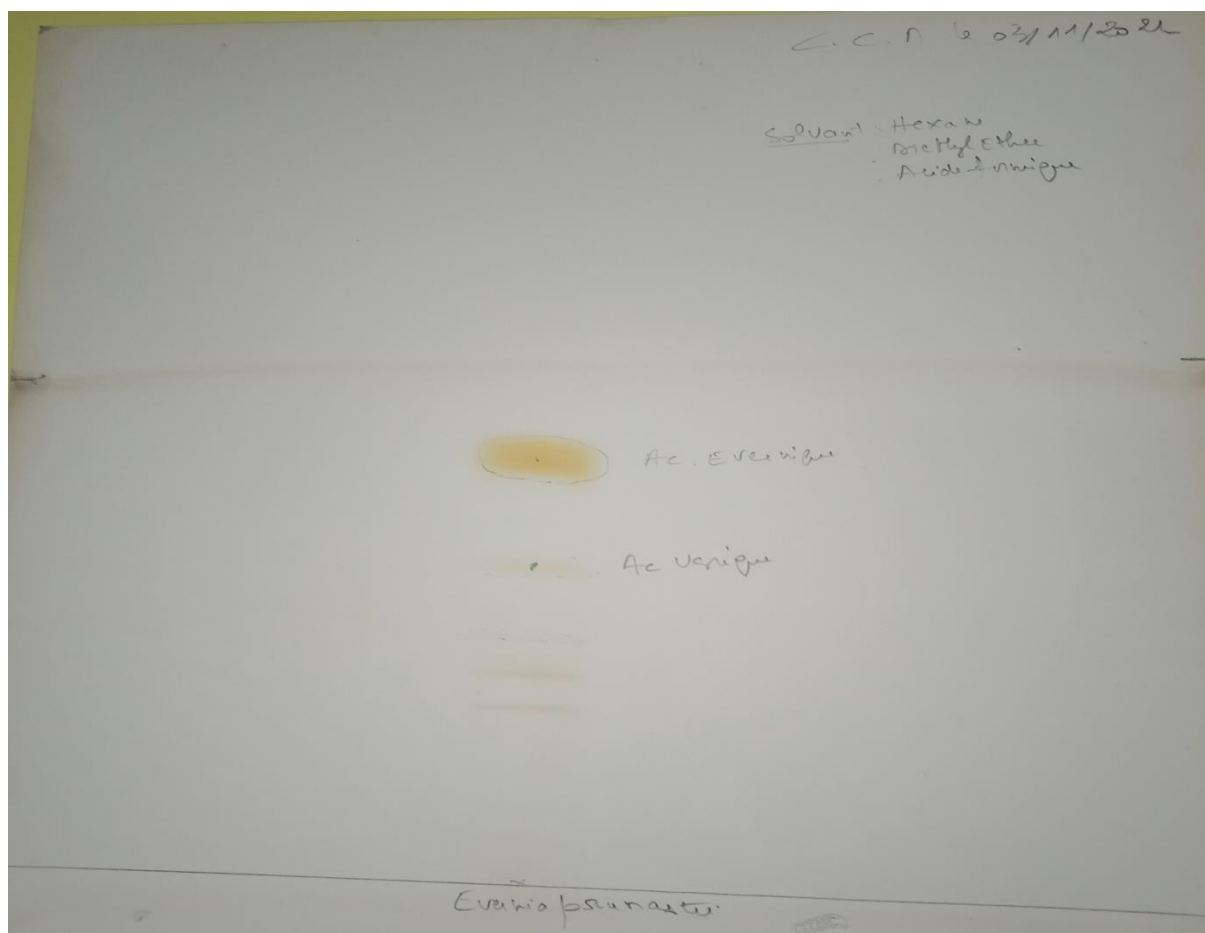
Espèce	Réactif cristallogène utilisé : GE	Réactif cristallogène utilisé : GAW
<i>Evernia prunastri</i>		

Photo n° 7 : les substances lichéniques observées au microscope en lumière polarisée chez *Evernia prunastri* dans les deux milieux de cristallisation (GAW et GE) (originale, 2021).

La micro-cristallisation a montrée la présence de deux acides lichéniques chez cette espèce étudiée : l'acide evernique et l'acide usnique.

- Dans le réactif GE, l'acide evernique est présent sous forme d'éventail d'aiguilles serrées groupées parfois en étoile.
- L'observation au microscope 40*10, de l'acide usnique dans GAW, montre des cristaux jaunes en aiguilles groupés en étoiles à branches irrégulières.

III-3 Résultats de la chromatographie



Photos n° 8: Profil chromatographique en phase mobile (130 ml d'Hexane, 80 ml Diethylether, 20 ml d'acide formique.)

La CCM nous a également révélée la présence de ces deux acides, une tache jaune vif correspondant à l'acide evernique, et une tache jaune claire qui correspond à l'acide usnique (white et james, 1985).

III-4- Résultat de l'activité bio-insecticide de la poudre lichénique d'*Evernia prunastri*

Le bio-test effectué a permis de dresser les tableaux suivants qui regroupent le détail des résultats obtenus, les moyennes et les taux de mortalités, 3 essais et différentes d'exposition allant de 24 h à 168h de l'insecte (*le Charançon de riz*) à la poudre lichénique d'*Evernia prunastri*.

Tableau 1 : les résultats obtenus pour le témoin (0g).

Heure	24	48	72	96	120	144	168
Essai 1	0(0%)	0(%)	0(0%)	0(%)	0(0%)	1(5%)	0(0%)
Essai 2	0(0%)	0(%)	0(0%)	0(%)	0(0%)	0(0%)	1(5%)
Essai 3	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)
La moyenne	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0.33 (1.66%)	0.33 (1.33%)

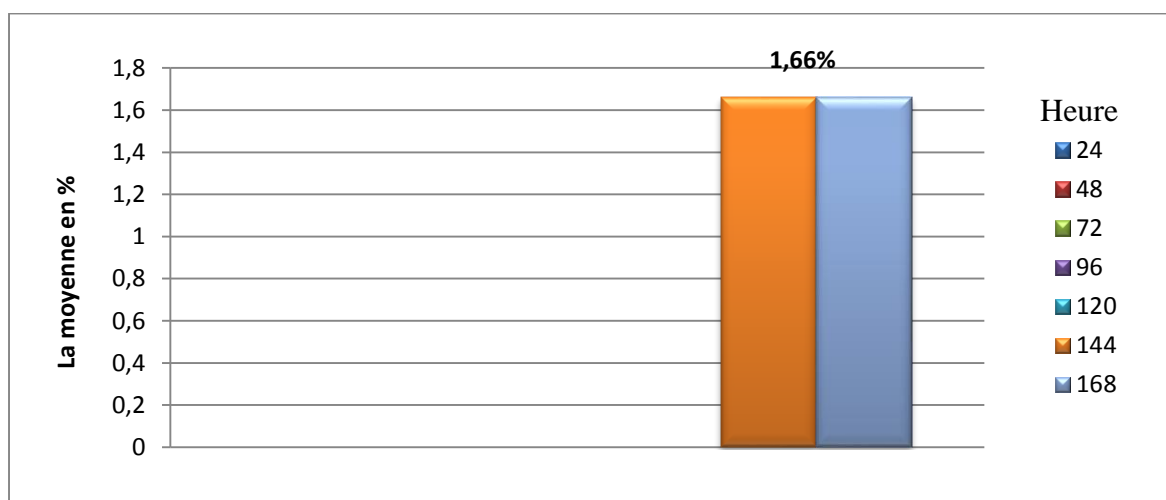


Figure 09 : la moyenne de mortalité en % en fonction de temps pour le témoin (0g).

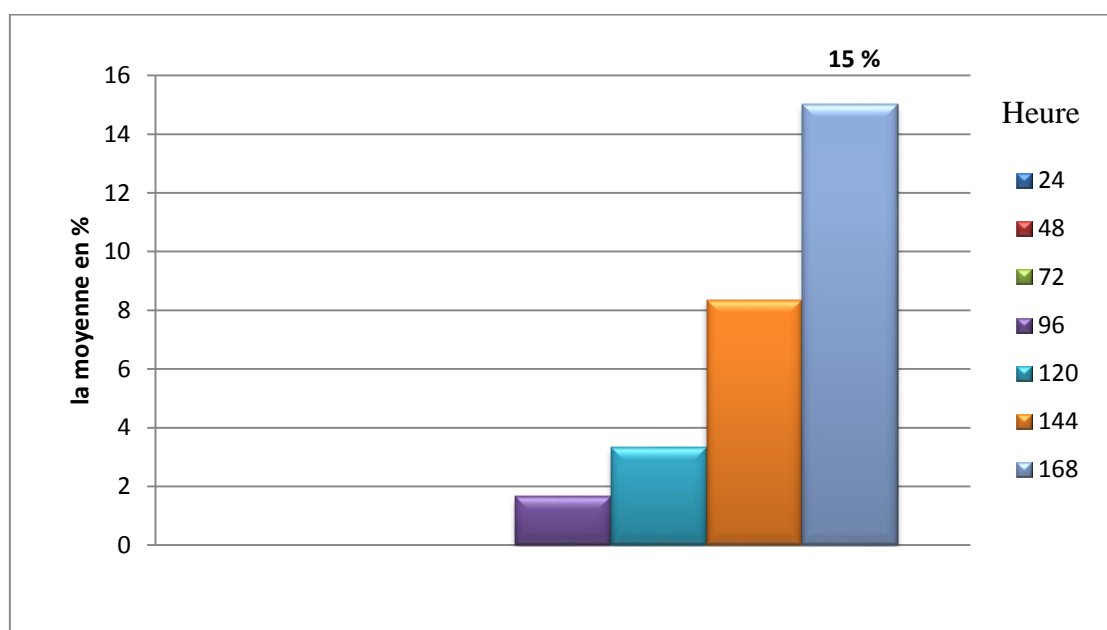
La figure 09 représente un histogramme de la moyenne de mortalité en pourcentage (%) en fonction du temps (heure) pour le témoin (0g).

Le taux de mortalité est nul pour le témoin (0g) dans tous les 120h, puis elle augmente légèrement dès les 144h jusqu'à 168h, ou nous avons observé une moyenne de 1.66%.

Les résultats de test statistique kruskal walis nous a donnés une p-value qui égale à 0.5105 qui est $> \alpha = 0.05$. Cela signifie que la dose 0g ne présente aucune influence sur la mortalité de charançon de riz en fonction de temps.

Tableau 2 : les résultats obtenus pour la dose deux (2g)

Heure	24	48	72	96	120	144	168
Essai 1	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(5%)	2(10%)	3(15%)	5(25%)
Essai 2	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	2(10%)	3(15%)
Essai 3	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0(0%)	1(5%)
La moyenne	0(0%)	0(0%)	0(0%)	0,33(1,66%)	0,66(3.33%)	1,66(8.33)	3(15%)

**Figure 10** : la moyenne de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 2g

La figure 10 représente un histogramme de la moyenne de mortalité en pourcentage (%) en fonction du temps (heure) pour la dose de 2g.

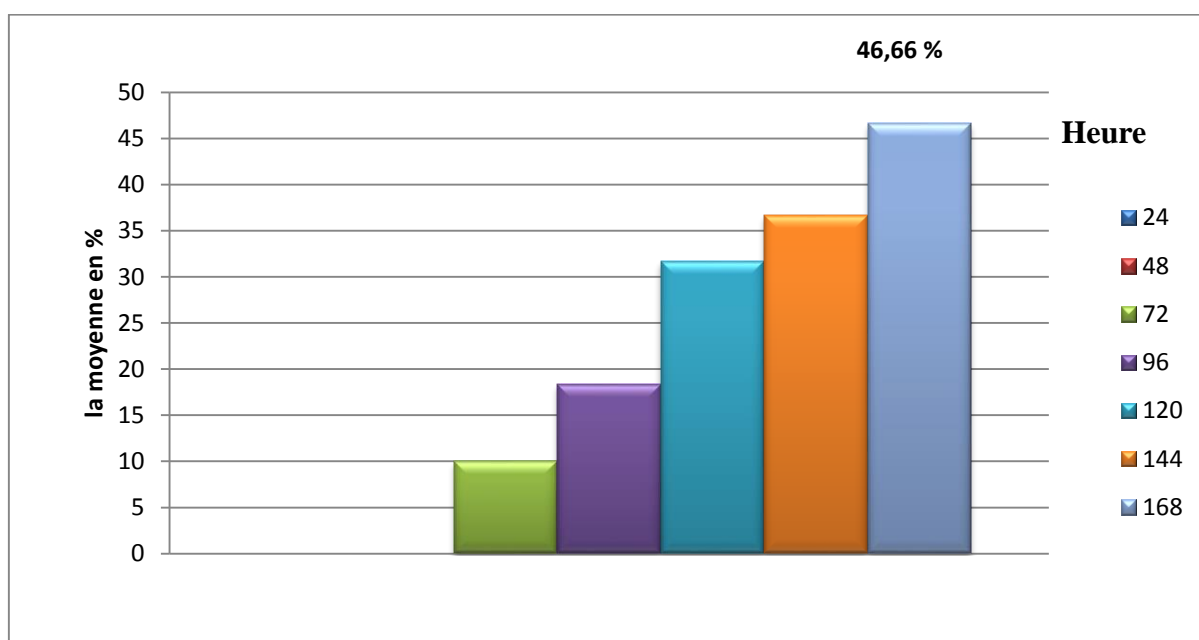
Dans les 72h nous n'avons enregistré aucune mortalité.

En effet, nous remarquons une augmentation de taux de mortalité et des valeurs comprises entre 1.66 et 15 % de mortalité, dès les 96 heures jusqu'à 168h.

Les résultats de test statistique kruskal walis nous a donnés une p-value de 0.5105 qui est $> \alpha = 0.05$, cela signifie que la dose 2g ne présente aucune influence sur la mortalité de charançon de riz en fonction de temps.

Tableau 3: les résultats obtenus pour la dose de quatre (4g)

Heure	24	48	72	96	120	144	168
Essai 1	0(0%))	0(0%)	2(10%))	4(20%)	7(35%)	7(35%)	9(45%)
Essai 2	0(0%))	0(0%)	1(5%)	2(10%)	6(30%)	8(40%)	10(50%)
Essai 3	0(0%))	0(0%)	3(15%))	5(25%)	6(30%)	7(35%)	9(45%)
La moyenne	0(0%)	0(0%)	2(10)	3,66(18.33%)	6,33(31.66%))	7,33(36.66%)	9,33(46.66%)

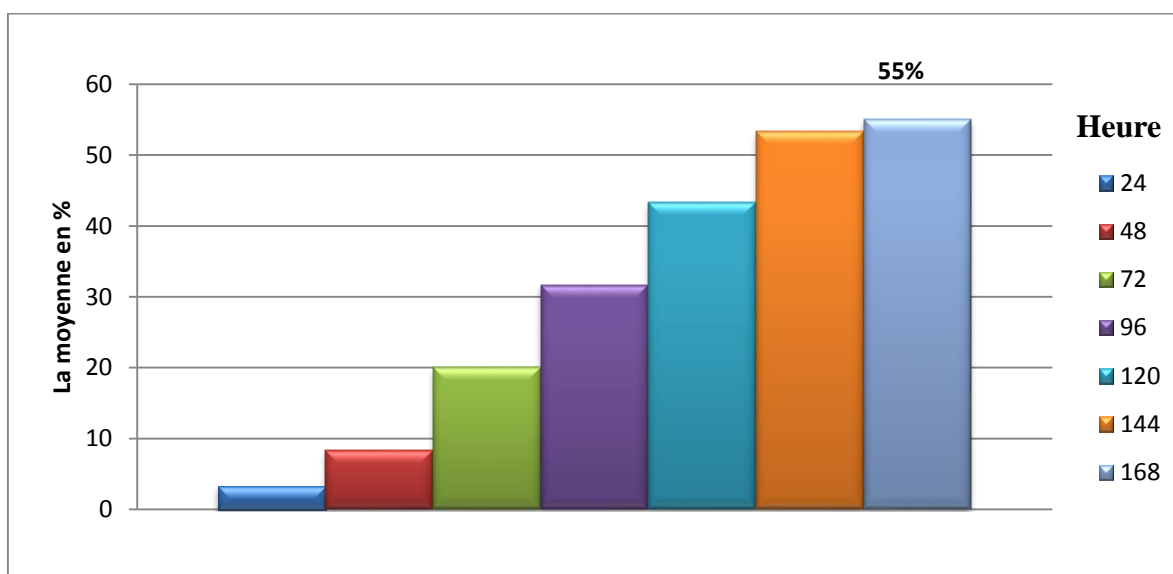
**Figure 11 :** la moyenne de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 4g.

La figure 11 représente la moyenne de mortalité en pourcentage (%) en fonction du temps (heure) pour la dose de 4g.

Le test statistique kruskal walis nous a donné une p-value = 0.00342 qui inférieure à $\alpha = 0.05$ cela nous a permis de classer l'efficacité de la poudre lichénique en fonction du temps en 5 groupes homogène, d'où le taux de mortalités augmente en dépend de temps d'exposition.

Tableau 4: les résultats obtenus pour la dose de six (6g)

Heure	24	48	72	96	120	144	168
Essai 1	2(10%)	4(20%)	6(30%)	10(50%)	12(60%)	13(65%)	14(70%)
Essai 2	0(0%)	1(5%)	3(15%)	4(20%)	7(35%)	9(45%)	9(45%)
Essai 3	0(0%)	0(0%)	3(15%)	5(25%)	7(35%)	10(50%)	10(50%)
La moyenne	0,66(3.33%)	1,66(8.33%)	4(20%)	6,33(31.66%)	8,66(43.33%)	10,66(53.33%)	11(55%)

**Figure 12 :** la moyenne de mortalité en % en fonction de temps pour la dose de 6g.

La figure 12 représente la moyenne de mortalité en pourcentage (%) en fonction du temps (heure) pour la dose de 6g.

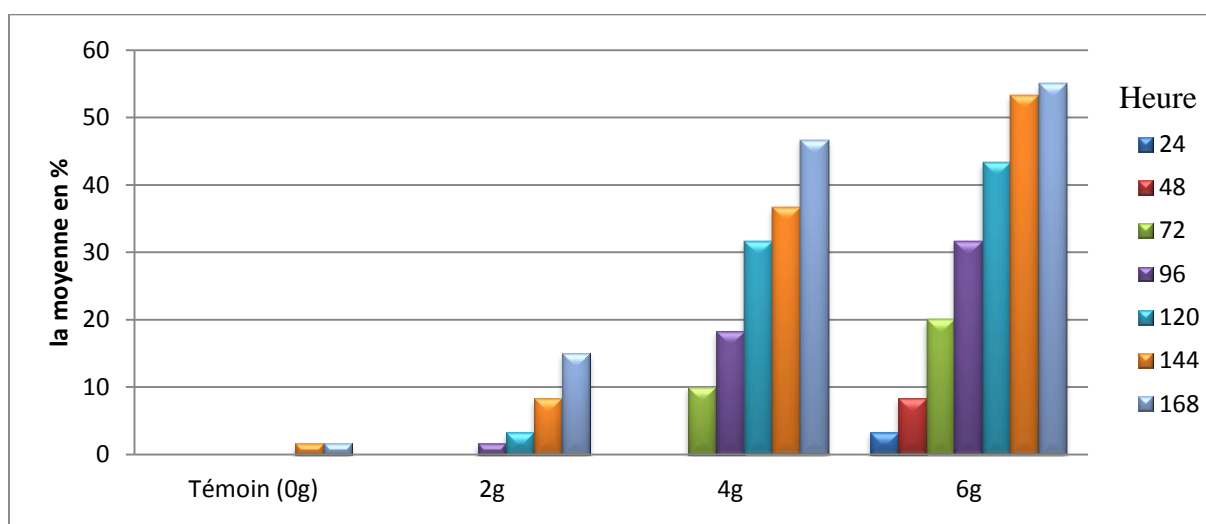
La mortalité débute dès les 24h pour enregistrer une hausse continue qui dépasse les 50% des 144h pour arriver à son sommet vers 168h pour avoir 55% de mortalité.

Le test statistique Anova effectué sur la dose de 6g montre qu'il y'a une différence significative, et nous a permis de classer l'efficacité de ce bio-insecticide en cinq groupes homogènes d'où le taux de mortalités est élevé en augmentant le temps d'exposition.

Donc l'effet de ce bio-insecticide n'apparaît qu'à de très fortes doses.

Tableau 5 : tableau global de la moyenne de mortalité en % pour les quatre doses.

La moyenne en %							
Heure / Dose	24H	48H	72H	96H	120H	144H	168H
Témoin	0	0	0	0	0	1.66	1.66
2g	0	0	0	1.66	3.33	8.33	15
4g	0	0	10	18.33	31.66	36.66	46.66
6g	3.33	8.33	20	31.66	43.33	53.33	55

**Figure 13** : la moyenne de taux de mortalité en fonction de temps pour les quatre doses.

La figure 13 représente un histogramme global des moyennes de taux de mortalité en % des adultes de charançon de riz, traités par les quatre doses (0, 2, 4, 6g) de la poudre d'*evernia prunastri* pendant 168 heures.

Il en résulte que l'effet de la poudre lichénique apparaît à la forte dose :

- Pour 4g un taux de mortalité qui arrive jusqu'à 46.66% dans les 168h d'exposition.
- Pour la dose 6g il atteint 55% de mortalité après 168h d'exposition.
- L'effet se manifeste après 24h d'exposition avec un taux de mortalité 3.33 %.

III-5- Discussions

- Dans notre étude nous avons observé une mortalité des adultes de charançon de riz (*sitophilus oryzae.L*), traité par des différentes doses (0, 2, 4, 6g) de poudre lichénique d'*Evernia prunstri*.
- Le % d'extraction étant de 87.5 % pour la dose de 6g. Le taux de mortalité de charançon de riz est très élevé qui dépasse les 50 % dans les 168h d'exposition.
- Le % d'extraction étant de 84.5 % pour la dose 4g, ainsi que taux de mortalité de charançon de riz arrive jusqu'à 46.66% dans les 168h d'exposition.
- Le % d'extraction étant de 82.5 % pour la dose de 2g. Le taux de mortalité est faible puisque cette dernière ne dépasse pas les 15 %.
- La micro-cristallisation nous a montré la présence de deux acides : l'acide usnique et l'acide evernique.
- A dose nulle (le témoin), la mortalité est presque nulle, nous avons observé que 1,66% de mortalité après 144h de contact, et cela expliquer par d'autre facteurs qui influence sur le charançon de riz.
- La CCM nous a révélé la présence de deux acides, une tache jaune vif, ayant un $R_f=0.82$ qui est l'acide evernique, et une autre tâche jaune claire avec un $R_f=0.6$ qui est l'acide usnique, d'après (White et james, 1985). Ces deux composés sont très caractéristiques de l'espèce lichénique étudiée. Mais nous ne pouvons conclure que ce sont ces deux métabolites secondaires qui sont responsables de la mortalité de charançon du riz.
- En effet, les substances lichéniques à l'instar de tous les métabolites secondaires végétaux, possèdent de propriétés bio-pesticides. Emmerich et al., 1993, ont montré la toxicité de deux acides lichéniques, usnique vis-à-vis d'un insecte phytophage *Spodoptera Rihoralis*.
- Les composés présents dans les substances naturelles, notamment les terpènes, sont responsables de l'activité bio-insecticide. Ces métabolites secondaires auraient un effet répulsif à faible concentration et létal à forte concentration de ces bio-pesticides. Les sites d'action de ces bio-pesticides sont localisés dans le système nerveux central.
- Selon (Roeder, 1999), les composés secondaires des végétaux se fixent sur les récepteurs de l'octoponine qui est neuromone et neuromédiateur des invertébrés.

Conclusion

Ce présent travail vise la valorisation de substances naturelles en tant que bio-pesticide. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de substances lichéniques d'un lichen *Evernia prunastri* vis-à-vis d'un ravageur de riz.

Cette étude nous a montré que l'activité de la poudre de cette espèce lichénique a provoqué une mortalité totale des adultes du charançon de riz à la dose de 6 g.

Nous avons obtenu les résultats suivants :

- ✓ La micro cristallisation nous a montrés la présence de l'acide usnique et l'acide evernique sous formes des étoiles ;
- ✓ La C.C.M, nous a permis de constater que cette espèce lichénique, contient de nombreuses substance, notamment l'acide usnique et l'acide evernique ;
- ✓ Le depside le plus répandue chez les espèces lichéniques de genre *Evernia prunastri* est l'acide usnique que nous supposons être présents chez l'espèce étudiée ;
- ✓ Le test statistique effectué sur les doses (0, 2, 4, 6g), nous a montrés que le taux de mortalité dépend de forte dose testé sur les adultes de charançon de riz en fonction de temps ;
- ✓ La poudre d'*Evernia prunastri* révèle un effet bio-insecticide efficace vis-à-vis des adultes de charançon du riz puisque la mortalité moyenne de ces adultes augmente en fonction des doses testés et de temps d'exposition par rapport aux témoins ;
- ✓ Nous constatons que la dose de 6g s'avère très efficace puisque nous avons obtenu 100% de mortalité dès le 13^{ème} jour de temps d'exposition.
- ✓ Cet effet dû à la composition chimique d'*Evernia prunastri* qui est l'acide usnique.

En perspectives de recherche, il serait intéressant de mener une étude plus approfondies, afin d'isoler les substances actives de cette espèces lichénique et d'étudier l'effet des différents composants sur les ravageurs.

L'utilisation d'autre technique pour l'identification des composés lichénique comme la spectrométrie

Références bibliographiques

- **Appert J., 1985.** Le stockage des produits vivriers et semenciers. Ed. Maisonneuve et Larousse, Paris, Pp. 123-225.
- **Bouzegza S., et Halit Z., 2009.** Contribution à l'étude de la variation intra-population de quelques paramètres de la floraison de cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) à Tala Guilef (Djurdjura Nord occidental). *Mémoire d'ing. Agro. U.M.M.T.O*, P. 53
- **Bricaud O., 2006.** Aperçu de la végétation lichénique du site de Saint Daumas (Var) et de deux stations de la plaine des Maures. Rapport CEEP-WWF-AFL. P.64.
- **Chaba k., 2012.** Extraction de l'acide usnique à partir de deux espèces lichéniques, *Evernia prunastri* et *Parmelia acetabulum* et évaluation de son effet antibactérien sur quelques bactéries pathogènes. P.1.
- **Clother C., 2016** Introduction à la biologie et l'écologie des lichens un exemple de diversité lichénique : la Corse, p.1.
- **Culbesron C.F, Kristinson, H.D., 1970.** A standardized method for the Identification of lichens products. *J. chromatog.* A46, 85-93.
- **Danièle M- G., 2008.** Le monde original des lichens. Pp.60-61.
- **Déruelle S. et Lallement R. 1983.** Les lichens témoins de la pollution. Université biologie. Paris. P.108.
- **Emmerich R., Giez I., Lange O.L., Proksch P., 1993.** Toxicity and antifeedant activity of lichen compounds against the polyphagous herbivorous insect *Spodoptera littoralis*. *Phytochemistry* 33, 1389-1394.
- **Gaverniaux J.P., 2003.** Principaux produits utilisés en lichenologie. *Bull. Ass. Fr. Lichenologie. Vol.28(1).* 45-60
- **GORENFLOT R et GUERN M., 1989.** Organisation et biologie des Thallophytes. Doin éditeur- Paris, p.160-164.
- **Joël B, Martin G., 2005.** Lichens: a promising source of bioactive secondary metabolites. *Plant Genetic Resources*, 3(2), Pp. 273–287.
- **Kirschbaum U., Volkmar W. 1997.** Les lichens bio-indicateurs. Les reconnaître, évaluer la qualité de l'air. Eugen Ulmer. P.128.
- **Lagabrielle J. 2014.** La micro-cristallisation des substances lichéniques un outil performant pour le lichénologue. *Bull. Ass. Fr. lichénologie*, Vol.39, Pp.177-184.
- **Lepesme P., 1944.** Les coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Ed. P. Le chevalier, Paris, pp. 61 - 67.
- **Ozenda P., Clauzade G. 1970.** Les lichens: étude biologique et flore illustrée. Paris, Masson et cie. Paris

Références bibliographiques

- **Ozenda et Clauzade. 1970.** Les lichens étude biologique et flore illustrée. Edition :Masson, Pp. 8-39, 109-121.
- **Ozenda, P., 2000.** Les végétaux : organisation et diversité biologique. 2^{ème} édition DUNOD. Paris. Pp.169-193.
- **Ozenda P & Clauzade G. 1970.** Les Lichens, étude biologique et flore illustrée.
- Ed. Masson et Cie. Paris-VIe, France. Pp.800-801.
- **Ozenda P., 2000.** Les végétaux. Organisation et diversité biologique. 2^{ème} édition. Dunod. Paris, Pp .189-190.
- **Paulian R., 1988.** Biologie des coléoptères. Ed. Le Chevalier., Paris. P. 710.
- **Roeder T., 1999.** Octopamine in invertebrates. Progres in Norobiology., vol 59 :533-561.
- **Souchon Ch., 1971.** Les lichens. Que-sais-je ? Presse universitaire de France. Pp.12-15.
- **Souchon C., 1971.** Les lichens.1^{er} édition. Presses Universitaires de France, Pp. 92-119.
- **Steffan J.R., 1978.** Description et Biologie des insectes in **Scotti G., 1978.** Les insectes et les acariens des céréales stockées. Éd. AFNOR et I.T.F.C., Paris, Pp. 1-62.
- **Tievant P., 2001.** Guide des lichens. 350 espèces de lichens d'Europe. Paris, Pp .12-26.
- **Tievant P., 2001.** Guide des lichens. 350 espèces de lichens d'Europe. Delachaux et Niestlé. P.304.
- **Van-Haluwyn C et Lerond M., 1993.** Guide des lichens. Edition. Le chevalier. p.334.
- **Vinayaka K.S., Praveenkumar S.V., Prashithkekuda T.R., Krishnamury Y.I., Vincent C et Coderre D., 1992.** La lutte biologique. Gaëtan Morin Editeur (Montréal) et Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- **VINCENT C., 1998.** Les biopesticides. Antennae, (5), Pp. 7-29.
- **White, F.J., James, P.W.1985.** A new guide to microchemical techniques for the identification of lichen society Bulletin, 41p.

Annexe

Le test statistique appliqué pour la dose de 0 gramme

```
> shapiro.test(TMR)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  TMR
W = 0.34141, p-value = 9.399e-09

> kruskal.test(TMR~heur)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  TMR by heur
Kruskal-Wallis chi-squared = 5.2632, df = 6, p-value = 0.5105
```

Le test statistique appliqué pour la dose de 2 gramme

```
> shapiro.test(TMR)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  TMR
W = 0.88621, p-value = 0.01908

> shapiro.test(TM)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  TM
W = 0.65541, p-value = 8.045e-06

> kruskal.test(TM~heur)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  TM by heur
Kruskal-Wallis chi-squared = 12.304, df = 6, p-value = 0.05551
```

Le test statistique appliqué pour la dose de 4 grammes

```
> shapiro.test(TMR)

      Shapiro-Wilk normality test

data:  TMR
W = 0.88621, p-value = 0.01908

> kruskal.test(TMR~heur)

      Kruskal-Wallis rank sum test

data:  TMR by heur
Kruskal-Wallis chi-squared = 19.484, df = 6, p-value = 0.00342
```

Les groupes homogènes formés pour la dose de 4 gramme

```
$groups
      TMR groups
h168 20.00000    a
h144 16.66667    b
h120 14.33333    c
h96  10.50000    d
h72   8.50000    d
h24   3.50000    e
h48   3.50000    e
```

Le test statistique appliqué pour la dose 6 gramme

```
      Shapiro-Wilk normality test

data:  TR
W = 0.9449, p-value = 0.2719

> reg.aov1=lm(TR~heur)
> anova(reg.aov1)
Analysis of Variance Table

Response: TR
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
heur    6 315.238  52.540  9.5115 0.0002841 ***
Residuals 14  77.333   5.524
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Les groupes homogènes formés pour la dose 6 grammes

```
$groups
      TR groups
h168 11.00000000 a
h144 10.66666667 a
h120  8.66666667 ab
h96  6.33333333 abc
h72  4.00000000 bcd
h48  1.66666667 cd
h24  0.66666667 d
```

Résumé :

Les lichens sont des organismes composites résultant de l'association symbiotique entre deux partenaires : un champignon et une algue.

Grace à cette symbiose ils élaborent des substances lichénique ou métabolites secondaires, molécules très complexe ayant plusieurs effets biologiques.

C'est dans ce contexte portion, nous somme intéressé pour évaluer l'effet insecticide de l'espèce lichénique foliacée *Evernia prunastri*, sur un ravageur de riz (*Sitophilus oryzae*. L).

Mots clés : lichens, symbiose, métabolites, *Evernia prunastri* , (*sitophilus oryzae*.L).

Abstract:

Lichens are composite organisms resulting from the symbiotic association between two partners: a fungus and algae.

Thanks to this symbiosis they develop lichenic substances or secondary metabolites, very complex molecules having several biological effects.

It is in this context that we are interested in evaluating the insecticidal effect of the leaf lichen species, *Evernia prunastri*, on a pest of rice (*Sitophilus oryzae*. L).

Key words: Lichens, symbiose, métabolites, *Evernia prunastri*, (*Sitophilus oryzae*. L).