



N série:.....

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*وزارة التعليم العالي والبحث العلمي*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي*  
*Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED*  
*كلية علوم الطبيعة والحياة*  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية*  
*Département de biologie Cellulaire et Moléculaire*

## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences  
biologiques

spécialité : Toxicologie

### **THEME**

**Détermination des mycotxines de fusarium :  
Caractérisation et réduction de la toxicité.**

Présenté Par :

M<sup>elle</sup> GUENNOUNI Haddi

M<sup>elle</sup> HAMMIA Imane

Devant le jury composé de:

Président: M. .M.KIRAM Abderrazak

M.A.A, Université d'El-Oued

Promoteur : M. LAICHE Ammar Touhami

M.C.B, Université d'El-Oued

Examinatrice : Mme.BOUTILIS Safia

M.A.A, Université d'El-Oued

Année universitaire : 2018/2019



# Dédicace



*Au terme de ce modeste travail, je le dédie :*

*En premier lieu, à mes très chers parents qui m'accompagnent par leurs prière que Dieu me les garde, (Aucune dédicace ne peut exprimer ma profonde reconnaissance et mon grand amour pour eux).*

*A mes frères : Abd El-kahar , Abd El-satar ,Hossine , seifo .*

*A mes sœurs : Naziha et Nawal .*

*Les femmes de mes frères : Hayate , Hassiba .*

*Les enfants de mes frères : Mouhammed Kossay et Yossef .*

*A mes tantes et mes oncles et tout la famille .*

*A mon binôme*

*Imane*

*A tous ceux qui m'aidé à atteindre cette réalisation soit professeurs*

*même les amies :*

*Sara ,Awatif, Messaouda, Amria, Mounia, Chaima ,khadija*

*A tous ceux que j'aime.*

*Guennouni haddi*

## *Dédicases*

*Avec un énorme plaisir. Un cœur ouvert et une immense joie. Je remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant De m'avoir donné la force et le courage pour accomplir ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chers et magnifiques Parents en témoignage de mon affection illimitée qu'il me soit permis de leur exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance éternelle pour tout ce qui m'ont offert au cours de mes longues années d'études.*

*A mes charmantes sœurs : Sabrina ,Soulaf ,Rania , Aya.*

*A tous mes frères : Ammar ,Samir ,Yazid ,Anwar, Charafe-Eddine.*

*Les femmes de mes frères : Imane , Chahrazad.*

*Les enfants de ma soeur : Mohammed, Isame, Mari , Madina, moutaz Wael et Tasnim.*

*Ma seule nièce : Sidrat Al-montaha.*

*A toute ma famille sans exception.*

*En leurs souhaitant beaucoup de succès dans la vie.*

*A mon binôme*

*Haddi*

*A mes enseignants ainsi qu'à tous les étudiants de ma promotion surtout mes chères amis :*

*Sara ,Awatif, Messaouda, Amria, Mounia, Chaima, Hamida*

*A tous ceux que j'aime.*



*Imane Hammia*



# Remerciements

*En premier lieu nous tenons à remercier ALLAH précieux pour nous avoir aidés à réaliser ce travail. Nous remercions notre promoteur M. LAICHE Ammar Touhami pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous remercies également les membres du jury d'avoir accepté de jurer ce travail; M. KIRAM Abderrazak en tant que président et Mme. BOUTILIS Sfia en tant qu'examinatrice.*

*Nous remercions également l'ensemble du personnel du laboratoire de Microbiologie.*

*Nous n'oublions pas tous nos cher(e)s enseignant(e)s, Enfin à tous ceux qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail et ont été soucieux de notre réussite.*

## **Résumé**

Les moisissures sont des contaminants fréquents de nombreux substrats végétaux et de certains produits d'origine animale. Leur présence peut améliorer les qualités organoleptiques du produit ou, au contraire, l'altérer et conduire à l'accumulation de métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines.

A travers notre étude, un échantillonnage a été effectué dans la région de d'E-Oued (Djamaa , Magren ).Quatre isolats ont été identifiés ; ils appartiennent au genre *Fusarium*.

De même, ce travail s'inscrit dans la caractérisations des mycotoxines produites par *fusarium sp* après l'identification des souche sur milieux solides **PDA** et **DRBC**. Le test d'antibiose est réalisé par la méthode de diffusion sur disque dans des boites de pétri contenant le milieu Muller-Hintonensemencé par *Escherichia coli*, *listeria innocua* ,*klebsiella pneumoniae*,*Candida albicans* .

Après fermentation et extraction à l'aide de l'acétate d'éthyle et le chloroforme, les extraits des deux souches fongiques (**A,B**) ont été examinés pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disques ; les différents extraits ont montré une activité antimicrobienne plus ou moins grande, et où les zones d'inhibition allé de 0 à 10 mm pour les extraits d'acétate d'éthyle, et de 0 à 8 mm pour les extraits chloroformiques.

L'essai de lutte biologique contre les *Fusarium sp*. par l'utilisation des bactéries lactique a montré que une activité antagoniste *in vitro* intéressante par leurs pouvoir hautement anti-*Fusarium*. La sécrétion de substances antifongiques a ralenti la croissance mycélienne de les souches.

**Mots clés** : *fusarium*, Mycotoxines, Test d'antibiose , Lutte biologique.

## المخلص

تعتبر الفطريات ملوثات شائعة في العديد من الركائز النباتية وبعض المنتجات الحيوانية. يمكن أن يؤدي وجودها إلى تحسين نوعية و جودة المنتج أو على العكس من ذلك ، تغييره يؤدي إلى تراكم نواتج الايض الثانوية السامة: السموم الفطرية.

من خلال دراستنا ، تم إجراء أخذ العينات في منطقة الوادي (جامعة ، المقرن). ينتمون إلى جنس *Fusarium* ، هذا العمل هو جزء من توصيف السموم الفطرية التي تنتجها سلالة *fusarium sp*. بعد تحديد العينات على الوسائط الصلبة PDA و DRBC. يتم إجراء الاختبار المضاد للميكروبات من خلال طريقة نشر القرص في أطباق بيتري التي تحتوي على وسط مولر-هينتون الملقح مع *Escherichia coli, Candida albicans, klebsiella pneumoniae, listeria innocua,*

بعد التخمر والاستخلاص باستخدام أسيتات إيثيل وكلوروفورم ، تم فحص مستخلصات السلالات الفطرية (A ، B) لنشاطها المضاد للميكروبات بواسطة طريقة نشر القرص ؛ أظهرت المستخلصات المختلفة نشاطاً أكبر أو أقل من مضادات الميكروبات ، وحيث تراوح قطر مناطق التنشيط من 0 إلى 10 ملم لمستخلصات أسيتات الإيثيل ، ومن 0 إلى 8 ملم لمستخلصات الكلوروفورم.

تجربة المكافحة البيولوجية ضد *Fusarium sp*. عن طريق استخدام بكتيريا حمض اللبنيك أظهرت أن هناك نشاطاً كبيراً في المختبر من خلال قوتها المضادة للفوزاريوم. من خلال إفراز المواد المضادة للفطريات التي أدت إلى تباطؤ نمو السلالات الفطرية .

**الكلمات المفتاحية :** الفيوزاريوم ، السموم الفطرية ، اختبار التكاثر ، المكافحة البيولوجية.

## ***Abstract***

Moulds are common contaminants of a wide variety of vegetal and animal derived foods. Their presence can improve the organoleptic qualities of the product or, on the contrary, alter it and lead to the accumulation of toxic compounds : mycotoxins.

Through our study, a sampling was carried out in the region of E-Oued (Djamaa, Magren). Four isolates were identified; they belong to the genus *Fusarium*.

Similarly, this work is part of the characterization of mycotoxins produced by *fusarium sp* after the identification of the strain on **PDA** and **DRBC** solid media. The antibiosis test is performed by the disk diffusion method in Petri dishes containing Muller-Hinton medium inoculated with *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*.

After fermentation and extraction with ethyl acetate and chloroform, the extracts of both fungal strains (A, B) were examined for their antimicrobial activity by the disk diffusion method; the different extracts showed a greater or less antimicrobial activity, and where the zones of inhibition went from 0 to 10 mm for the ethyl acetate extracts, and from 0 to 8 mm for the chloroform extracts.

The biological control trial against *Fusarium sp.* by the use of lactic acid bacteria has shown that an interesting in vitro antagonistic activity by their highly anti-*Fusarium* potency. The secretion of antifungal substances slowed the mycelial growth of the strains.

**Key words :** *fusarium*, Mycotoxins, antibiosis test, biological control.

# *Table des matières*

RÉSUMÉS.

TABLE DES MATIERES.

LISTE DES TABLEAUX.

LISTE DES FIGURES.

LISTE DES ABRÉVIATIONS.

INTRODUCTION.

## **PREMIÈRE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **CHAPITRE I : LE FUSARIUM**

I- Champignons.....	01
1- Généralités.....	01
2- Morphologie.....	02
II- le genre Fusarium.....	03
1- Généralités.....	03
2- Taxonomie.....	03
3- Classification de Fusarium.....	04
3-1 Position systématique.....	04
4- Morphologie et caractéristiques physiologiques.....	04
5- Biologie du genre Fusarium.....	06
5-1 Cycle biologique.....	06
5-2 L'infection.....	07

### **CHAPITRE II: LES MYCOTOXINES**

1- Mycotoxine.....	08
1-1 Nature et origine des mycotoxines.....	08
1-2 Production de mycotoxines.....	09
1-3 Mycotoxines produites par le Fusarium.....	10
1.3.1)- Fumonisine.....	10
1.3.1.1)- Structure.....	10
1.3.2)- Trichothécène.....	11
1.3.2.1)- Structure.....	12

1.3.3)- Zéaralénone.....	13
1.3.3.1)- Structure.....	13
1-4 Effets des mycotoxines.....	15

### **CHAPITRE III : LA FUSARIOSE**

I- La fusariose.....	17
1- Données sur la fusariose du blé.....	17
1-1 Incidence économique.....	17
1-2 Agents responsables.....	18
1-3 Dégâts de la fusariose.....	18
1.3.1- Fonte de semis.....	18
1.3.2 - Maladies des pourritures racinaires.....	18
1- 4 Symptomatologie.....	19
A- sur la partie basale.....	19
B- Sur épi.....	20
C- Sur grains.....	20
D- Sur feuilles.....	21
1-5 Infection et le cycle de la maladie.....	22
1-6 Conditions favorables au développement de la maladie.....	23
A- Facteurs climatiques.....	23
B- Facteurs agronomiques.....	23
C- Facteurs physiologiques.....	23

## **DEUXIÈME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE**

### **CHAPITRE I :MATERIEL ET METHODES**

II. Matériel et méthodes.....	24
II. 1.2. Matériel fongique.....	24
II.1.2.1.Agent pathogène.....	24
III. 2. Méthodes.....	25
III.2.1.Isolement et identification morphologique des isolats fongiques associés à la fusariose.....	25
2.1.1. Isolement.....	25

2.1.2. Identification.....	27
A. Etude macroscopique.....	27
B. Etude microscopique.....	27
II.2.2. Purification des isolats.....	27
III.2.3. Conservation des isolats.....	28
III.3.1 Dépistage de l'activité antimicrobienne.....	28
III.3.2. Double culture de diffusion sur gélose.....	29
III.3.3. Fermentation et extraction.....	29
III.3.4. Activité antimicrobienne.....	31
1-Préparation des microorganismes test.....	31
2-Méthode de diffusion sur disques.....	31
3- Réductions de la toxicité des souches fongiques isolées.....	32

## **CHAPITRE II : RÉSULTATS ET DISSCUSION**

III. résultats et discussion.....	33
III. 1. Pré-identification morphologique de l'isolat fongique.....	33
1-Etude macroscopique.....	33
2-Etude microscopique.....	35
II. 2. Dépistage de l'activité antimicrobienne.....	37
II. 3. Détermination de l'activité antimicrobienne.....	41
II. 3.1. Méthode de diffusion sur disques.....	41
II. 4. réduction de la toxicité de Fusarium par l'action des bactéries lactique.....	44

CONCLUSION.

ANNEXES.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
Tableau n° 01	Classification des formes anamorphe et téléomorphe.	04
Tableau n° 02	La nouvelle classification taxonomique de <i>fusarium</i> .	04
Tableau n° 03	<i>Fusariums</i> producteurs des mycotoxines.	14
Tableau n° 04	Les principales mycotoxines et leurs effets.	15
Tableau n° 05	Origines des isolats de l'agent pathogène.	24
Tableau n° 06	Tableau montrant les souches tests (les bactéries pathogènes et la levure ).	28
Tableau n° 07	Différentes caractères macroscopique des isolats fongique.	34
Tableau n° 08	Différentes caractères microscopique des isolats fongique.	35
Tableau n° 09	L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par les isolats fongiques.	37

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure n° 01	Représentation schématique de l'hyphe.	02
Figure n° 02	Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i> .	05
Figure n° 03	Cycle de vie de <i>F. graminearum</i> ; principal agent responsable de la fusariose des épis de blé.	06
Figure n° 04	Micrographie de l'infection d'une cellule de l'épiderme du lemme par un hyphe de <i>Fusarium culmorum</i> .	07
Figure n° 05	Structure des fumonisines de la série B.	11
Figure n° 06	Structure générale des trichothécènes.	12
Figure n° 07	Structure de 3 trichothécènes : T2, HT2 (Groupe A) et DON (Groupe B).	11
Figure n° 08	Structure chimique de la zéaralénone.	13
Figure n° 09	Symptômes du <i>fusarium</i> sur la base: a, b brunissement des nœuds et entre nœud ,c Lésions de la base de la tige du blé causées par <i>Fusarium</i> spp.	19
Figure n° 10	Fusarioses sur épis.	20
Figure n° 11	Grains de blé fusariés.	21
Figure n° 12	Feuille de blé présentant un symptôme typique d'une attaque par <i>Microdochium nivale</i> .	21
Figure n° 13	Cycle biologique de <i>Fusarium</i> sur céréales.	22

Figure n° 14	plante montrant les symptômes de fusariose ( A- Tomate , B-Fève ).	24
Figure n° 15	Stérilisation de surface et isolement des champignons endophytes.	26
Figure n° 16	Fermentation et extraction des champignons endophytes avec l'acétate d'éthyle et le chloroforme.	30
Figure n° 17	L'inhibition de la croissance de bactérie <i>klebsiella pneumoniae</i> .	38
Figure n° 18	L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par les isolats fongiques A- <i>Escherichia coli</i> , B- <i>Listeria sp</i> , C- <i>Candida albicans</i> .	38
Figure n° 19	Effet de chaque extrait fongique obtenu par le chloroforme sur les microorganismes pathogènes.	41
Figure n° 20	Effet de chaque extrait fongique obtenu par l'acétate d'éthyle sur les microorganismes pathogènes.	42
Figure n° 21	Activité antibactérienne des deux souches fongiques par la technique des disques ( les zones d' inhibition ).	42
Figure n° 22	Activité antibactérienne des deux souches fongiques par la technique des disques ( aucun zones d'inhibition ).	43
Figure n° 23	Représentation graphique de l'activité anti- <i>Fusarium</i> de la souche lactique ( <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i> ).	45
Figure n° 24	Représentation graphique de l'activité anti- <i>Fusarium</i> de la souche lactique ( <i>Streptococcus thermophilus</i> ).	45
Figure n° 25	Inhibition de la croissance du champignon par les bactéries lactiques ( <i>Lactococcus lactis subsp. Lactis</i> ) et mise en évidence de l'activité anti- <i>Fusarium</i> sur le milieu Sabouraud's Agar, après 72 h d'incubation.	46
Figure n° 26	Apparition des zones de lyse sur milieu Sabouraud.	47
Figure n° 27	Inhibition de la croissance du champignon par les bactéries lactiques ( <i>Streptococcus thermophilus</i> ) et mise en évidence de l'activité anti- <i>Fusarium</i> sur le milieu Sabouraud's Agar, après 72 h d'incubation.	47

## Liste des abréviations

<b>F.</b>	<i>Fusarium.</i>
<b>Foa</b>	<i>Fusarium oxysporum albedinis.</i>
<b>DON</b>	Désoxynivalénol.
<b>NIV</b>	Nivalénol.
<b>TCT</b>	Trichothécène.
<b>ZEA</b>	Zéaralénone.
<b>MON</b>	Moniliformine.
<b>BEA</b>	Beauvericine.
<b>ENN</b>	Enniantine.
<b>FUM</b>	Fumonisine.
<b>OTA</b>	Ochratoxine A.
<b>PDA</b>	Potato Dextrose Agar.
<b>SNA</b>	Spezieller Nährstoffärmer Agar.
<b>DRBC</b>	Dichloran Rose Bengal Chlorotétracycline.
<b>OGA</b>	Gélose glucosée à l'oxytétracycline
<b>GN</b>	Gélose nutritive.
<b>FAO</b>	Food and Agriculture Organization.
<b>°C</b>	Degré Celcuse.
<b>HR</b>	l'humidité relative.
<b>Aw</b>	activité de l'eau.
<b>EW</b>	Paroi de la cellule de l'épiderme.
<b>IH</b>	Hyphe du parasite.
<b>ml</b>	Millilitre.
<b>min</b>	Minute.
<b>MSFB</b>	Métabolites secondaires fongiques bruts
<b>IARC</b>	l'agence internationale de la recherche sur le cancer

*introduction*

## ***Introduction***

Les moisissures représentent un groupe hétérogène de champignons microscopiques saprophytes et, parfois parasites, caractérisés par la nature chimique de paroi cellulaire, riche en chitine; la reproduction :sexuées ou asexuées; la présence de glycogène, comme substance de réserve et l'absence de la chlorophylle. **(TABUC, 2007).**

Ce sont des organismes eucaryotes, thallophytes car l'appareil végétatif est un thalle constitué par des filaments mycéliens à croissance apicale, dans toutes les directions à la même vitesse. Dépourvues de pigments assimilateurs, les moisissures sont des microorganismes hétérotrophes dépendants d'une source de carbone organique. Globalement peu exigeants sur les conditions environnementales du substrat **(TABUC, 2007).**

De plus, beaucoup d'espèces saprophytes sont capables de se développer en tant que pathogènes secondaires sur des tissus végétaux sénescents. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), les légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers **(LOUNACI et ATHMANI, 2014)**.

Il existe de nombreuses espèces de *Fusarium*, dont certaines seulement sont pathogènes et/ou sont susceptibles d'émettre des mycotoxines (fusariotoxines en l'occurrence), posant problèmes en agriculture ou en médecine humaine et pour l'industrie agroalimentaire. **(KRSKA, 2009).**

Les mycotoxines (fusariotoxines) sont des métabolites secondaires, toxiques, excrétées par certaines moisissures qui se développent sur divers produits agricoles sous des conditions environnementales particulières **(KRSKA, 2009).**

Elles ont selon leurs structures chimiques des effets immunodépresseurs, hémorragiques, hépatotoxiques, néphrotoxiques, neurotoxiques, oestrogéniques ainsi que, à plus long terme et pour certaines, des effets mutagènes et cancérogènes **(CAHAGNIER et al., 1998).**

Afin de lutter contre cette maladie, différents moyens de contrôle ont été adoptés, y compris l'utilisation de cultivars tolérants, pratiques culturales (la rotation, type de labour) et l'application de divers fongicides **(GILBERT ETHABER, 2013 ; SCHERM et al., 2013).**

La lutte biologique a été adoptée comme source d'une recherche d'un moyen supplémentaire, pour l'intégrer dans le cadre d'une lutte intégrée à l'égard de cette maladie **(MULLENBORN et al, 2008).**

Différentes études ont été réalisées pour rechercher et isoler des microorganismes efficaces pour lutter contre cette maladie. Plusieurs champignons ont été identifiés comme antagonistes efficaces contre *Fusarium* sp (DAWSON *et al.* , 2004 ; LUONGO *et al.* , 2005).

Dans ce contexte, L'objectif de notre travail est la recherche et la réduction des mycotoxines à partir des tiges des plantes contaminés par Le genre *Fusarium*, En effet, le travail s'articule sur :

- ✓ Isolement et purification des champignons endophytes (*Fusarium* ) .
- ✓ Dépistage préliminaire afin de déterminer leur possible pouvoir antimicrobien
- ✓ Identification des champignons ayant un résultat positif au dépistage.
- ✓ Fermentation et extraction par deux solvants, l'acétate d'éthyle et le chloroforme .
- ✓ Détermination de l'activité antimicrobienne des deux extraits par le test de diffusion sur disques .

*Partie I :*

*Etude*

*bibliographique*



## chapitre 01: le fusarium

### I- Champignons

#### 1- Généralités

Les champignons représentent un des groupes d'organismes vivants les plus abondants mais dont il reste beaucoup à découvrir, autant du point de vue de la diversité que de leurs applications possibles pour la société et les écosystèmes. En effet, un peu plus de 99 000 espèces seulement sur 3,5 à 5,1 millions estimées en 2005 auraient été décrites (**O'BRIEN, 2005 ; BLACKWELL, 2011**).

Les champignons sont des Eucaryotes possédant une paroi constituée de chitine qui est un polysaccharide composé de résidus N-acétylglucosamine, de glucanes et de mannoprotéines variées. Ils sont en général aérobies même si certaines levures peuvent être aéro-anaérobies lors de processus fermentaires. Leur structure cellulaire varie et deux catégories principales sont distinguables : la forme unicellulaire, c'est le cas des levures, et la forme mycélienne pluricellulaire constituée d'hyphes. Parfois, des espèces dites « dimorphiques » peuvent présenter les deux formes selon les conditions environnementales, ce qui présente des avantages pour la colonisation de certains milieux. Ainsi, par exemple, la forme mycélium est plus adaptée à une croissance dans un milieu donné tandis que la forme levure est plus adaptée à la colonisation d'un tissu animal et ce, dépendamment de la température (**CARLILE, 1994 ; VEGA, 2012**).

Les organismes unicellulaires ont l'avantage de pouvoir subir une pression osmotique plus forte, tandis que les mycéliens peuvent coloniser très rapidement un milieu du fait de leur surface de contact optimale pour la recherche et l'assimilation de nutriments (**JENNINGS, 1996**). Le mycélium est donc constitué d'hyphes ramifiés et peut générer un tissu macroscopique appelé « thalle » qui peut s'étendre parfois sur plusieurs centaines d'hectares (**FERGUSON, 2003**). Leur croissance se réalise par l'allongement de leurs hyphes grâce à une extension de la paroi au niveau de l'apex par un apport continu de chitine (**CARLILE, 1994 ; GLASS, 2004**).

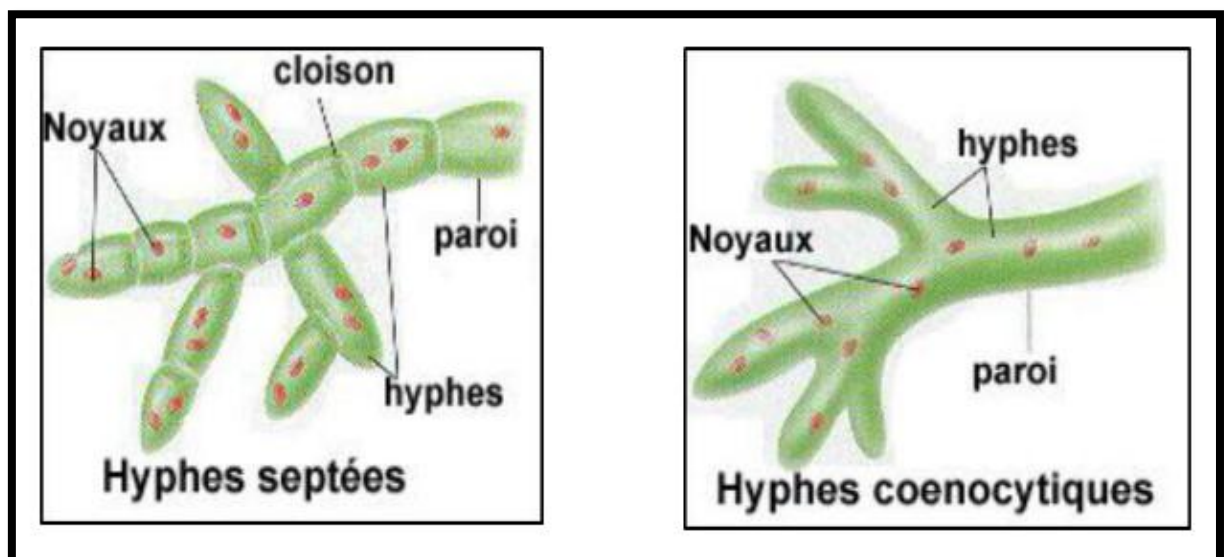
## 2- Morphologie

Le mycète est constitué d'un thalle qui forme son appareil végétatif (**HAWKSWORTH *et al.*, 1994**). L'appareil végétatif se compose d'éléments de base appelé hyphe qui forme un réseau de filaments ramifiés ; le mycélium (**MATHEW, 1995**).

Chez la plupart des mycètes, les hyphes sont divisés par des cloisons, ou septa (septum au singulier) formant des unités qui ressemblent à des cellules distinctes avec un seul noyau, on les appelle alors hyphes segmentés ou septés. Dans quelques classes de mycètes, les hyphes ne contiennent pas des cloisons et ont l'aspect de longues cellules continues à noyau multiples ; ils sont appelés cénocytes (**Figure 01**) (**TORTORA *et al.*, 2003**).

Les hyphes, segmentés ou non, sont en fait de petits tubules transparents s'entourant d'une paroi cellulaire rigide formée de polymère de chitine et des polymères de la cellulose, éléments chimiques qui lui confèrent une grande rigidité, une longévité et une grande capacité de résistance à la chaleur et à des pressions osmotiques élevées. De ces faits, les mycètes sont donc capables de vivre dans un environnement rude (**TORTORA *et al.*, 2003**).

En effet, les mycètes se développent à pH légèrement acide (3 et 7) et à une température optimale comprise entre 20 °C et 30 °C, cependant certaines espèces sont psychrophiles, se développant à des températures très basses (<15°C ou même parfois à <0°C) (**BOTTON *et al.*, 1990 ; GUIRAUD, 1998**).



**Figure 01 : Représentation schématique de l'hyphe (DECOCQ, 2011).**

## II- le genre *Fusarium*

### 1- Généralités

Le genre *Fusarium*, décrit pour la première fois par Linke en 1809, appartient à la famille des Tuberculariacées, dans le groupe des Hyphomycètes (champignons filamenteux). L'absence de reproduction sexuée permet de rattacher ces champignons aux Deutéromycètes (champignons imparfaits), regroupement artificiel de formes asexuées (ou anamorphes) variées, certaines espèces de *Fusarium* ont une forme sexuée, dite également forme parfaite ou téléomorphe, appartenant aux genres *Nectria* ou *Gibberella* (**GAMS et NIRENBERG, 1989**).

### 2- Taxonomie

La taxinomie ou taxonomie a pour objet de décrire les organismes vivants et de les regrouper en entités appelées taxons afin de les identifier, les nommer et enfin les classer. Depuis la seconde moitié du XXème siècle, une nouvelle approche conceptuelle de ces classifications est possible grâce à la biologie moléculaire. La taxinomie en mycologie est donc en constante évolution suite aux données recueillies lors des différentes approches phylogénétiques. Ce remodelage des classifications s'applique également pour le genre *Fusarium*; appartenant au phylum des Ascomycota, à la classe des Sordariomycetes et à l'ordre des Hypocreales (**GHORRI, 2015**).

Il s'agit d'un genre polyphylétique à la taxinomie complexe. Par exemple, *Fusarium solani* et *Fusarium verticillioides* possèdent des formes sexuées (téléomorphes) appartenant respectivement aux genres *Nectria* ou *Gibberella* alors que *Fusarium oxysporum* n'est actuellement connu que sous sa forme asexuée (anamorphe). La taxinomie du genre autrefois basée sur les aspects morphologiques ou l'adaptation à un substrat particulier, a été revue en profondeur avec l'avènement des techniques de phylogénie moléculaire. Les données récentes issues de ces travaux montrent que les anciennes taxinomies sont en partie erronées. Ceci s'est traduit par le rattachement d'espèces des genres *Acremonium* ou *Cylindrocarpon* au sein du genre *Fusarium* telles que *Acremonium falciforme* ou *Cylindrocarpon lichenicola* (**GHORRI, 2015**).

Tableau 01 : Classification des formes anamorphe et téléomorphe (CARLILE *et al.*, 2001; JEUNOT, 2005).

Anamorphe → <i>Fusarium</i>	Téléomorphe → <i>Gibberella</i> ou <i>Nectria</i>
Fungi > Deutéromycètes > ordre des Hyphomycètes > famille des <i>Tuberculariaceae</i>	Fungi > Ascomycètes > Sordariomycètes > Hypocreomycetidae > Hypocréales > <i>Nectriaceae</i>

### 3- Classification de *Fusarium*

#### 3-1 Position systématique

La nouvelle classification taxonomique basée sur la phylogénie moléculaire selon (DEBOURGOGNE, 2013) est la suivante :

Tableau 02: La nouvelle classification taxonomique de *fusarium* .

Règne	<i>Fungi</i>
Division	<i>Ascomycota</i>
Classe	<i>Sordariomycetes</i>
Sous-classe	<i>Hypocreomycetidae</i>
Ordre	<i>Hypocreales</i>
Famille	<i>Nectriaceae</i>
Genre	<i>Fusarium</i>

#### 4- Morphologie et caractéristiques physiologiques

La principale caractéristique morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies en forme fusiformes, cloisonnées (figure 02) (TABUC, 2007). Le thalle des *Fusarium* est à croissance, habituellement, rapide et de couleur variée (JEUNOT, 2005), les conidiophores parfois très ramifiés formant sur le thalle des coussinets

(sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects grasseux, les phialides sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies: des macroconidies fusiformes, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon et/ou des microconidies petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes . Les chlamydo-spores peuvent être présentes comme absentes, se différenciées soit par le mycélium ou par les conidies (BOTTON *et al.*, 1990 ; JEUNOT, 2005).

Au niveau de physiologie cellulaire, les *Fusarium* ont une croissance optimale à une température comprise entre 22 et 37 °C. La majorité des moisissures se développent bien dans un milieu humide ( $A_w = 0,85$ ), les *Fusarium* se développent dans un milieu très humide ( $A_w > 0,9$ ), ce qui explique leur présence dans les champs et sur les plantes vivantes (CASTEGNARO et PFOHL-LESZKOWICZ, 2002).

Ces moisissures sont aérobies ; l'oxygène leur permet d'effectuer une croissance normale. Cependant, la plupart peuvent se développer même si l'oxygène est limité. Ils se développent normalement à un pH compris entre 3 et 8. Généralement, une croissance fongique est optimale à un pH compris entre 5 et 6 (TABUC, 2007).

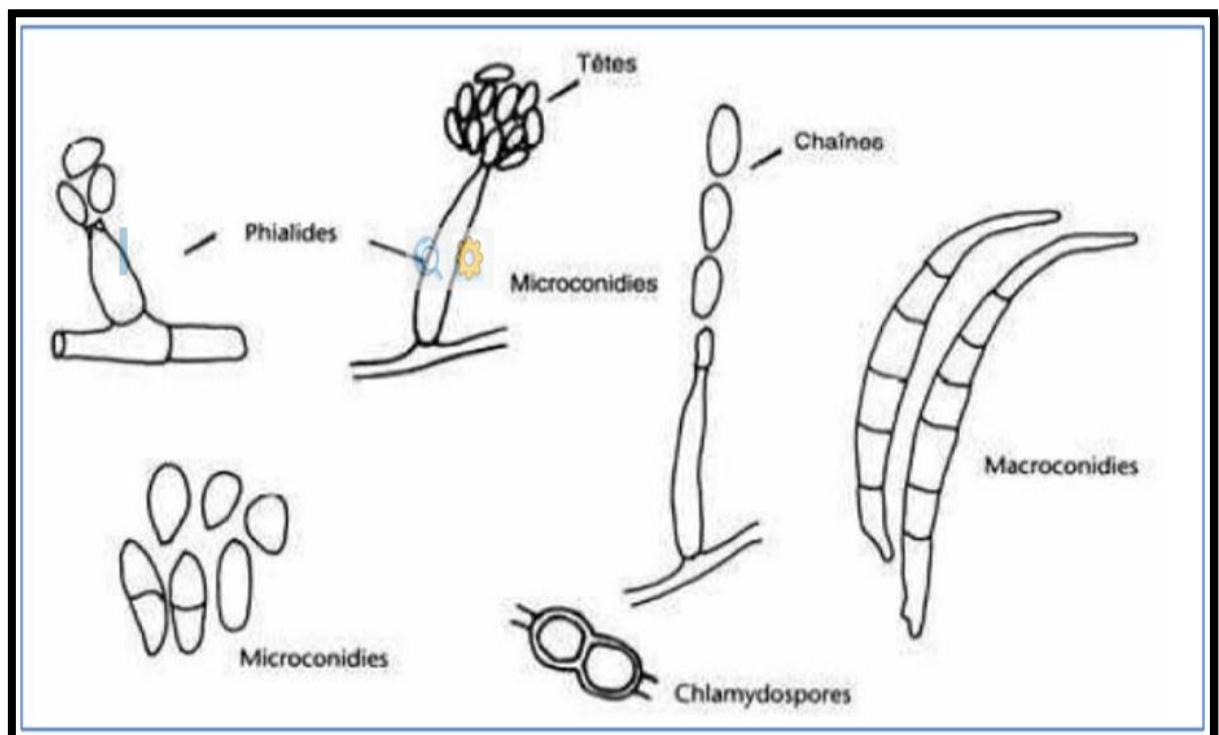


Figure 02 : Caractères morphologiques des *Fusarium*. (TABUC, 2007).

## 5- Biologie du genre *Fusarium*

### 5-1 Cycle biologique

Le champignon qui cause la maladie persiste et se multiplie sur les résidus végétaux infectés, qu'il s'agisse de céréales, de graminées ou d'autres plantes, cultivées ou non, qui se trouvent dans le champ et dans les environs. Les spores de *Fusarium* se déposent sur les épis à la faveur du vent et des éclaboussures. Les petites céréales sont sensibles à l'infection à partir de la floraison (apparition de l'épi) jusqu'au stade mi-pâteux; selon les caprices du climat. (MARTIN *et al.*, 2007 ; WEGULO *et al.*, 2008).

Les conditions les plus propices à l'infection sont des périodes de 48 à 72 heures de forte humidité et des températures de 24 à 30 °C. Des périodes plus longues d'humidité élevée combinées à des températures fraîches peuvent aussi provoquer l'infection. Les infections qui se produisent tôt dans la saison produisent parfois des spores qui, transportées par le vent, peuvent propager la maladie (MARTIN *et al.*, 2007 ; WEGULO *et al.*, 2008).

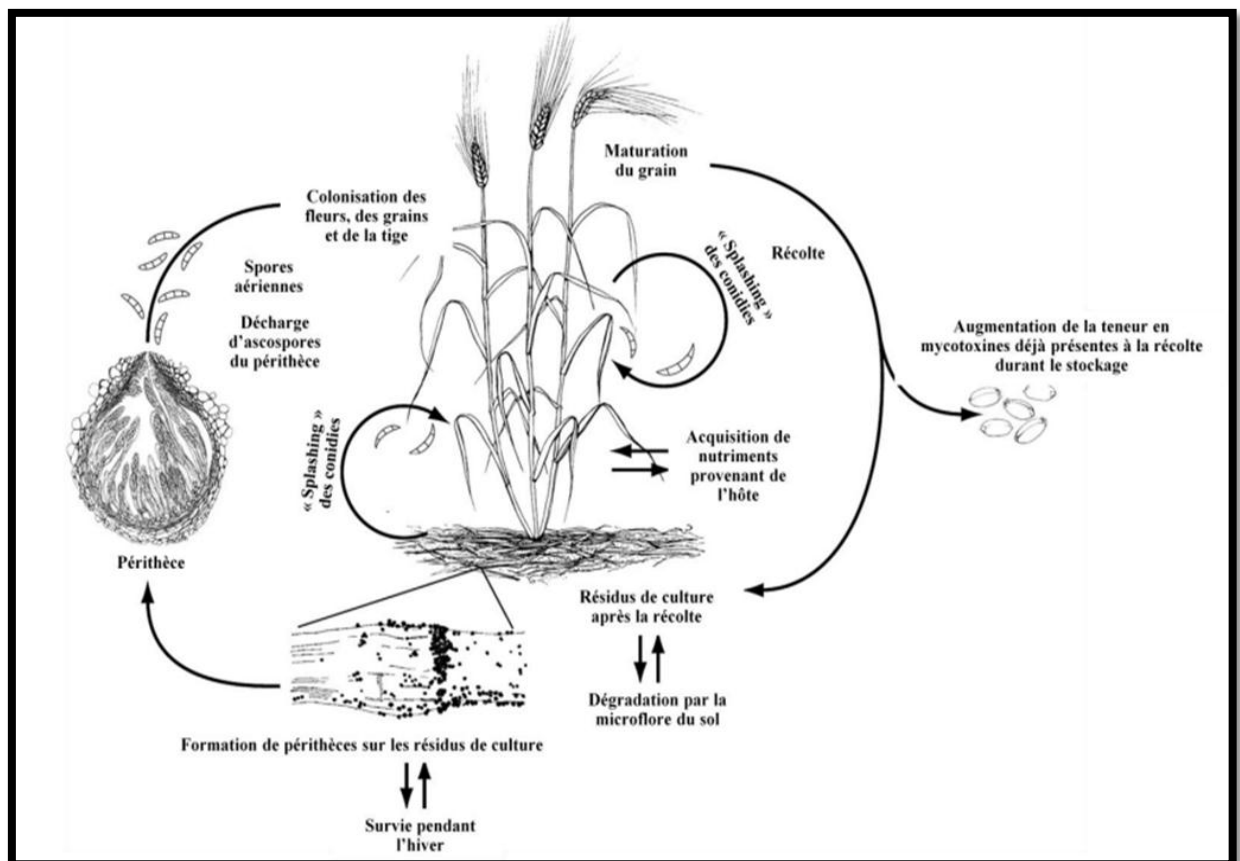


Figure 03 : Cycle de vie de *F. graminearum*; principal agent responsable de la fusariose des épis de blé (TRAIL, 2009).

## 5-2 L'infection

Parmi les facteurs favorisant le développement de la maladie fusarienne nous citons, les précédents à paille, le maïs, le sorgho, l'absence de rotation, l'utilisation des variétés sensibles et l'absence de travail du sol. Cette dernière technique laisse des grandes quantités de débris végétaux en surface, offrant ainsi, un substrat idéal pour la multiplication des *Fusarium* (MARTIN *et al.*, 2007 ; WEGULO *et al.*, 2008).

Toutefois, le champignon ne peut attaquer les épis de blé que s'il pleut et que la température est assez élevée. Les gouttes de pluie permettent la dispersion des spores du pathogène, notamment à partir du sol, et les transportent jusqu'au niveau de l'épi. L'humidité relative élevée permet la germination des spores et leur entrée dans la fleur. La sévérité et le développement de l'infection sont largement influencés par la sensibilité de la variété de blé ou de triticales utilisés (MASCHEER *et al.*, 2005).

L'infection a lieu durant la floraison. Après germination, le tube germinale pénètre dans l'épillet et se développe sur les glumes, utilisant les nutriments disponibles. Le champignon pénètre ensuite dans la fleur et s'enfile dans les stomates, les blessures et les étamines (MASCHEER *et al.*, 2005).

Ces dernières sont le site préféré de pénétration parce qu'elles contiennent des composés qui stimulent la croissance des champignons (STRANGE et SMITH, 1971).

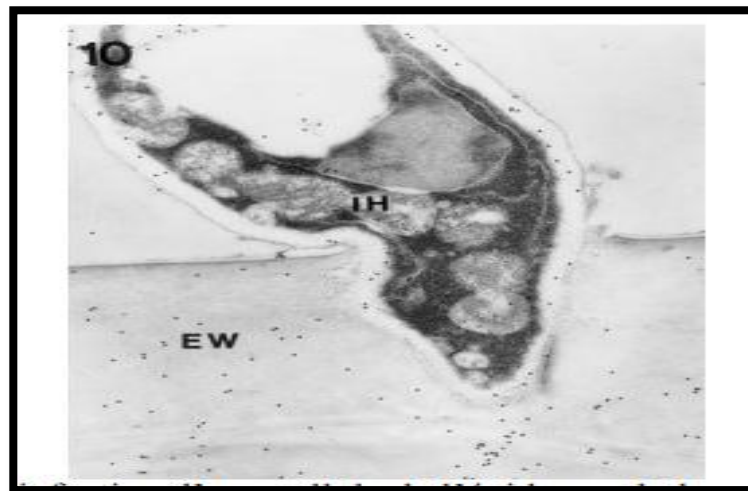


Figure 04 : Micrographie de l'infection d'une cellule de l'épiderme du lemme par un hyphe de *Fusarium culmorum* (KANG et BUCHENAUER, 2002).EW : Paroi de la cellule de l'épiderme , IH : Hyphes du parasite.

## chapitre 02: les mycotoxines

### 1- Mycotoxines

Le terme mycotoxine provient du grec « mycos » signifiant champignon et du latin « toxicum » pour poison. Ainsi, les mycotoxines sont des substances chimiques toxiques produites par certaines moisissures, notamment lorsque celles-ci se développent sur des denrées alimentaires, telles que les céréales (**QUILLIEN, 2002**).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires toxiques produits par certaines souches de moisissures dans les milieux où elles se développent, principalement dans les matières premières d'origine végétales (céréales, légumes, fruits). Plusieurs centaines de mycotoxines ont pu être identifiées et environ une trentaine de ces molécules a une véritable importance en termes de santé animale et humaine (**CASTEGNARO et PFOHL-LESZKOWICZ, 2002**).

Il est à noter qu'une même mycotoxine peut être sécrétée par plusieurs espèces de champignons et, à l'inverse, un champignon peut sécréter plusieurs mycotoxines. Aussi, la présence d'un champignon producteur de mycotoxines n'est pas toujours synonyme de la présence de celles-ci et un champignon responsable de la production de mycotoxines peut être absent de la denrée alimentaire, alors que la/les mycotoxines persistent (**PARENT-MASSIN *et al.*, 2013**).

#### 1-1 Nature et origine des mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires, toxiques, de faible poids moléculaire (entre 200 et 10.000 daltons), excrétées par certaines moisissures qui se développent sur divers produits agricoles sous des conditions environnementales particulières (**KRSKA, 2009**).

A ce jour, 300 à 400 mycotoxines sont connues (**PAMEL *et al.*, 2010**). Il s'agit de petites molécules peu solubles dans l'eau, peu volatiles et difficilement métabolisées par les organismes vivants. Elles sont très stables à l'acidité et à la chaleur (**RUPPOL *et al.*, 2004**). L'origine chimique des mycotoxines est très diverse, certaines dérivent des polycétoacides (aflatoxines, ochratoxine, patuline, stérigmatocystine), d'autres des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot, acide aspergillique, acide cyclopiazonique) et les derniers sont des dérivés terpéniques (désoxynivalénol, diacétoxyscirpénol, fusarénone,) (**LECLERC *et al.*, 2005**).

**1-2 Production de mycotoxines**

Outre les pertes quantitatives qu'ils occasionnent, les champignons du genre *Fusarium* produisent de mycotoxines dans les grains et les rendent impropres à la consommation (JOUANY, 2007 ; KELLER, 2011).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (PRANDINI *et al.*, 2007).

Elles peuvent être produites avant la récolte et donc retrouver dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales. Elles diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production.

Peu labiles, elles sont souvent actives à très faibles doses, thermostables, stables dans le temps et résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ainsi, lorsqu'elles sont présentes dans le grain, elles persistent tout au long de la chaîne alimentaire. Les fusariotoxines (produites par les *Fusarium*) sont diverses : trichothécènes A et B (TCT A et B), zéaralénone (ZEA) et fumonisine.

Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules et de l'activation des gènes de défense de la plante (WAGACHA et MUTHOMI, 2007).

Par ce fait, ces mycotoxines sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (PRANDINI *et al.*, 2007).

Certaines espèces de *Fusarium* ne produisent pas de mycotoxine alors que d'autres, telle que *F. graminearum*, sont susceptibles de produire une ou plusieurs mycotoxines (DESJARDINS et PROCTOR, 2007 ; QUARTA *et al.*, 2006).

### 1-3 Mycotoxines produites par le *Fusarium*

#### 1.3.1)- Fumonisine

Les fumonisines sont un groupe de mycotoxines caractérisées à la fin des années 80 et produites par *Fusarium verticilloides*. Ces toxines peuvent aussi être produites par *F. proliferatum* et *F. Nygamai* qui parasite principalement le sorgho et le millet (**NELSON et al., 1992; NORRED et al., 1992**).

Aujourd'hui la famille des fumonisines comprend 15 molécules différentes. Les fumonisines B1, B2 et B3 sont les plus répandues dans le monde comme des contaminants naturels des céréales. La toxicité des fumonisines est caractérisée par l'apparition de signes cliniques très différents en fonction des espèces (**OSWEILER et al., 1992**).

##### 1.3.1.1)- Structure

Les fumonisines ont une structure proche de celle de la sphingosine, composant cellulaire constituant le squelette carboné des sphingolipides. Ainsi, ces molécules sont des diesters répartis en 4 groupes (A, B, C et P). Contrairement à la plupart des mycotoxines, elles n'ont pas de structure cyclique, mais elles sont constituées d'une chaîne amino-polyhydroxyalkyle de 19 ou 20 carbones diestérifiée (**MAGAN et OLSEN, 2004**).

Les fumonisines du groupe B, majoritaires, sont caractérisées par un groupement amine en position C2, et sont des diesters d'acide-1,2,3-propane tricarboxylique et de longues chaînes polyhydroxyamines (**DESJARDINS, 2006; BRYLA et al., 2013**).

Ce groupe B se compose de 4 fumonisines : FB1 à 4, qui se distinguent par la position des groupements hydroxyle (**Figure 05**).

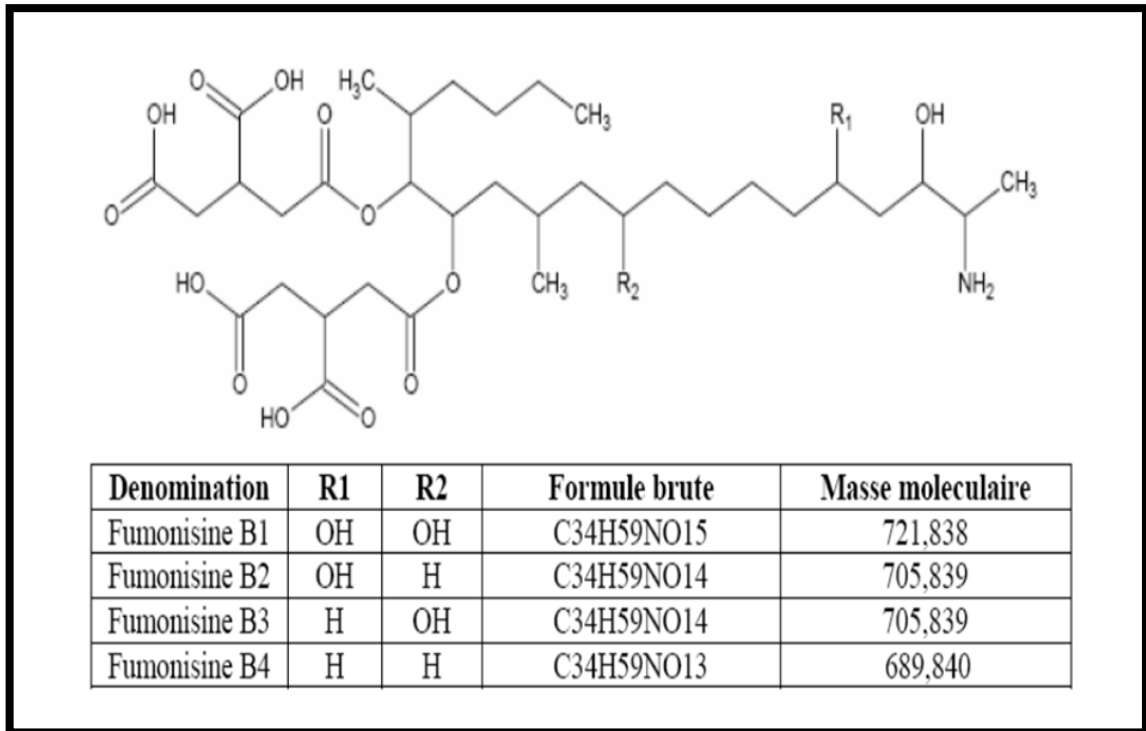


Figure 05 : Structure des fumonisines de la série B (TABUC, 2007).

### 1.3.2)- Trichothécène

C'est une famille composée d'environ 148 composés, tous produits par de nombreuses espèces fongiques dont celles des genres *Fusarium*, *Penicillium*, *Cephalosporum*, *Myrothecium*, *Trichoderma* et *Stachybotrys*. Les mycotoxines les plus étudiées dans ce groupe sont le déoxynivalénol (DON), les toxines T-2 et HT-2 (OMS, 1980).

La toxine DON est une vomitoxine qui contamine les céréales en particulier le blé, l'orge, le maïs, le seigle, l'avoine, et le riz. L'occurrence de la toxine DON est associée principalement avec *F. graminearum* et *F. culmorum*. La DON peut provoquer des effets adverses après administration. L'administration d'une dose aiguë est caractérisée par deux effets toxicologiques à savoir la perte de l'appétit et les vomissements (CREPPY, 2002).

Les toxines T-2 et HT-2 sont deux toxines produites sur les céréales (blé, orge, maïs, riz, avoine...) et les produits à base de céréales. Elles sont produites par de nombreuses espèces de *Fusarium*. La toxine T-2 est un inhibiteur potentiel de la synthèse protéique. Alors que la toxine HT-2 a pour cible le système immunitaire (BOTTALICO, 1998).

## 1.3.2.1)- Structure

Les trichothécènes sont des composés à structure sesquiterpène tricyclique comprenant une fonction époxyde. Ce sont des 12,13-époxytrichothec-9-ènes caractérisés en outre par un groupement carbonyle en C8 (DESJARDINS, 2006), (Figure 06, 7).

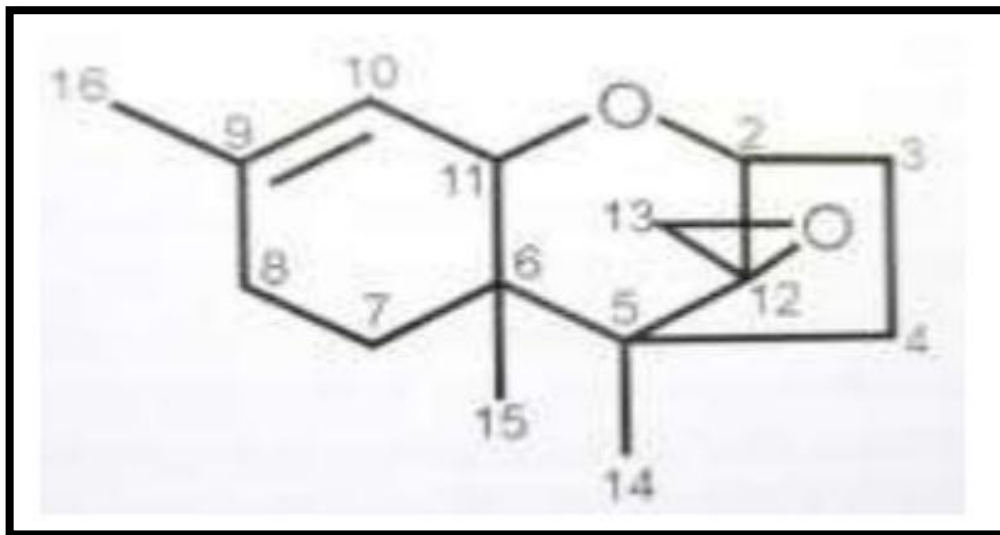


Figure 06 : Structure générale des trichothécènes (DESJARDINS, 2006).

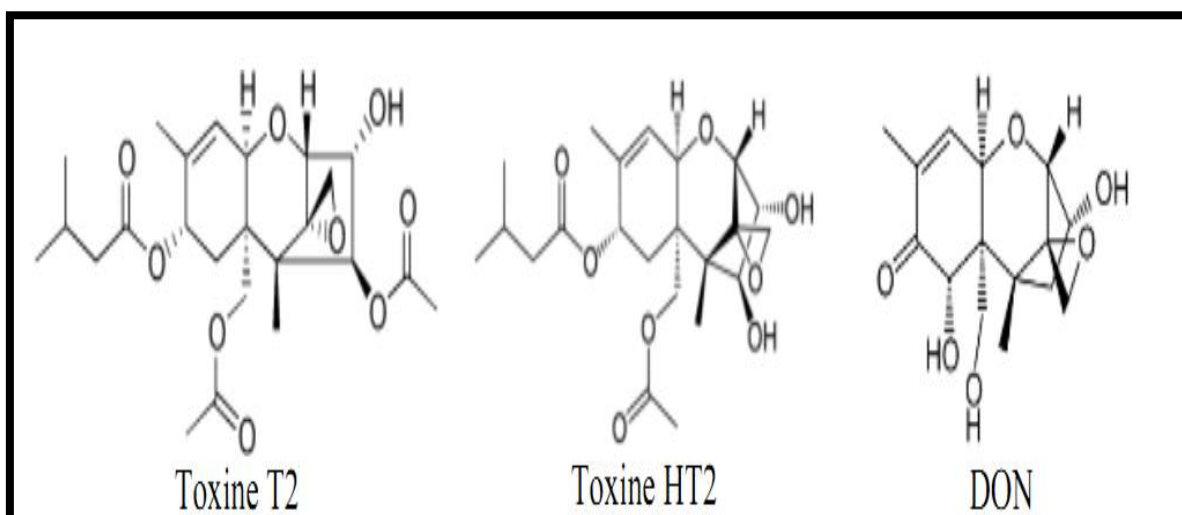


Figure 07 : Structure de 3 trichothécènes : T2, HT2 (Groupe A) et DON (Groupe B) (MOSS, 1996).

### 1.3.3)- Zéaralénone

La zéaralénone (ZEA) ou toxine F-2 est produite par les espèces appartenant au genre *Fusarium*, en particulier *F. graminearum*, *F. semitectum*, *F. equiseti*, *F. crookwellense* et *F. culmorum*. Elle peut être également être synthétisée par *F. tricinctum*, *F. oxysporum*, *F. sporotrichoïdes* et *F. laterium*. La production de cette mycotoxine est favorisée lorsque les températures sont situées entre 10 et 15°C (ABBAS *et al.*, 1988 ; TABUC, 2007).

ZEA est une lactone de l'acide résorcyclique sans toxicité intrinsèque mais de par sa similitude avec l'œstrogène (Figure 08), la ZEA est responsable de troubles de la reproduction et notamment du syndrome oestrogénique chez le porc. La principale moisissure responsable de la production de cette mycotoxine est *Fusarium graminearum* même si d'autres champignons sont capables de la produire. Sa répartition est mondiale, elle est présente dans l'ensilage, le foin, le maïs ou d'autres céréales (WHITLOW *et al.*, 2001).

#### 1.3.3.1)- Structure

La zéaralénone est une lactone mono- et macrocyclique dérivée de l'acide résorcyclique (zéaralane), (Figure 08). La zéaralénone existe naturellement sous la forme trans (DESJARDINS, 2006).

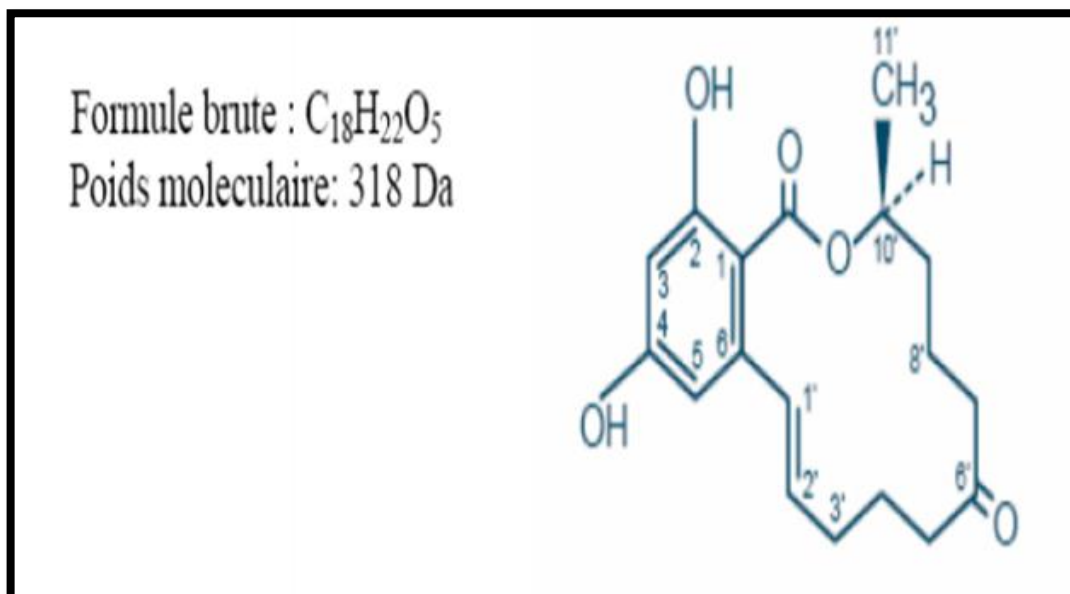


Figure 08 : Structure chimique de la zéaralénone (TABUC, 2007).

Tableau 03 : *Fusariums* producteurs des mycotoxines (PITT, 2000).

Espèces de <i>fusarium</i>	Mycotoxines produites
<i>Fusarium acuminatum</i>	Moniliformine, trichotécènes type A
<i>Fusarium anthophilum</i>	moniliformine
<i>Fusarium avenaceum</i>	Fusarine C, moniliformine
<i>Fusarium chlamydosporum</i>	moniliformine
<i>Fusarium cerealis</i> ( <i>sin. Crookwellense</i> )	Culmorine, fusarine C, trichotécènes type B
<i>Fusarium culmorum</i>	Culmorine, fusarine C, trichotécènes type B, zéralénone
<i>Fusarium graminearum</i>	trichotécènes type B, zéralénone
<i>Fusarium oxysporum</i>	Acide fusarique, moniliformine, oxysporine
<i>Fusarium pallidoroseum</i> ( <i>sin. Semitectum</i> )	Moniliformine, zéralénone
<i>Fusarium poae</i> ( <i>sin. tricinctum</i> )	fusarine C, trichotécènes type A
<i>Fusarium proliferatum</i>	moniliformine
<i>Fusarium sacchari</i>	moniliformine
<i>Fusarium sambucinum</i>	Fusarine C, trichotécènes type A
<i>Fusarium solani</i>	Acide fusarique, naftoquinone
<i>Fusarium sporotrichoides</i>	fusarine C, trichotécènes type A, zéralénone
<i>Fusarium verticillioides</i> ( <i>sin. Moniliforme</i> )	Fumonisines, Fusarine C, gibberelines, moniliformine, naftoquinone

#### 1-4 Effets des mycotoxines

Les mycotoxines constituent un danger imminent qui tire le signal d'alarme, en raison des pertes économiques importantes qui sont liées à leurs effets sur la santé de l'homme, sur la productivité animale et sur le commerce national et international. La FAO

estime que plus de 25 % des récoltes mondiales sont significativement contaminées par des mycotoxines (KRSKA, 2009).

L'ingestion d'aliments contaminés par les mycotoxines peut être à l'origine de toxicités aiguës ou chroniques nommées mycotoxicoses. Cependant, les intoxications aiguës sont rares, spécifiquement chez l'homme, en raison des faibles quantités pouvant être ingérées avec des aliments contaminés. Mais, l'intoxication chronique est souvent à craindre et ce, à cause de l'effet cumulatif des doses fixées sur des organes cibles, tels que le foie ou le rein (LECLERC *et al.*, 2005).

Les mycotoxines peuvent aussi avoir des effets cancérigènes, mutagènes, tératogènes et immunosuppresseurs (Tableau 04). En outre, certaines mycotoxines peuvent altérer des réactions immunitaires et réduire ainsi, la résistance aux infections. Du coup, il est, maintenant, largement considéré comme leur effet le plus important, surtout dans les pays en développement (PAMEL *et al.*, 2010).

**Tableau 04 : Les principales mycotoxines et leurs effets (BROCHARD *et al.*, 2009).**

Mycotoxines	Effets avérés ou suspectés
Aflatoxines	Hépatotoxique- Mutagène- Cancérogène- Immunotoxique
Citrinine	Néphrotoxique
Fumonisine B1	Neurotoxique- Hépatotoxique- Immunotoxique- Cancérogène
Ochratoxines	Néphrotoxique- Cancérogène- Mutagène
Patuline	Neurotoxique- Mutagène (in vitro)
Pénitrem A	Neurotoxique
Stéigmatocystine	Cancérogène- Hépatotoxique
Trichothécènes	Cancérogène-Hépatotoxique-Immunotoxique-Hématotoxique
Zéaralénone	Ostrogénique- Effet sur la fertilité et la reproduction

---

## chapitre 03: la fusariose

### I- La fusariose

La fusariose est une maladie des céréales dite « à petits grains » que l'on retrouve partout dans le monde. La fusariose peut être causée par une vingtaine d'espèces du genre *Fusarium* (PARRY *et al.*, 1995).

Il existe plusieurs espèces recensées de ce champignon dont à savoir *Fusarium oxysporum*. Ce dernier est un agent vasculaire qui se conserve dans le sol sous forme de chlamydospores et infecte les plantes via les racines qu'elles pénètrent directement ou par des blessures d'origine mécanique ou biologique (percées des racines secondaires, piqûres de nématodes,...) (EL HADRAMI *et al.*, 1998).

Les maladies dues à l'espèce *F. oxysporum* sont largement répandues dans le monde. Elles sont dommageables pour de nombreuses plantes maraîchères (tomate, cucurbitacées,...) et ornementales (œillet), ainsi que pour des cultures en plein champ telles que le coton, le bananier (la maladie de Panama) et le palmier dattier (maladie du Bayoud) causée par *Fusarium oxysporum albedinis* (EL HADRAMI *et al.*, 1998).

Ce champignon qui se trouve dans le sol, pénètre par les racines en cheminant la sève et envahissant le bourgeon terminal du palmier dattier. Par conséquent, il provoque un dessèchement puis un dépérissement rapide des arbres. Le bayoud ou la fusariose du palmier dattier se caractérise par sa résistance à la sécheresse et par sa capacité de rester dangereux après plus de trente ans passés sous-sol. Il est également très prolifique soit par le repiquage de rejets apparemment sains, soit par l'irrigation, soit par les vents de sables qui peuvent transporter de minuscules éléments végétaux (EL HADRAMI *et al.*, 1998).

### 1- Données sur la fusariose du blé

#### 1-1 Incidence économique

Les fusarioses sont parmi les maladies les plus dangereuses sur le blé, elles font baisser le rendement par diminution de la faculté germinative des semences, du nombre de grains par épi et du poids de milles grains. La présence des diverses espèces de *Fusarium spp.* sur les grains peut réduire leurs qualités boulangères (CAHAGNIER, 2001; GUTZUILLER *et al.*, 2005).

## 1-2 Agents responsables

Le blé peut être attaqué par différentes espèces du genre *Fusarium* et l'espèce *Microdochium nivale* (syn. *Fusarium nivale*). Le genre *Fusarium* est classé dans les Deutéromycètes, il appartient à la famille des tuberculariaceae, l'ordre des moniliales, la classe des hyphomycètes. Ce genre et de la forme asexué se rapporte aux hypocréales (Ascomycota), et les formes sexuées (téléomorphes) de plusieurs espèces appartiennent au genre *Gibberella* (*Nectriaceae*, *Hypocreales*, *Hypocreomycetidae*, *Sordariomycetes*, *Ascomycota*, *Fungi*) et un certain nombre au genre *Nectria* (**KEITH et SEIFERT, 2001 ; LESLIE et SUMMERELL, 2006**).

## 1-3 Dégâts de la fusariose

Les espèces du genre *Fusarium* sont des pathogènes responsables des pertes économiquement importantes chez la majorité des cultures. Ces agents pathogènes peuvent causer la fonte de semis, la pourriture des racines et du collet (**PAUVERT, 1984**).

### 1.3.1- Fonte de semis

La fonte de semis est due à des semences contaminées et elle est fréquente dans les régions humides où la maladie de l'épi prédomine. Moins fréquemment, cette maladie peut être causée par l'inoculum présent dans le sol ce qui est généralement le cas des régions arides (**GARGOURI, 2003**).

La maladie peut se traduire par des manques à la levée. En effet, la germination a eu lieu mais les racines meurent au cours de leur développement ou elles sont partiellement nécrosées. La fonte de semis due au *Fusarium* se manifeste tardivement, elle est localisée dans les zones les plus sèches. Parfois, la maladie se traduit par le dessèchement brutal de jeunes plantules qui restent dressées. Dans le cas d'une infection sévère, les racines latérales avortent ou encore sont détruites dans un stade assez jeune. La fonte de semis est responsable d'une réduction de rendement qui peut atteindre 17% (**GARGOURI, 2003**).

### 1.3.2 - Maladies des pourritures racinaires

La pourriture racinaire ou la pourriture de pied ou encore la pourriture commune, sont des appellations décrivant une même maladie due à différents agents fongiques du

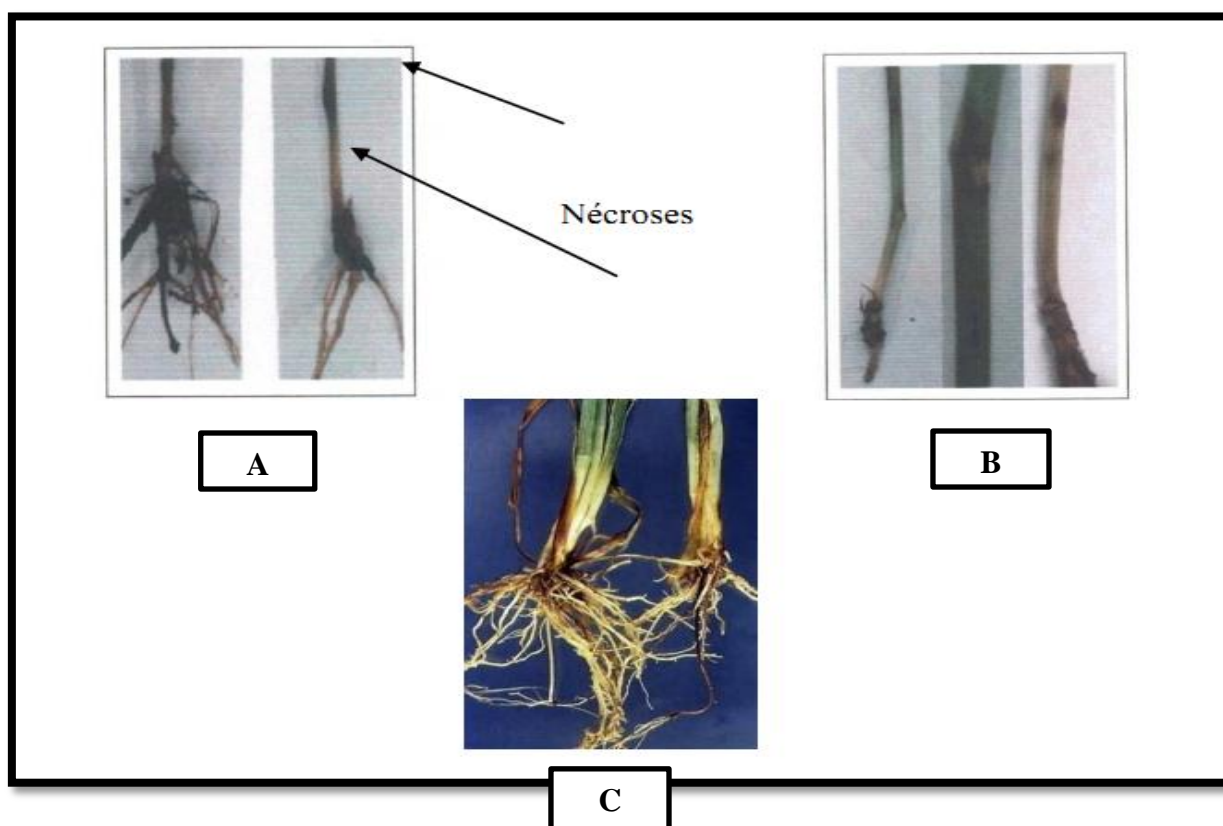
genre *Fusarium* (*Fusarium culmorum* ; *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*) et *Cochliobolus* (*Cochliobolus sativus* ). L'importance des dégâts est intimement liée au type de culture, à la région et surtout aux conditions climatiques (BOUCHAIB et FARES, 2017).

Les symptômes de cette maladie se traduisent par un manque à la levée, fonte des semis, lésion au niveau du coléoptile, racines peu ou pas développées, déformation du germe, dessèchement brutal des jeunes plantes ; le symptôme le plus fréquemment observé est la coloration brune foncée des nœuds inférieurs ; sur les plantes âgées. Une infection par la fusariose peut produire une vraie pourriture du pied, ou la base de la tige devient brune et pourrie, ce qui entraîne l'émergence d'épis blancs, ce symptôme est très observé dans les saisons très sèches (BOUCHAIB et FARES, 2017).

#### 1- 4 Symptomatologie

##### A- sur la partie basale

Les symptômes se manifestent par des nécroses sur les talles inférieures, le collet, entre nœuds, et les racines (SCHILLING *et al.*,1996) (Figure 09 a,b,c).



**B- Sur épi**

La fusariose de l'épi de blé est donc initiée par le dépôt de spores matures sur des épis de blé en fleur. Ces spores germent, colonisent les anthères extrudées, généralement dans la partie médiane de l'épi, où commence la floraison et où l'humidité est supérieure à celle des autres épillets (**WALTER *et al.*, 2009**).

une partie ou la totalité des épillets peuvent être échaudées, le champignon peut attaquer les glumes, l'attache d'un épillet, le rachis ou le col de l'épi après la floraison, il peut avoir un dessèchement précoce suite aux attaques des *Fusariums*. Une coloration rose clair ou saumon peut apparaître à la base ou tout au long des épillets infestés suite à une sporulation abondante du champignon (**Figure 10**). L'attaque sur le col et le rachis de l'épi donne une coloration brune violacée (**CARVER, 2009**).



**Figure 10 : Fusarioses sur épis (Anonyme 02, 2013).**

**C- Sur grains**

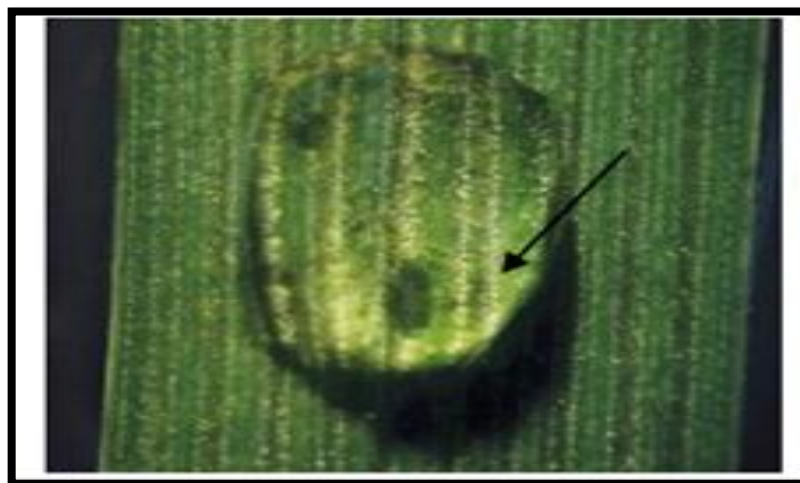
selon l'attaque, les grains peuvent être peu échaudés (attaque tardive), très échaudés, voire avortés (forte attaque début floraison) ; des grains peuvent être indirectement échaudés mais non contaminés (attaque au bas de l'épi) (**figure 11**). Les grains directement contaminés sont échaudés et d'aspect duveteux qui sont blancs, roses, en parties brunâtres dans le cas de l'attaque par les espèces du groupe *Fusarium roseum* ; et blancs ou, souvent, noirâtres avec germes noirs et augmentation de la moucheture (*M. nivale*) (**CLAVEL, 2006**).



**Figure 11: Grains de blé fusariés (AGRIOS, 2005).**

#### **D- Sur feuilles**

en fin montaison, on peut observer des tâches ovales, verdâtres (**figure 12**), devenant ensuite marron, puis se desséchant souvent au bord de la feuille ; en attaque grave, les taches se rejoignent induisant la déchirure de la feuille dans le sens de la longueur (**CLAVEL, 2006**).



**Figure 12 : Feuille de blé présentant un symptôme typique d'une attaque par *Microdochium nivale* (MASCHER *et al.*, 2008).**

## 1-5 Infection et le cycle de la maladie

Pendant l'hiver le pathogène subit une période de dormance sur les résidus infectés ou il produit des spores asexuées qui seront entrainés à long distance à l'aide des vents et des pluies (SCHMALE et BERGSTROM, 2003).

En été, lorsque la plante accomplit sa période végétative et entame sa reproductive (épiage, floraison), l'infection se produit lorsque l'arrivée des ascospores et de macroconidies sur l'épi coïncide avec des périodes de forte humidité. Si les spores atteignent les inflorescences à l'émergence des étamines, ils succèdent à pénétrer les glumes à travers les stomates et germer, puis coloniser l'épillet, et contaminer tout l'épi ce qui précède la chlorose des grains (XU et BERRIE, 2005).

Les inflorescences atteintes par l'agent pathogène produisent des grains infectés d'apparence flétris ou ridés. Les grains infectés qui apparaissent sains, vont être utilisés ultérieurement comme semence et deviendront une nouvelle source d'inoculum (SCHMALE et BERGSTROM, 2003) (Figure 13).

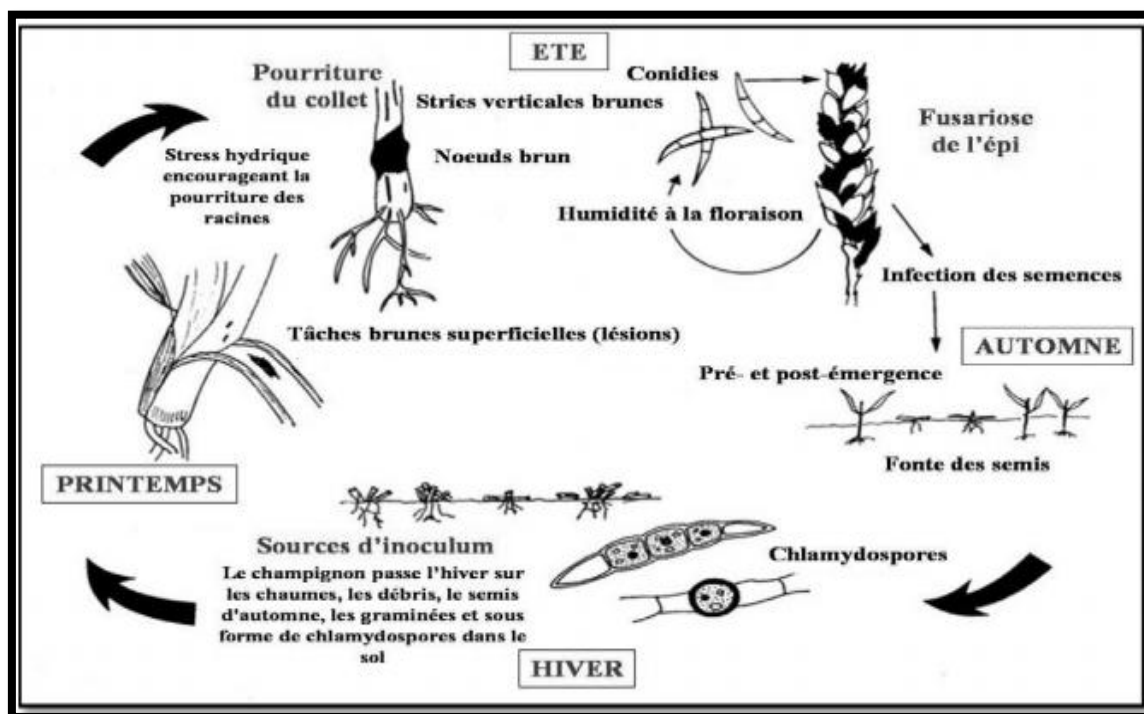


Figure 13 : Cycle biologique de *Fusarium* sur céréales (PARRY, 1995).

## 1-6 Conditions favorables au développement de la maladie

La sévérité de la fusariose est conditionnée par trois facteurs indépendants des champignons: les facteurs climatiques, les facteurs agronomiques et les facteurs physiologiques de la plante hôte (ALVAREZ *et al.*, 2009).

### A- Facteurs climatiques

Les facteurs climatiques, en particulier l'humidité et la température, jouent un rôle primordial puisqu'ils vont conditionner la germination et l'infection du champignon. Chaque espèce responsable de la fusariose a un optimum de température et d'humidité différents. Des individus de la même espèce mais ayant des origines géographiques différentes vont également avoir des optima différents, en référence avec le climat de leur région d'origine (XU et NICHOLSON, 2009).

### B- Facteurs agronomiques

Ils jouent un rôle principalement dans la conservation de l'inoculum primaire. Par exemple, un précédent cultural sensible à la fusariose (maïs, blé, orge), c'est-à-dire potentiellement infecté lors de son cycle, est une source potentielle d'inoculum pour la culture suivante via ses résidus. Egalement, un travail du sol augmenterait la dégradation des résidus en favorisant l'activité microbienne et donc limiterait la colonisation des résidus par *F. graminearum* (PEREYRA *et al.*, 2004). Enfin, les grandes surfaces de cultures sensibles à la fusariose sont propices au développement de celle-ci par la multiplication des sources d'inoculum (MC MULLEN *et al.*, 1997).

### C- Facteurs physiologiques

Les facteurs physiologiques de la plante hôte sont nombreux et influencent plus ou moins le développement de la fusariose. L'intensité de la maladie dépend non seulement de la quantité d'inoculum initial et de la virulence des souches pathogènes, mais aussi des caractéristiques physiologiques de la plante (taille, densité d'épillets...), son état de stress, son stade de développement, la date et la durée de la floraison et le niveau de résistance de la variété (CHAMPEIL *et al.*, AUDENAERT *et al.*, 2009).

*Etude*  
*expérimentale*

## II. Matériel et méthodes :

Cette étude s'inscrit dans le cadre des prospections des toxines fongiques par l'études de leur effet contre certain bactéries pathogènes. Ainsi, on vise à minimiser leur toxicité en utilisant des mécanismes biologiques. Ce travail a été initié et réalisé dans le laboratoire de la nature et de la vie de l'université Elchahid Hamma Lakhder Eloued.

### II. 1. Matériel

#### II. 1.2. Matériel fongique

##### II.1.2.1.Agent pathogène

Le matériel fongique utilisé est composé d'une collection de 02 isolats obtenues par isolement à partir des tiges de deux plantes (tomate et fève ) ayant montré les symptômes typiques de la fusariose (**Tableau 05**). Ces symptômes se manifestent sur épi par une coloration allant du rose à l'orange due à la présence d'une masse de spores, et à la présence de nécroses sur le collet avec un brunissement de la partie supérieure des racines.

**Tableau 05 : Origines des isolats de l'agent pathogène**

Isolat	Origine	Variété	Organe d'isolement
01	Wilaya d'Eloued (Djamaa)	Fève	Le tige
02	Wilaya d'Eloued (Magren)	Tomate	Le tige



**Figure 14 : plante montrant les symptômes de fusariose (A-Fève , B- Tomate) .**

**III. 2. Méthodes****III. 2.1. Isolement et identification morphologique des isolats fongiques associés à la fusariose****2.1.1. Isolement**

Les échantillons qui présentent les symptômes de la maladie sont découpés en petits segments (5 à 10 mm de longueur), puis rincage à l'eau du robinet (10 min) ,ensuite mis en ethanol (1min) ,puis désinfectés dans l'hypochlorite de sodium pendant 5 mn, qui sont rincés dans 3 bains successifs d'eau distillée stérile pendant 5 mn chacun, puis séchés entre dans du papier whatman,Après le découpage longitudinalement, Les fragments sont déposés dans des boites de Pétri contenant du milieu PDA ,à raison de 5 fragments par boites. Les cultures sont incubées à la température ambiante du laboratoire (37°C). Après 4 à 5 jours, à partir des colonies fongiques développées des petits fragments fongiques sont prélevés et transférés dans de nouvelles boites de Pétri contenant le milieu de culture PDA pour la purification et la caractérisation **(DAVET , 1997).**

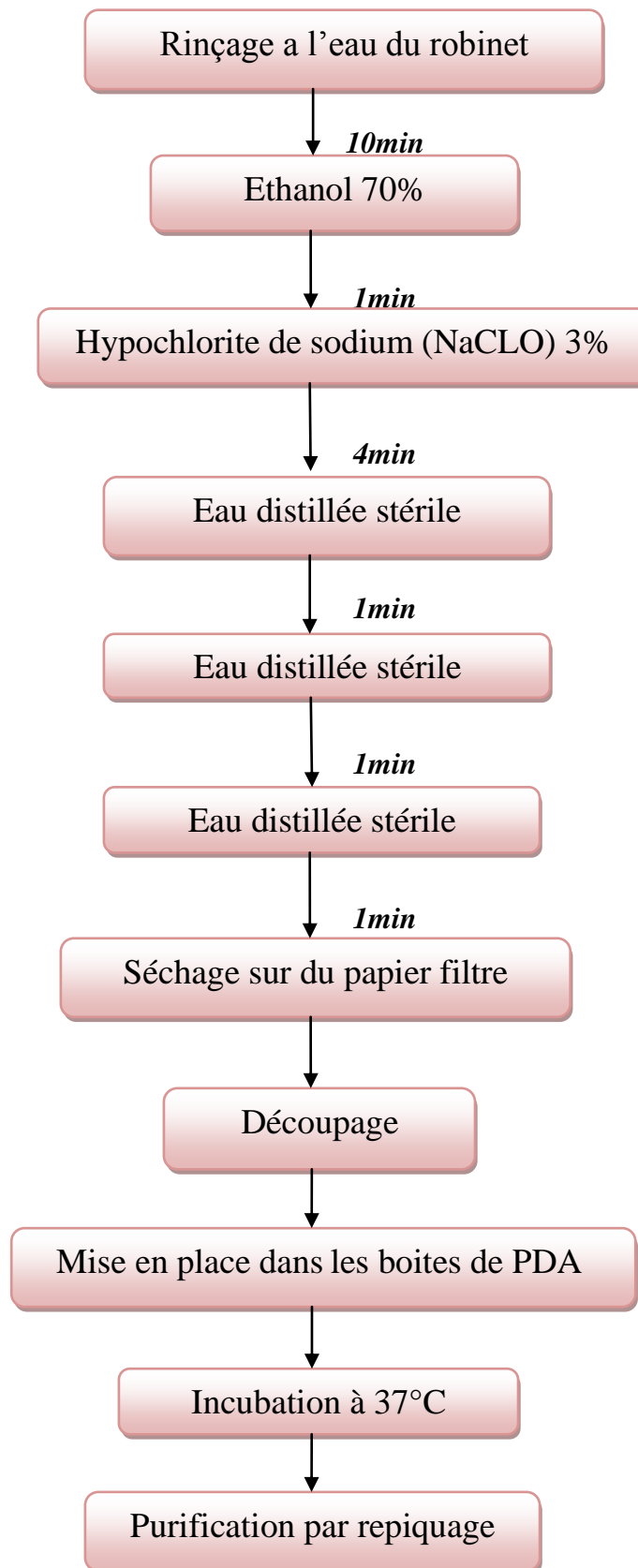


Figure 15 : Stérilisation de surface et isolement des champignons endophytes (PIMENTEL *et al.*, 2006; YOU *et al.*, 2009).

### 2.1.2. Identification

#### A. Etude macroscopique

Pour l'identification des champignons, on s'est basé sur leurs caractéristiques culturelles et la morphologie des fructifications et des spores; pour cela on a utilisé les clés d'identification (**PITT et HOCKING, 1985; BOTTON *et al.*, 1990; CHAMPION, 1997**).

Les champignons ont été mis à croître sur quatre milieux, Potato Dextrose Agar (PDA) et Dichloran Rose Bengal Chlorotétracycline (DRPC) et Spezieller Nährstoffärmer Agar (SNA) et Gélose glucosée à l'oxytétracycline (OGA) à 37°C pendant cinq jours. Après quoi, les caractéristiques suivantes ont été observées :

- ✓ Le diamètre des colonies qui a été mesuré sur le fond de la boîte .
- ✓ La texture du thalle (velouté, laineux poudreux, etc.).
- ✓ La détermination de la couleur de la colonie, du revers de la culture ainsi que celle du milieu à la lumière du jour .
- ✓ La vitesse de croissance .
- ✓ L'exsudat (gouttelettes transpirées par le mycélium aérien).

#### B. Etude microscopique :

Les champignons ont été aussi examinés au microscope afin de déterminer le mécanisme de production de spore ainsi que les caractéristiques des spores, en préparant des frottis humides, où les échantillons ont été prélevés aussi bien des bordures des colonies où les structures fertiles sont jeunes et le nombre de spores est peu, et du centre des colonies pour prélever les structures renfermant des spores et où les spores sont beaucoup plus matures. (**ZERROUG. A,2011**)

### II.2.2. Purification des isolats

Après isolement, plusieurs repiquages des souches de moisissures ont été effectuées sur milieux de cultures cités auparavant dans les mêmes conditions d'incubation, jusqu'à l'obtention de souches pures. Le choix des souches de moisissures à prélever a été réalisé à l'œil nu, en tenant compte de la ressemblance des thalles.

Des observations macroscopiques et microscopiques quotidiennes ont été effectuées dès l'apparition des mycéliums sur le milieu de culture (BOTTON *et al.*, 1990; DAVET et ROUXEL, 1997).

### III.2.3. Conservation des isolats

Après purification et identification, les souches sont conservées au froid à 4°C dans des tubes inclinés contenant le milieu PDA (ZERROUG, 2011)

#### III.3.1 Dépistage de l'activité antimicrobienne

Tous les champignons endophytes isolés ont été dépistés pour voir leur activité antimicrobienne. Pour cela été utilisées méthode double culture de diffusion sur gélose, et la double culture.

Nos champignons ont été testés contre une bactérie à gram négatif *Escherichia coli*, une à gram positif *listeria sp.*, une à gram négatif *klebsiella sp.*, et une levure *Candida albicans*.

**Tableau 06 : Tableau montrant les souches tests (les bactéries pathogènes et la levure ).**

Nom de souche et Code référence	Abréviation
<i>Candida albicans</i> IPA 200	M3
<i>listeria innocua</i> CLIP 74915	Lis.inno
<i>klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603	K.p
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8737	E. coli

### III.3.2.Double culture de diffusion sur gélose

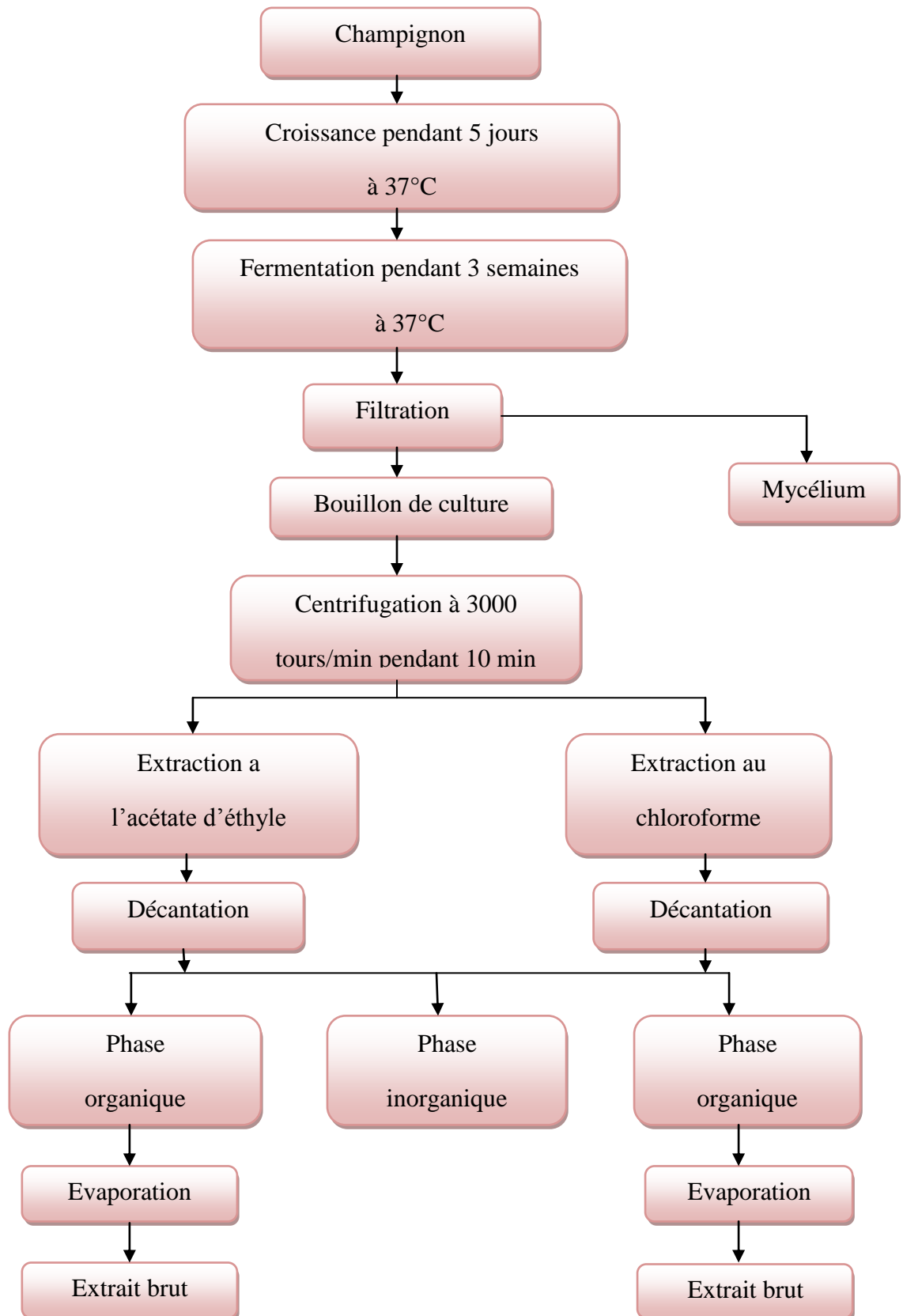
Cette technique a été décrite par (DEVARAJU et SATISH, 2011), à partir d'une culture de cinq jours sur du PDA, des blocs de 6 mm de diamètre sont coupés stérilement, pour être placés sur des boîtes contenant de la gélose Muller Hentlin et de Sabouraud déjà inoculé avec 100 µl de bactéries et de levure pathogène. Après dix minutes passés à une température ambiante, les boîtes ont été mises à incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et à 37°C pendant 48 heures pour la levure.

L'expérience a été répétée trois fois, et les zones d'inhibition autour des blocs de champignons indiquant l'activité antimicrobienne ont été mesurées et enregistrées. (ZERROUG, 2011).

### III.3.3.Fermentation et extraction

Les champignons ainsi ayant un résultat positif au dépistage et identifiés, ont été mis à croître sur du PDA à 37°C pendant cinq jours, deux à trois pièces (0.5 x 0.5 cm) de chaque champignon ont été inoculées dans des erlenmeyers de 500 ml contenant 300 ml de PDB (potato dextrose broth) et répétée deux fois (XIAOLING *et al.*, 2010), ils seront après incubés à 37°C pendant trois semaines avec une agitation périodique à 150 tours/minute, après ça le contenu est filtré à travers un papier filtre pour séparer le mycélium du bouillon de culture, ce dernier est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min, et le surnageant a été récupéré (BARIK *et al.*, 2010).

L'extraction a été faite par deux solvants organiques, l'acétate d'éthyle et le chloroforme; à chaque filtrat on rajoute un volume égal de solvant et on le met sous agitation pendant deux heures, la solution est ensuite mise au repos dans des ampoules à décompté pour séparer les deux phases, et la phase organique a été récupérée pour être concentrée sous pression par évaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor du type BÜCHI) à 37°C (MOHANTA *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2009).



**Figure 16: Fermentation et extraction des champignons endophytes avec l'acétate d'éthyle et le chloroforme (Barik et al., 2010; Xiaoling et al., 2010).**

### III.3.4. Activité antimicrobienne

#### 1-Préparation des microorganismes test

Les bactéries pathogènes et la levure ont été mises à croître dans un bouillon nutritif (NB) pendant 24 heures à 37°C (CHAREPRASERT *et al.*, 2006).

Après une croissance d'une dizaine de jours sur du PDA, la surface des champignons phytopathogènes chargés de spores a été raclée à l'aide d'une tige de verre stérile en forme de L en présence de 5 ml d'eau distillée stérile (MUKHTAR *et al.*, 2008).

#### 2-Méthode de diffusion sur disques

Afin de déterminer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus par l'extraction à l'acétate d'éthyle et le chloroforme, la méthode de diffusion sur disques a été utilisée (HAZALIN *et al.*, 2009). Les boîtes contenant de Muller Hinten et du Sabouraud ont été inoculées avec 100 µl des suspensions bactériennes et de levure respectivement (MOHANTA *et al.*, 2008).

Chaque extrait fongique a été dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) de façon à obtenir une concentration de 1mg/ml, 10 µl de chaque extrait ont été déposés à l'aide d'une pipette sur les disques stériles (6 mm de diamètre) placés à la surface des géloses préalablement inoculés avec les bactéries pathogènes et de levure, le DMSO a aussi été utilisé en tant que contrôle négatif (HAZALIN *et al.*, 2009).

Les boîtes ainsi terminées ont été mises pendant 2 heures à 4°C afin que les métabolites puissent diffuser ensuite elles ont été mises à incuber à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, 37°C pendant 48 heures pour la levure. (YAMAÇ et BILGILI, 2006).

### 3- Réductions de la toxicité des souches fongiques isolées

Deux bactéries lactiques, isolées à partir de lait de chamelle, sont testées pour leur pouvoir antifongique suivant la méthode de diffusion par des disques, décrite par **TADESSE et al., (2004)**.

Les souches lactiques utilisées lors de la présente étude sont:

- ✓ Souche 01: *Lactococcus lactis subsp. lactis*
- ✓ Souches 02: *Streptococcus thermophilus*

Elle consiste à déposer des disques vierges imprégnés des surnageant obtenu après centrifugation de bouillon à 4000 tours / min pendant 15 min, à la surface des boites de Pétri (Sabouraud) préalablement inoculées par la souche cible. La boite ainsi préparée est incubée à 37°C pendant 72 heures. L'inhibition se manifeste par la présence de zones claires autour d'un trouble formé par la croissance de souche cible.

Le diamètre de la zone d'inhibition est calculé à partir des bordures de la zone comprenant le diamètre du disque (6mm). L'inhibition est considérée positive lorsque le diamètre de la zone est supérieur à 1mm (**Allouche et al., 2010**).

*Partie III :*

*Résultat et*

*discussion*

### III. Résultats et Discussion

En dépit des pertes économiques qu'ils entraînent, le contrôle de ces pathogènes reste toujours limité à des mesures prophylactiques. La désinfection du sol n'est jamais complète en raison d'une part, de la difficulté de sa réalisation (**BENHAMOU *et al.*, 1997**).

L'isolement de l'agent pathogène « *Fusarium* » a été réalisée à partir de deux plantes infectés différents, prélevés à partir de différentes régions en l'occurrence : Wilaya d'Eloued (Djamaa) , Wilaya d'Eloued (Magren).

Les cultures réalisées à partir des différents échantillons à savoir: tiges des tomates et tiges des Fèves , ont abouti à divers aspects, textures et couleurs de colonies.

#### II. 1. Pré-identification morphologique de l'isolat fongique








##### 1-Etude macroscopique

Les caractères macroscopiques et microscopiques de l'isolat fongique sont étudiés sur milieu PDA et DRBC, le plus communément utilisé à cet effet (**BOTTON, 1990**).

Quant à l'étude microscopique, elle porte sur l'observation des structures caractéristiques d'isolat (conidiophores, conidies, mycélium, etc.). Ces examens ont permis d'identifier l'isolat sélectionné selon les caractères morphologiques. (**NELSON *et al.*, 1983**).

Sur milieu PDA et DRBC, l'isolat est caractérisé par une croissance rapide. Le mycélium aérien (recto) est abondant, ras, poudreux de pigmentation blanchâtre homogène. Le mycélium de substrat (verso) est incolore (**BOUCHAIB et FARES, 2017**).

Tableau 07 : Différentes caractères macroscopique des isolats fongiques.

Souche	Couleur / face	Couleur/ revers	Caractère macroscopique
Souche 01 (tomate)			<b>Recto</b> :colonie duveteuse à poudreuse, d'abord blanche, puis jaune, puis vert-jaune <b>Verso</b> : brun colonie à croissance lente
Souche 02 (tomate)			<b>Recto</b> :colonie duveteuse à poudreuse, d'abord blanche, puis jaune, puis vert-jaune <b>Verso</b> : brun colonie à croissance rapide
Souche 03 (fève)			<b>Recto</b> :colonie duveteuse à poudreuse, d'abord blanche, puis jaune, puis vert-jaune <b>Verso</b> : brun colonie à croissance rapide
Souche 04 (fève)			Croissance rapide Texture laineuse couleur blanc <b>Verso</b> : incolore

Sur la base des caractéristiques du *Fusarium* que nous recherchons, (quatre isolats) ont été sélectionnés et purifiés. Les isolats obtenus ont été identifiés selon les méthodes d'identifications classiques macroscopiques et microscopiques.

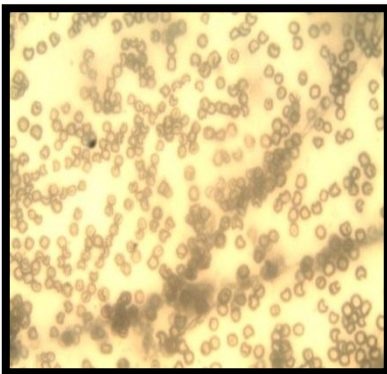

En effet, cette étude a montré que les colonies présentent deux aspects différents à savoir, colonie aplatie et laineuse. Les couleurs, aussi, étaient différentes variant entre le blanc, le jaune et le vert-jaune.






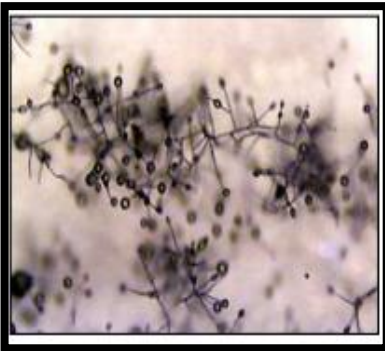
L'étude de (CHERMETTE et BUSSIERAS, 1993) a montré que, sur milieu gélosé, les *Fusarium* forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur variable (blanche, crème, jaune, rose, rouge, violette ou lilas) selon les espèces. Le revers peut être de couleur crème, rouge à pourpre, lilas ou violet.

**2-Etude microscopique**

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des quatre isolats pathogènes sélectionnés (conidiophores, conidies, mycélium etc...). Les différents aspects microscopiques des isolats en question, sont récapitulés dans le tableau 09 (GHORRI, 2015).

**Tableau 08 : Différentes caractères microscopique des isolats fongique.**

Les souche	Aspect microscopique	Référence	Préidentification
Souche 01			<i>F. poae</i>

Souche 02			<i>F. culmorum</i>
Souche 03			<i>F. sporotrichioides</i>
Souche 04			<i>F. subglutinans</i>

l'étude microscopique effectuée sur les isolats obtenus, a montré que certains d'entre eux possèdent, des macroconidies fusiformes pluriseptées (3 à 7 septums), peu ou pas courbées et des chlamydospores terminales ou intercalaires. Tandis que les autres possèdent des microconidies ovoïdes pluriseptées et sont dépourvus de chlamydospores, Néanmoins, tous les isolats disposent d'un filament septé. Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (GHORRI, 2015). En effet, le nom de *Fusarium* vient du latin « fusus » car les spores de ces moisissures sont en forme de fuseau (TABUC, 2007).

## II. 2. Dépistage de l'activité antimicrobienne

Après l'isolement et la purification, les isolats fongiques ont été dépistés sur leur pouvoir antimicrobien en utilisant les techniques de la double culture de diffusion sur gélose et celle de la double culture.

Les zones d'inhibitions autour des blocs fongiques ont été mesurées après 24 heures d'incubation, et les résultats de celles-ci figurent dans **le tableau 10**.

Pour les souches 01 et 02, des endophytes isolés ont démontré aucune activité contre *Escherichia coli*, *listeria innocua*, *Candida albicans*, et ont une activité contre *klebsiella pneumoniae*. Par contre les souches 03 et 04 ont démontré aucune activité sur toutes les bactéries pathogènes et la levure.

**Tableau 09 : L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par les isolats fongiques.**

Les bactéries pathogènes et la levure	Zone d'inhibition (mm)			
	La souche 01	La souche 02	La souche 03	La souche 04
<i>Escherichia coli</i>	/	/	/	/
<i>listeria innocua</i>	/	/	/	/
<i>Candida albicans</i>	/	/	/	/
<i>klebsiella pneumoniae</i>	15	8	/	/

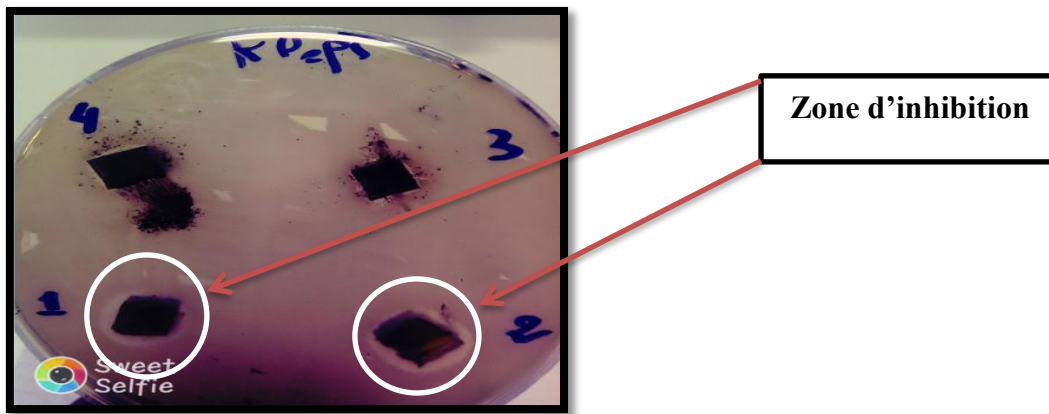


Figure 17 : L'inhibition de la croissance de bactérie *klebsiella pneumoniae*.

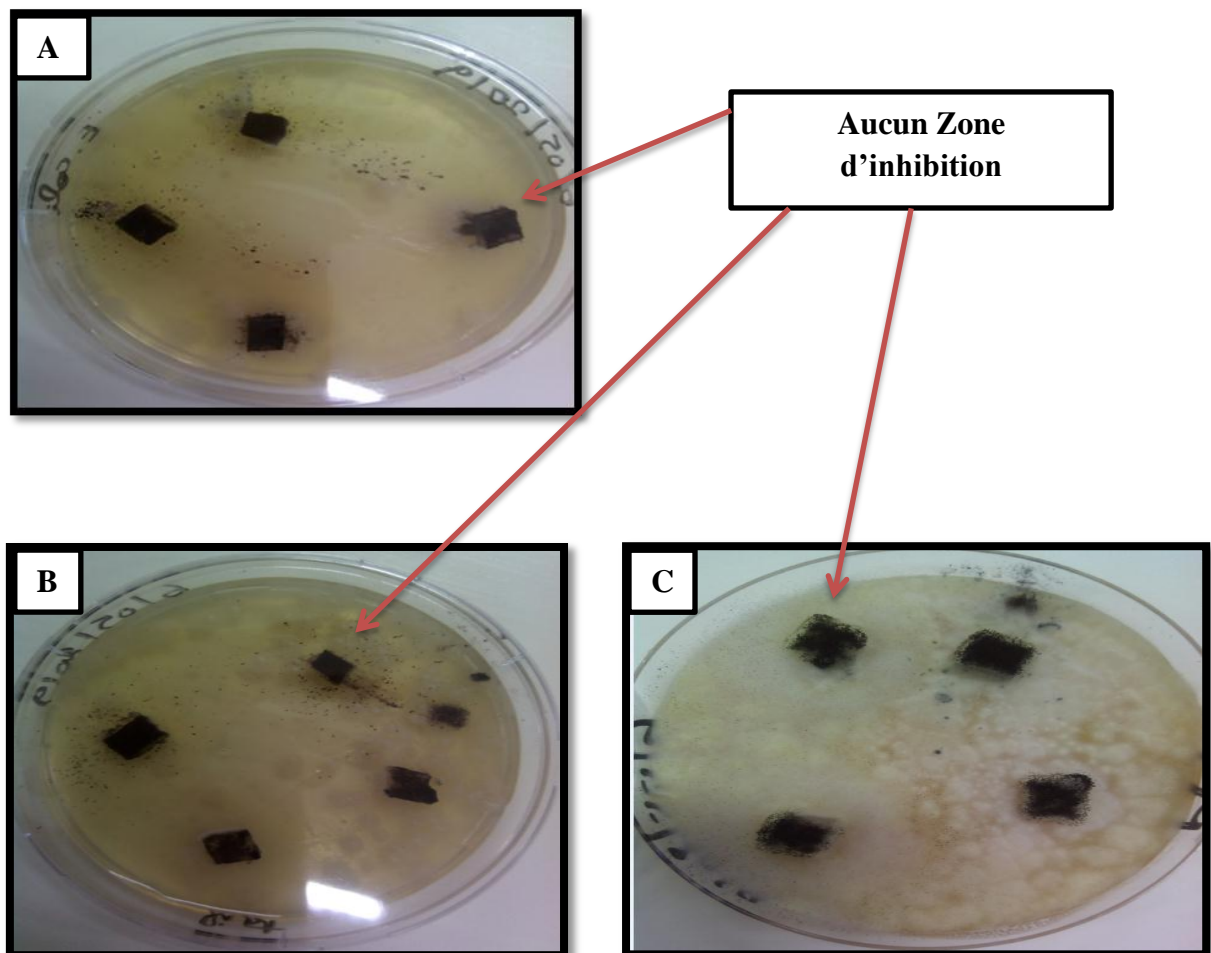


Figure 18: L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par les isolats fongiques A- *Escherichia coli*, B- *Listeria sp*, C- *Candida albicans*.

Ces résultats concordent avec ceux obtenus antérieurement par (DEVARAJU et SATISCH 2011 ;JALGAONWALA *et al.*, 2010; MACIA-VICENTE *et al.*, 2008; NUANGMEK *et al.*, 2008; TING *et al.*,2009),selon lesquels les endophytes peuvent avoir une activité antimicrobienne due probablement à la production de composés antimicrobiens, qui sont capables d'inhiber un large spectre de pathogènes.

**SELON (ZERROUG,2011)** 50% des endophytes isolés ont démontré une activité contre *Escherichia coli*, *Bacillus sp.* et *Candida albicans*, et 60% ont une activité contre *Fusarium oxysporium f. sp. albedinis* et *Phytophthora infestans*..

La contamination des produits alimentaires par les mycotoxines se produit lorsqu'un ensemble de conditions environnementales au champ, ainsi que des procédés mal maîtrisés de récolte, de stockage et de transformation sont réunis (FAO, 2004).

D'une façon générale, les mycotoxines pénètrent dans le corps par la consommation d'aliments contaminés. L'exposition aux mycotoxines peut être directe par la consommation des denrées alimentaires contaminées d'origine végétale appelée voie primaire, ou indirecte par le biais de produits alimentaires d'origine animale provenant d'animaux exposés appelée voie secondaire ou toxicité de relais. D'autres voies d'exposition peuvent avoir lieu tel que l'inhalation des spores transportés dans les poussières sous forme d'aérosols en agrégats liés à des particules minérales et organiques et le contact dermique des mycotoxines (MILLER, 1992; JARVIS & MILLER, 2005).

L'exposition aux mycotoxines se traduit par des pathologies et des perturbations métaboliques appelées mycotoxicoses. Ces maladies ne sont ni infectieuses ni contagieuses, leur allure pseudo-épidémique est due à l'ingestion des mêmes toxines par l'intermédiaire d'un aliment commun. L'ingestion des aliments contaminés par des mycotoxines engendre une intoxication à condition que leur concentration soit suffisamment élevée pour produire un effet biologique quelconque. Ces effets sont divers et extrêmement variables d'une mycotoxine à une autre ; on distingue les mycotoxines à effet mutagène, cancérigène, tératogène, immunodépressive, néphrotoxique, hépatotoxique et œstrogène (MILLER VINCENT, 2001; JOHANNING *et al.* , 2002).

Les manifestations cliniques peuvent être soit aiguës (hémorragies, diarrhée, convulsions, tremblements, vomissement, léthargie, œdème, voire la mort), observées après exposition à une seule dose élevée, soit chroniques apparaissant après ingestion de doses modérées de toxine pendant une longue durée et se traduisant par une diminution des performances de l'animal ou de l'Homme et parallèlement à une altération de nombreux organes vitaux dont les modifications conduisent en particulier, à l'apparition de cirrhose ou d'hépatite atrophique, infiltration graisseuse au foie, hyperplasie nodulaire, cancers etc.... (MILLER VINCENT, 2001; JOHANNING *et al.*, 2002).

Par exemple, La zéaralénone (ZEN) est une mycotoxine de structure œstrogénique non-stéroïde produite par des espèces du genre *Fusarium* tel que *Fusarium graminearum* et *Fusarium culmorum* (Bennett & Klich, 2003). La zéaralénone se lie compétitivement aux récepteurs d'œstrogène et elle est par conséquent connue par ses effets œstrogéniques incluant : l'infertilité, diminution du taux de la testostérone sérique et du nombre des spermatozoïdes, réduction du taux de grossesse et des changements des taux de progestérone (SHIER *et al.*, 2001). ZEN est également considérée cancérigène et classée par l'IARC dans le groupe 3 (IARC, 1999). Elle est aussi responsable de complications hépatotoxiques (CONKOVA *et al.*, 2001) et hématotoxiques (ABBES *et al.*, 2006). Plusieurs études ont montré que la ZEN présente des effets génotoxiques tels que l'induction des micronoyaux et les aberrations chromosomiques, des cassures des brins d'ADN et formation des adduits (ABBES *et al.*, 2006, 2007 )

Les trichothécènes sont un groupe de mycotoxines produites principalement par des espèces appartenant aux genres *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis* et *Trichoderma*. Elles provoquent principalement une nécrose et une hémorragie pendant les processus de régénération du sang dans la moelle osseuse et la rate et des changements des organes reproducteurs. Les signes de pathologie sont : la perte de poids, la perte d'appétit, les vomissements, la diarrhée, l'avortement et la mort. L'immunosuppression peut être très importante chez les animaux intoxiqués par les trichothécènes (ANON & CAST, 1989).

Les fumonisines sont synthétisées principalement par plusieurs espèces du genre *Fusarium* y compris *Fusarium verticillioides* et *Fusarium proliferatum* (CHEN *et al.*, 1992). Les fumonisines sont des cancérigènes probables et elles sont classées parmi le groupe 2B selon l'IARC et l'OMS (WHO-IARC, 1993). L'incidence du cancer oesophageal dans certains pays est liée à la contamination du maïs par les fumonisines (RHEEDER *et al.*, 1992

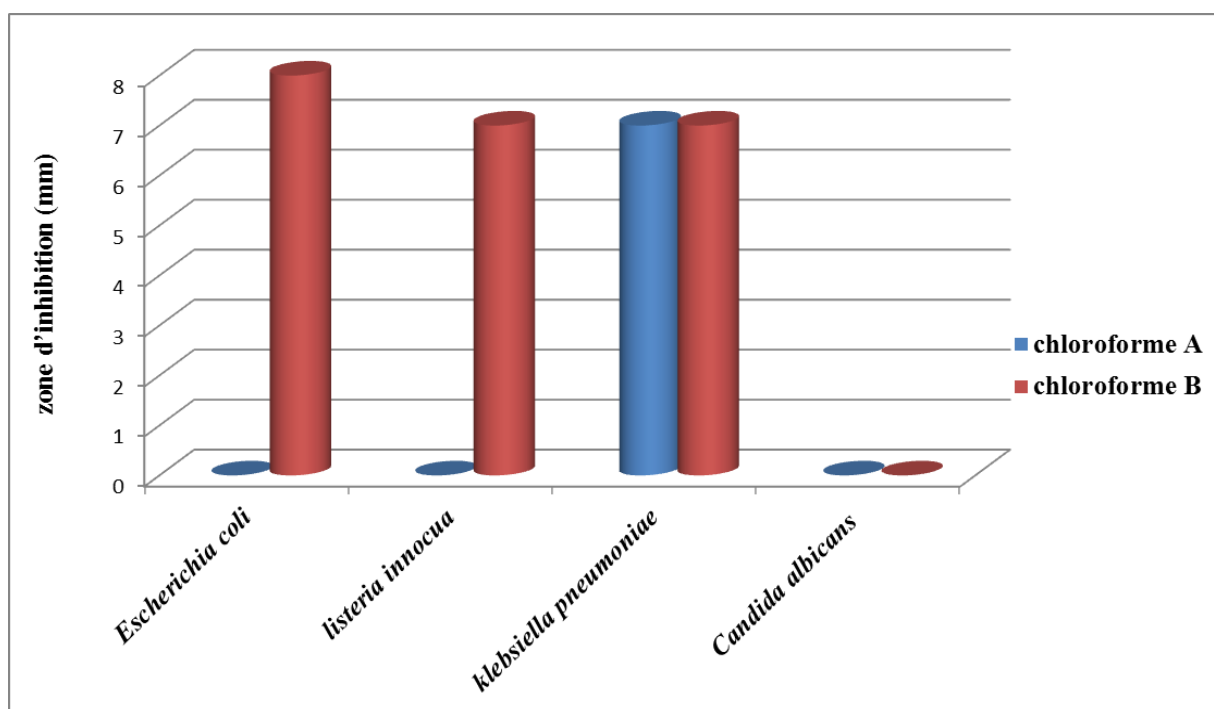
; CHU & LI, 1994) .Ces substances ont été prouvées responsables de la promotion du cancer du foie chez plusieurs espèces animales (MARASAS *et al.*, 1988b ; GELDERBLOM *et al.*, 1992).

## II. 3. Détermination de l'activité antimicrobienne

### II. 3.1. Méthode de diffusion sur disques

Après fermentation et extraction à l'aide de l'acétate d'éthyle et le chloroforme, les extraits des deux souches fongiques (A,B) ont été examinés pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disques ; les différents extraits ont montré une activité antimicrobienne plus ou moins grande, et où les zones d'inhibition allé de 0 à 10 mm pour les extraits d'acétate d'éthyle, et de 0 à 8 mm pour les extraits chloroformiques.

Tous les résultats obtenus par les extraits d'acétate d'éthyle et chloroforme de tous les champignons endophytes sont représentés dans les graphes des **figures 19 et 20** respectivement. Ainsi que sur des photos de quelques zones d'inhibitions représentées par la **figure 21** ( ZERROUG, 2011).



**Figure 19: Effet de chaque extrait fongique obtenu par le chloroforme sur les microorganismes pathogènes .**

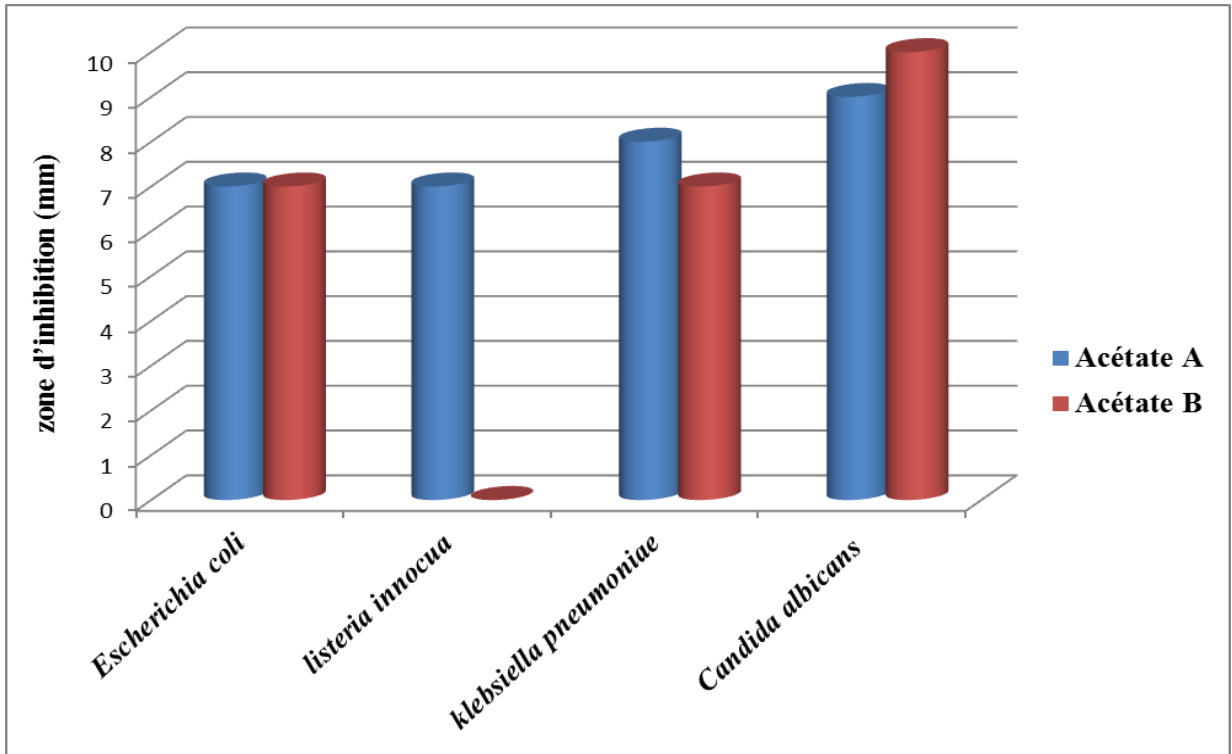


Figure 20: Effet de chaque extrait fongique obtenu par l'acétate d'éthyle sur les microorganismes pathogènes.

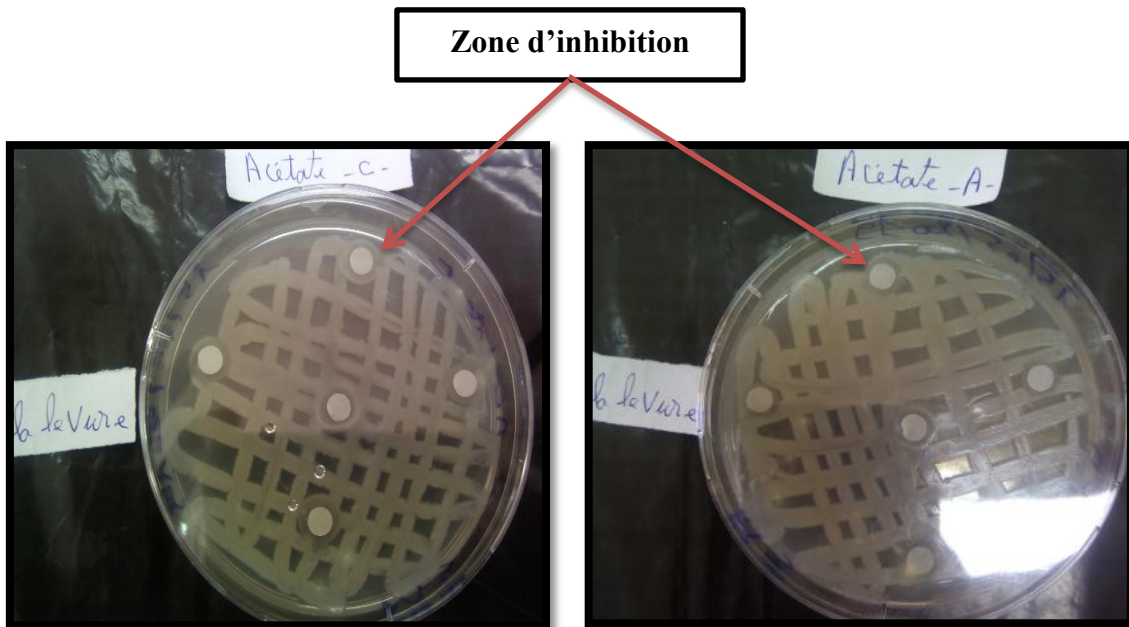
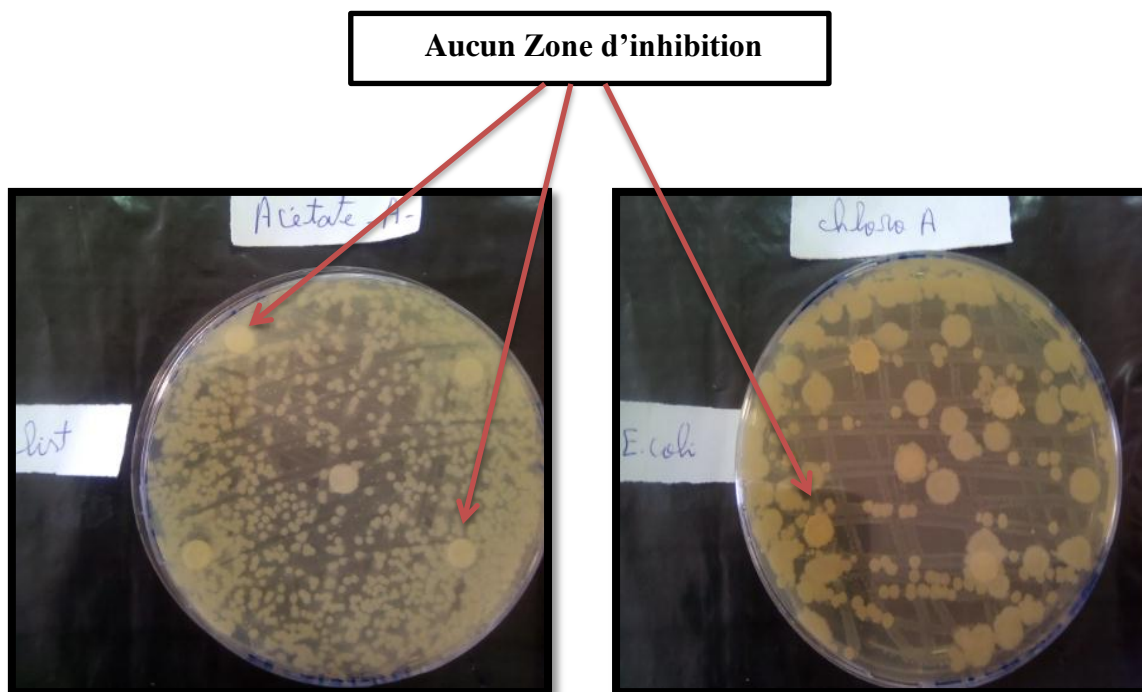


Figure 21 : Activité antibactérienne des trois souches fongiques par la technique des disques ( les zones d' inhibition ).



**Figure 22: Activité antibactérienne des trois souches fongiques par la technique des disques ( aucun zones d'inhibition ).**

le chloroforme et l'acétate éthyle sont deux solvants organiques souvent utilisés pour l'extraction des métabolites secondaires à effet antibactérien (ABDELAZIZ, 2006, PRAVEENA et PADMINI, 2011, PRABAVATHY et VALLI, 2012, MANILA *et al.*, 2014).

Après extraction, l'effet antibactérien des extraits organiques obtenus a été testé par la technique des disques. Cette technique a révélé que la majorité des extraits organiques présentent une activité antibactérienne sur, au moins, une des bactéries test, et que l'effet le plus considérable a été obtenu par les extraits d'acétate d'éthyle par apport du chloroforme.

Concernant les extraits chloroformiques, des zones d'inhibition considérables ont été observées chez les extraits de chloroforme A (souche A) avec des (07 mm sur *klebsiella pneumoniae*, et aucun des zones d'inhibition sur les autres bactéries. et concernant de chloroforme B (souche B) avec des diamètres (08 mm sur *Escherichia coli*, 07 mm sur *listeria innocua*, 07 mm sur *klebsiella pneumoniae*, et aucun des zones d'inhibition sur *Candida albicans*).

Les mêmes résultats ont été observés avec les extraits de l'acétate d'éthyle avec des zones ont été observée chez les extraits d'acétate d'éthyle (souche A) avec des diamètres (07 mm sur *Escherichia coli*, 07 mm sur *listeria innocua*, 08 mm sur *klebsilla*, 09 mm sur *Candida albicans*) .et d'acétate B (souche B) avec des diamètres (07 mm sur *Escherichia coli*, 07 mm sur *klebsiella pneumoniae*, 10 mm sur *Candida albicans*, et aucun des zones sur *listeria innocua* ).

Ces résultats ont montré que l'Acétate d'éthyle est le meilleur solvant pour l'extraction des **MSFB** ( Métabolites secondaires fongiques bruts) pour la dernière étape de notre étude.

Par contre les résultats de (MANSOUR et MAZZI, 2017).montrent que les extraits chloroformiques ont un pouvoir inhibiteur plus au moins important par rapport à ceux de l'Acétate d'éthyle. Le chloroforme est un solvant de polarité intermédiaire (REICHARDT .1969), cette donnée chimique nous permet de conclure que les trois souches du genre *Aspergillus* ne peuvent probablement pas produire que des molécules antibactériennes de polarité intermédiaire et d'autres de polarité élevée. Ces résultats ont montré que le chloroforme est le meilleur solvant pour l'extraction des **MSFB** pour la dernière étape de notre étude.

#### II. 4. Réduction de la toxicité de *Fusarium* par l'action des bactéries lactique

L'action inhibitrice des bactéries lactiques est déterminée par la méthode de la diffusion sur disques. Cette méthode a été réalisée pour la recherche de l'activité anti-*Fusarium*. Les **Figures 23, 24**, représentent une activité anti-*Fusarium*, on voit clairement qu'il y a une croissance au tour de deux stries des bactéries lactiques, et où les zones d'inhibition allé de 6,5 à 07 mm pour (*Lactococcus lactis subsp. Lactis*), et de 07 à 15 mm pour (*Streptococcus thermophilus*).

La méthode de la diffusion sur disques a été réalisée pour confirmer que les souches lactiques utilisées ont une activité anti-*Fusarium*.

Les résultats présentés sur les (**Figures 25, 26, 27** ), démontrent que les bactéries lactiques utilisées sont capables de produire des composés bioactifs après 72 h et inhiber la croissance du champignon.

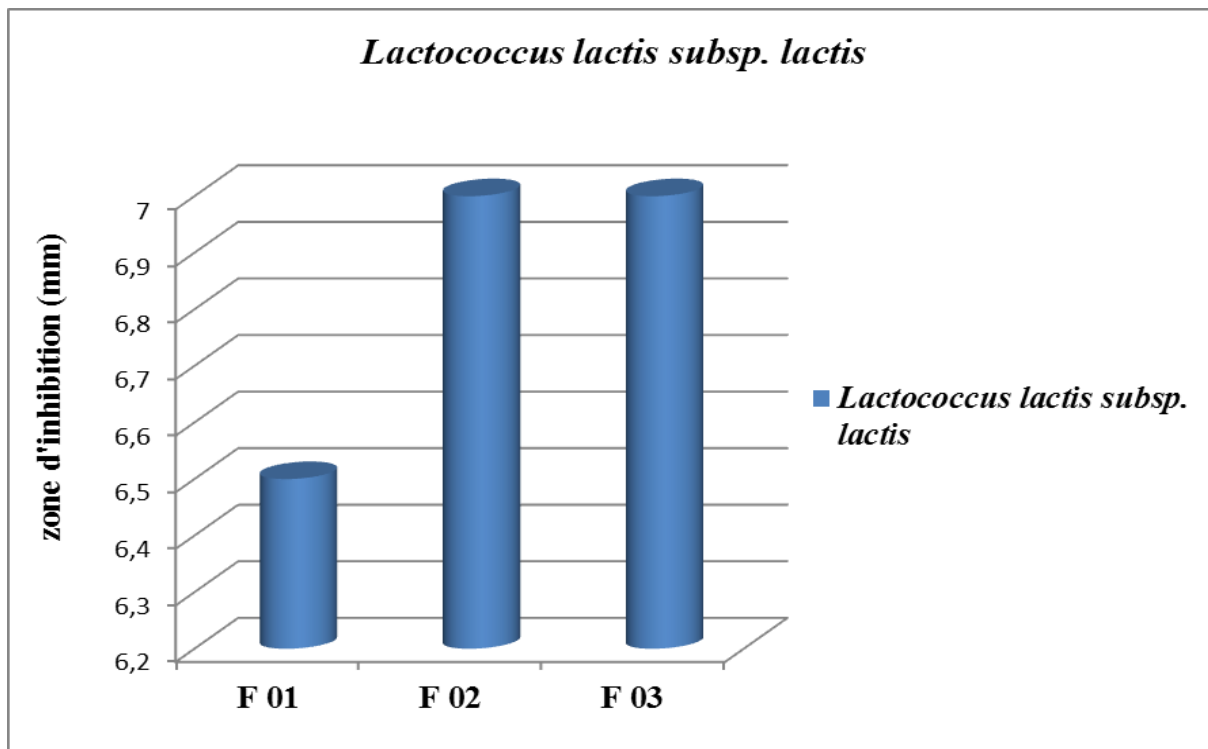


Figure 23: Représentation graphique de l'activité anti-*Fusarium* de la souche lactique (*Lactococcus lactis subsp. Lactis*).

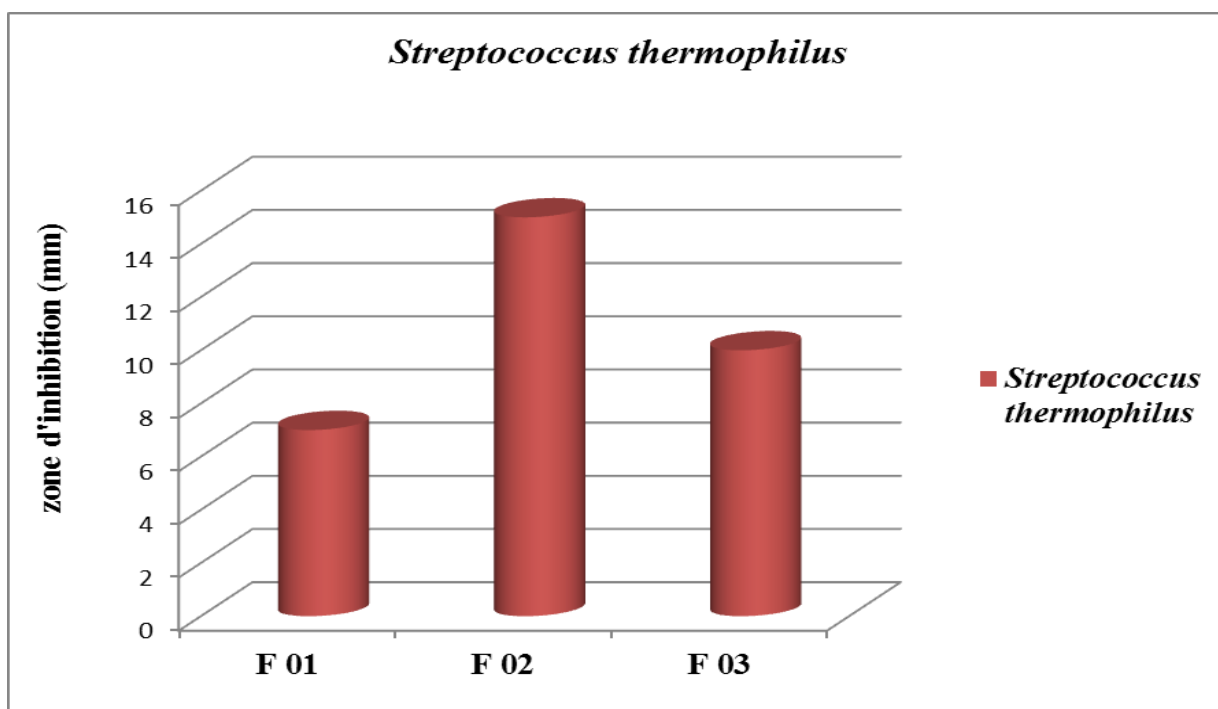
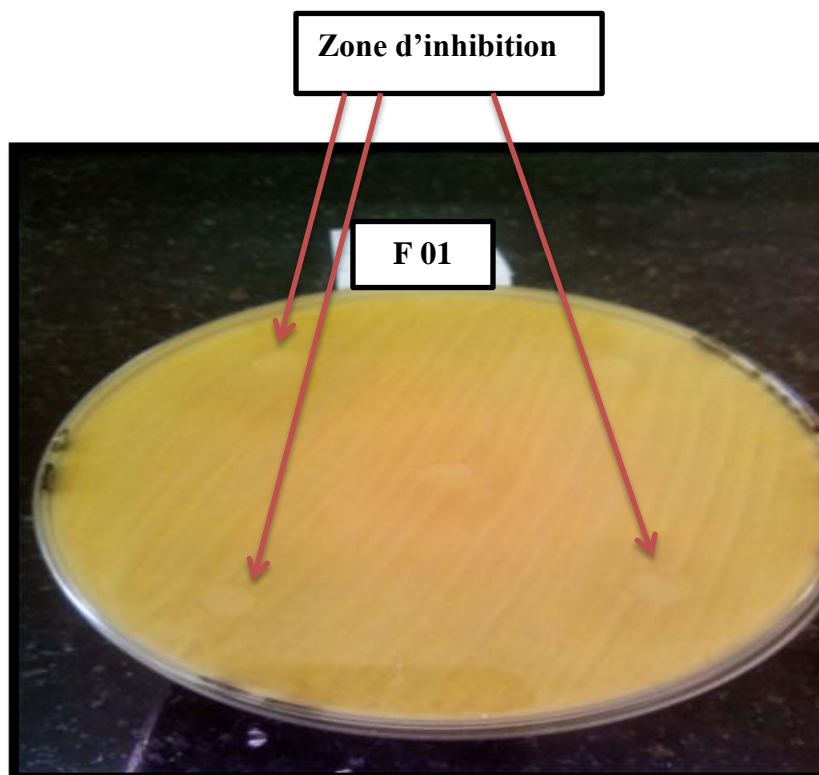


Figure 24: Représentation graphique de l'activité anti-*Fusarium* de la souche lactique (*Streptococcus thermophilus*).



Figure 25: Inhibition de la croissance du champignon par les bactéries lactiques (*Lactococcus lactis subsp. Lactis*) et mise en évidence de l'activité anti-*Fusarium* sur le milieu Sabouraud', après 72 h d'incubation.



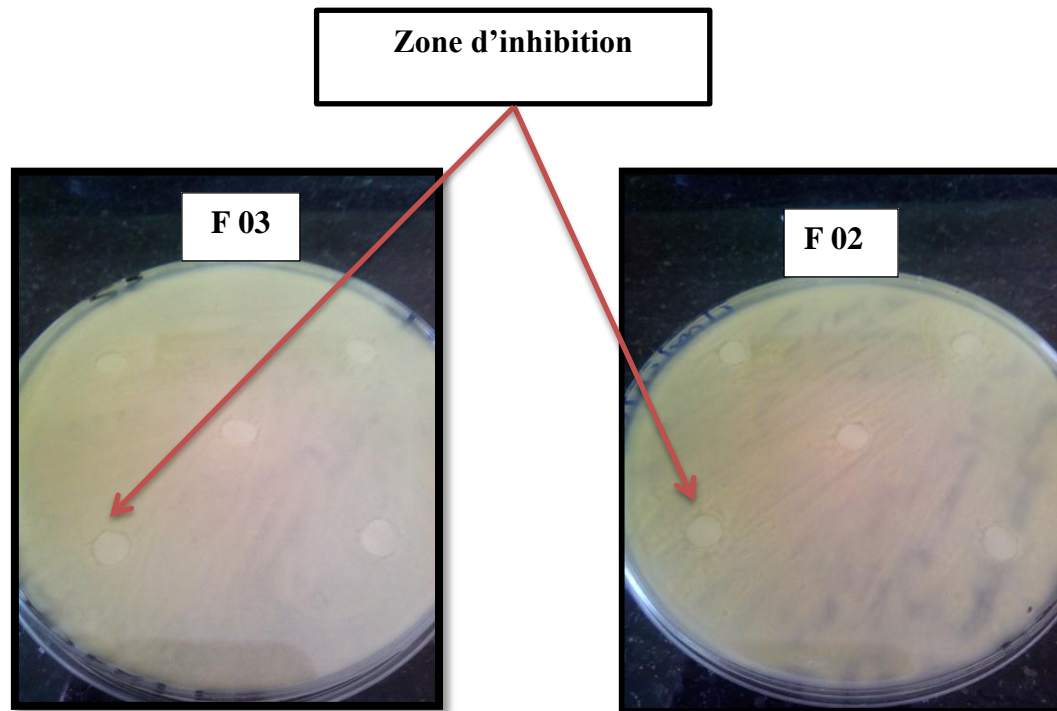


Figure 26: Apparition des zones de lyse sur milieu Sabouraud

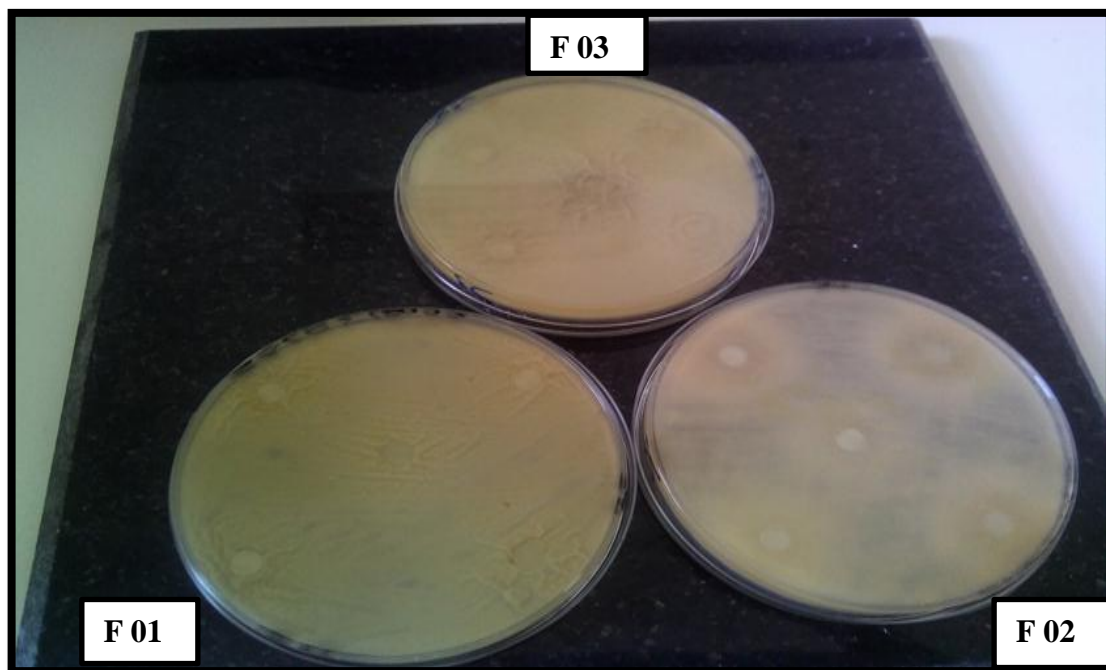


Figure 27: Inhibition de la croissance du champignon par les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*) et mise en évidence de l'activité anti-*Fusarium* sur le milieu Sabouraud', après 72 h d'incubation.

Durant les dernières années, des efforts considérables ont été dirigés pour étudier l'activité antifongique des bactéries lactiques, dans le but de diminuer la sporulation fongique sur les végétaux (**CROWLEY *et al.*, 2012 ; MAUCH *et al.*, 2010 ; VOULGARI *et al.*, 2010 ; GEREZ *et al.*, 2009 ; VALERIO *et al.*, 2009 ; RYAN *et al.*, 2008**).

Les enjeux de ce travail étaient d'explorer la capacité des souches lactiques à inhiber la croissance de *Fusarium sp.* Ces études sont essentielles pour une meilleure utilisation de ces souches lactiques comme agents de bioprotection.

L'activité antibactérienne des souches lactiques est largement décrite tandis que très peu d'études traitent de leur activité antifongique. Des bactéries lactiques démontrant une activité antifongique ont pourtant été isolées de plusieurs produits végétaux prêts à l'emploi tels que les tomates, les choux et les chicorés (**VAUGHAN *et al.*, 1994**).

Les bactéries lactiques présentant des activités antifongiques ont été également isolées d'autres systèmes biologiques tels que les ensilages (**MAGNUSSON & SCHNÜRER, 2001**), le lait cru et les saucissons (**SCHWENNINGER *et al.*, 2005**). Les bactéries lactiques sont depuis des décennies utilisées pour réaliser la fermentation des produits et assurer leur conservation, elles ont de ce fait acquis le statut **GRAS (GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE) (DALIE, 2010)**

Les résultats les plus probants sont obtenus lorsque la bactérie est inoculée dans le milieu de culture 48 heures avant l'ensemencement du champignon. **SELON DALIE, (2010)**, une activation importante de la production de toxines associée à une réduction de croissance fongique est observée.

L'observation microscopique des zones de confrontation du champignon avec les bactéries lactiques a montré l'apparition d'un mycélium stérile, qui veut dire qu'il y a une inhibition de la sporulation. Ces résultats sont confirmés par les travaux de : **LAREF et GUESSAS, 2013 ; MUHIALDIN et HASSAN, 2011 et STRÖM, 2005**).

L'activité antifongique en utilisant le surnageant stérile a été aussi observée sur les espèces *Aspergillus niger*, *Aspergillus tubingensis* et *Penicillium crustosum* par **NDAGANO (2012)**, et sur le genre *Weissella* par **VALERIO *et al.* (2009)**, qui ont aussi mesuré une forte activité inhibitrice.

Toutes les bactéries lactiques utilisées dans cette étude (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* et *Streptococcus thermophilus* ) ont montré une activité antifongique vis-à-vis des différentes souches fongiques utilisées. Ces résultats sont les mêmes que celles de **BIANCHINI (2010)** qui a travaillé sur l'effet des composés antifongiques produits par *Lactobacillus plantarum* sur la croissance d'*Aspergillus spp.*

**SELON LI. (2012) et DALIE et al . (2010)**, l'inhibition des champignons et des mycotoxines par les bactéries lactiques apparaît comme une stratégie promotrice pour le bio-contrôle des moisissures qui contaminent les aliments et les végétaux.

*conclusion*

## ***Conclusion***

Les champignons endophytes sont d'excellentes sources de nouveaux produits naturels bioactifs avec un potentiel d'exploitation dans une grande variété de domaines médicaux, agricoles et industriels, et que l'utilisation de cette vaste ressource de microorganismes vient de commencer récemment.

Le présent travail a été consacré dans la conception de la lutte biologique contre le champignon phytopathogène "le *Fusarium*". En effet, quatre champignons du genre *Fusarium*, ont été isolés à partir de tige de plantes infectées, prélevées à partir de différentes zones en l'occurrence: Wilaya d'Eloued (Djamaa; Magren).

L'identification du genre a été effectuée selon les caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques, D'après les résultats d'affiliation, les quatre souches pathogènes appartiennent à 3 espèces de *Fusarium* en l'occurrence; *F. poae*, *F. culmorum*, *F. sporotrichioides*, *F. subglutinans*.

Le test de diffusion sur disques a démontré que tous les extraits avaient une activité inhibitrice sur au minimum un ou plusieurs microorganismes pathogènes (Bactéries et levures) à savoir de zones d'inhibition autour de 10 mm.

Les extraits d'acétate d'éthyle avaient plus d'effet que les extraits chloroformiques, une différence qui s'explique par le fait que les deux solvants ont des polarités différentes et que celles des composants bioactifs ont été mieux extraites par l'acétate d'éthyle.

Les résultats de la méthode de diffusion sur disque de 02 souches de bactérie lactique (*Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Streptococcus thermophilus*), ont montré que les bactéries lactiques utilisées sécrètent des substances bioactives et qui ont un effet anti-*Fusarium*, vu qu'il y a eu une inhibition de la sporulation par les deux souches lactiques, avec une valeur de zone d'inhibition qui varie entre 6.5mm et 15mm.

Ce travail mérite d'être accompli par d'autres études visant à :

- ✓ Elargir l'échantillonnage en augmentant le nombre des variétés infectées par le *Fusarium*.
- ✓ Effectuer une identification plus profonde; moléculaire.
- ✓ Caractériser les mycotoxines produites par les souches isolées.

**Références**

**Bibliographiques**

## Références Bibliographiques

- ABBAS, H.K., SMEDA, R.J., DUKE, S.O., SHIER, W.T.,(1997).**Fumonisin-Plant interactions, *Bulletins of the Institute for Comprehensive Agricultural Sciences*, Kinki University, 5, p. 63-73.
- ABBES, S., BEN SALAH-ABBES, J., OUANES, Z., HOUAS, Z., OTHMAN, O., BACHA, H., ABDEL-WAHAB, M.A., OUESLATI, R. 2006.** Preventive role of phyllosilicate clay on the immunological and biochemical toxicity of zearalenone in Balb/c mice. *International Immunopharmacology* 6, 1251-1258.
- ABBES, S., OUANES, Z., BEN SALAH-ABBES, J., ABDEL-WAHAB, M., OUESLATI, R., BACHA, H. 2007.** Preventive role of aluminosilicate clay against induction of micronuclei and chromosome aberrations in bone-marrow cells of Balb/c mice treated with zearalenone. *Mutation Research* 631 , 85-92.
- ABDELAZIZ W. (2006).**Isolement des mycètes producteurs des substances antibactériennes à partir des sols sahsriens.Mémoire de Magistère En Microbiologie et Biochimie Appliquées .Université Mentouri.Constantine.
- AGRIOS, G.N. 2005.** Plant Pathology. Fifth edition, Elsevier Academic Press, San Diego, CA 962 p.
- ALLOUCHE F. N ., HELLAL A ., LARABA A. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne dessouches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature et Technologie,(3) :13- 20.*
- ALVAREZ CL, SOMMA S, MORETTI A, FERNANDEZ PINTO V, 2010.** Aggressiveness of *Fusarium graminearum* sensu stricto isolates in wheat kernels in Argentina. *Journal of Phytopathology* 158, 173–181.
- ANON, COUNCIL FOR AGRICULTURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY (CAST). 1989.** Task Force Report, 116, 37.
- AUDENAERT K, VAN BROECK R, BEKAERT B, DE WITTE F, HEREMANS B, MESSENS K, HÖFTE M, HAESAERT G, 2009.** *Fusarium* head blight (FHB) in Flanders: population diversity, inter-species associations and DON contamination in commercial winter wheat varieties. *European Journal of Plant Pathology* 125, 445–458.

- BALLOIS N., 2012.** Caractérisation de la diversité des espèces de *Fusarium* et de leur potentiel mycotoxinogène sur céréales françaises. Master Fage Biologie et Ecologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement. Spécialité. BIPE. 36p.
- BARIK B. P., TAYUNG K., JAGADEV P. N. AND DUTTA S. K.** Phylogenetic placement of an endophytic fungus *Fusarium oxysporum* isolated from *Acorus calamus* rhizomes with antimicrobial activity . *European Journal of Biological Sciences* 2010; **2**: 8-16.
- BENHAMOU N., CHET I. 1997.** Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, p. 2095–2099.
- BENNETT, J. W., KLICH, M. 2003.** Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16, 497-516.
- BIANCHINI, A. (2010).** Antifungal activity of lactic acid bacteria: Factors Affecting Production and Stability of Antifungal Compounds of *Lactobacillus plantarum*, and Effects of the Antifungal Compounds on Growth and Aflatoxin Production by *Aspergillus* spp. Thèse de doctorat, Université de Nebraska, Lincoln, U.S.A. 0.1007/s0028410121013512.
- BLACKWELL, M. (2011).** "The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species?" *American Journal of Botany* 98(3), p. 426-438.
- BOTTALICO, A.(1998)** *Fusarium* diseases of cereals: species complex and related mycotoxin profiles in Europe. *J Plant Pathol*, 80 (2), p. 85-103.
- BOTTON B. BRETON A., FEVRE M., GUY P.H., IARPENT J.P., SANGLIER J.J., VAYSSIER V. AND VEAU,P.** Moisissures utiles et nuisibles. Importance Industrielle. Masson 1990; pp. 20-191.
- BOUCHAIB A, FARES R , (2017).** Recherche de bactéries développant une activité antagoniste vis -à- vis des agents de la pourriture racinaire de blé dur. Mémoire de master..63p
- BROCHARD,G .,LE BACLE,C.(2009).** Les mycotoxines en milieu de travail. Documents pour le Médecin du travail N°119. INRS.
- BRYŁA, M., ROSZKO, M., SZYMCZYK, K., JĘDRZEJCZAK, R., OBIEDZIŃSKI, M.W., AND SĘKUL, J.(2013).** Fumonisin in plant-origin food and fodder – a review. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30, 1626–1640.

- CAHAGNIER, B. 2001.** Céréales et mycotoxines. Généralités, présences, dosage. Industrie des céréales 122 : 22-29.
- CARLILE, M. J., WATKINSON, S. C. ET GOODAY, G. (1994).** The fungi, Springer.
- CARLILE, M.J., WATKINSON, S.C., AND GOODAY, G.W. (2001).** The Fungi (Gulf Professional Publishing).
- CARVER, B.F. (2009)-** Wheat science and trade. Ed. Wiley-Blackwell. 6-160 p.
- CASTEGNARO M., PFOHL-LESZKOWICZ A.,(2002).** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc.
- CHAMPEIL, A., DORE, T., FOURBET, J.F. 2004.** Fusarium head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by Fusarium in wheat grains. Plant Science 166, 1389-1415.
- CLAVEL, A.J. (2006).** Diagnostic des accidents du blé dur . ARVALIS institut du végétal. Paris. 105p.
- CHAMPION R.** Identifier les champignons transmis par les semences. INRA edition 1997; p. 401.
- CHAREPRASERT S., PIAPUKIEW J., THIENHIRUM S., WHALLEY A. J. S. AND SIHANONTH P.** Endophytic fungi of teak leaves *Tectona grandis* L. and rain tree leaves *Samanea saman* Merr. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2006; **22**: 481-486.
- CHEN, J., MIROCHA, C.J., XIE, W., HOGGE, L.R., OLSON, S.C. 1992.** Production of the mycotoxin fumonisin B1 by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 847-852.
- CHERMETTE R., BUSSIERAS J.1993.** Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- CHU, F. S., LI, G. Y. 1994.** Simultaneous occurrence of fumonisin B1 and other mycotoxins in moldy corn collected from the People's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 847-852.

- CONKOVA, E., LACIAKOVA, A., PASTOROVA, B., SEIDEL, H., & KOVAC, G. 2001.** The effect of zearalenone on some enzymatic parameters in rabbits. *Toxicology Letters* 121, 145-149.
- CUMAGUN C.J.R., BOWDEN R.L., JURGENSON J.E., LESLIE J.F., MIEDANER T., (2004).** Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) toward wheat. *Phytopathology* 94, 520-526.
- CROWLEY, S., MAHONY, J. & SINDEREN, D. V. (2012).** Broad-spectrum antifungal-producing lactic acid bacteria and their application in fruit models. *Folia. Microbiol.*, DOI 10.1007/s1222310121020913.
- DALIE, D. K. D. (2010).** Biocontrôle des moisissures du genre *Fusarium* productrices de fumonisines par sélection de bactéries lactiques autochtones de maïs. Thèse de doctorat. Université Bordeaux I, France.
- DAVET P. 1996.** Vie microbienne du sol et production végétale. Paris.383.
- DEBOURGOGNE, A. (2013).** Typage moléculaire du complexe d'espèces *Fusarium solani* et détermination de son mécanisme de résistance au voriconazole. Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France.
- DECOCQ, G. (2011).** Le monde fongique. L'homme et son environnement UE 7. «Santé, Société, Humanité». p.1-20.
- DESJARDINS, A.E., AND PROCTOR, R.H. (2007).** Molecular biology of *Fusarium* mycotoxins. *International Journal of Food Microbiology* 119, 47–50.
- DEVARAJU R. AND SATISH S.** Endophytic mycoflora of *Mirabilis jalapa* L. and studies on antimicrobial activity of its endophytic *Fusarium* sp. *Asian Journal of Experimental Sciences* 2011; 2: 75-79.
- DOROTHEE S, 2013.** développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de doctorat.182p.
- EL HADRAMI I., BELLAJ M., IDRISSE A., J'AITI F., JAAFARI S. ET DAAYF F. (1998)** Biotechnologie végétales et amélioration du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.), pivot de l'agriculture oasienne marocaine. *Cahiers Agriculture*. 7 (6): 463-468.

**FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2004.** Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003. FAO Food and Nutrition paper, Vol. 81. FAO, Rome, Italy.

**-FERGUSON, B., DREISBACH, T., PARKS, C., FILIP, G. ETSCHMITT, C. (2003).** "Coarse-scale population structure of pathogenic *Armillaria* species in a mixed-conifer forest in the Blue Mountains of northeast Oregon." *Canadian Journal of Forest Research* 33(4), p.612-623.

**-GAMS W & NIRENBERG H.I.(1989).** A contribution to the genetic definition *Fusarium*. *Mycotaxon* 35:407-416.

**-GANGADEVI V. AND MUTHUMARY J.** Taxol, an anticancer drug produced by an endophytic fungus *Bartalinia robillardoides* Tassi, isolated from a medicinal plant, *Aegle marmelos* Correa ex Roxb. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2008; **24**: 717-724.

**-GARGOURI S., (2003).** Evaluation de l'incidence de la pourriture du pied et étude de la diversité génétique de la structure des populations espèces de *Fusarium* associées à la maladie. Thèse de doctorat, Université de Tunis El Manar, Faculté des sciences de Tunis Département de Biologie. Tunisie. 108.

**-GELDERBLOM, W.C., MARASAS, W.F., VLEGGAR, R., THIEL, P.G., CAWOOD, M.E. 1992.** Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia* 117, 11-16.

**-GEREZ, C. L., TORINO, M. I., ROLLAN, G. & DE VALDEZ, F.G. (2009).** Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control* 20, 1441-148.

**-GHORRI S,(2015)** Isolement des microorganismes possédant une activité anti-*Fusarium*. Thèse de doctorat .116p

**-GLASS, N. L., RASMUSSEN, C. M., ROCA, G. ETREAD ,N. D. (2004).** "Hyphal homing, -fusion and mycelial interconnectedness." *Trends Microbiol* 12 (3), p. 135-141.

**-GUIRAUD, J. P.(1998).** *Microbiologie alimentaire*. Dunod. Paris, p. 7-330.

**-GUTZILLER, A., CZEGLÉDE, L. ET STOLL, P. 2005.** Efficacité d'adsorbants contre les mycotoxines de *Fusarium* chez le porc. *Revue Suisse Agric.* 37 (3) : 121-129.

- HAMEL A.(2016).** Etude de l'antagonisme de *Trichoderma sp* vis-à-vis le *Fusarium sp* agent de la fusariose du blé en Algérie .Mémoire master .99p.
- HAWKSWORTH,D.L., KIRK, P.M., SUTTON, B.C. ET PEGLER, D.N. (1994).** Ainsworth and Bysby's dictionary of the fungi, 8 th ed. International Mycological Institute Egham.United .Kingdom.
- HAZALIN N. A., RAMASAMY K., LIM S. M., WAHAB I. A., COLE A. L. AND ABDUL MAJEED A. B.** Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2009; **9**: 46.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER, IARC. 1999.** Monographs on the overall evaluations of carcinogenicity to humans. IARC monographs, Vols. 1-73 Lyon, France, 1-36.
- JALGAONWALA R. E., MOHITE B. V. AND MAHAJAN R. T.** Evaluation of endophytes for their antimicrobial activity from indigenous medicinal plants belonging to north Maharashtra region India. *International Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research* 2010; 1: 136-141.
- JARVIS, B.B., MILLER, J.D. 2005.** Mycotoxins as harmful indoor air contaminants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 66, 67-372.
- JENNINGS, D. H., ETLYSEK, G. (1996).** Fungal biology: understanding the fungal lifestyle, Bios Scientific Publishers Ltd.
- JEUNOT, B. (2005).** Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d'exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.
- JOHANNING, E., GAREIS, M., NIELSEN, K., DIETRICH, R., MARTLBAUER, E. 2002.** Airborne Mycotoxin Sampling and Screening Analysis. Rotterdam (Netherlands). *Indoor Air 2002- 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*. In-house publishing, p: 1-6.
- JOUANY J.P., (2007).** Vaches laitières et mycotoxines, l'étau se resserre. En attendant les outils de diagnostic. *PLM*, 383: p. 46-48.

- KANG Z., BUCHENAUER H.** « Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: Degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue ». *European Journal of Plant Pathology*. 2002. Vol. 108, n°7, p. 653–660.
- KEITH, A. ET SEIFERT, D. SC. 2001.** Systématique of fungal plant disease .www.BS ->Spp. Org.uk.
- KELLER N., (2011).** The fungal treasure chest: Spore origins? *Fungal Biol. Rev*, 25. 73-77.
- KRSKA, R. (2009).** Mycotoxins. *Anal Bioanal Chem*. 395, p. 1203–1204.
- LAREF, N. & GUESSAS, B. (2013).** Antifungal activity of newly isolates of lactic acid Bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 13, 80188
- LESLIE, J. ET SUMMERELL, B. 2006.** *The Fusarium Laboratory Manual*. First edition, Blackwell Publishing. 387 pp.
- LECLERC, H., IZARD, D., OHUSSON, M., WATTRE, P. ET JAKUBCZAKE. (1983).** *Microbiologie générale*.p. 26-27.
- LI, H., LIU, L., ZHANG, S., CUI, W. & LV, J. (2012).** Identification of Antifungal Compounds Produced by *Lactobacillus casei* AST18. *Curr. Microbiol.*, DOI 1
- MACIA-VICENTE J. G., JANSSON H. B., MENDGEN K. AND LOPEZ-LLORCA L. V.** Colonization of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *Canadian Journal of Microbiology* 2008; 54: 600-609.
- MADKI M. A., MANZOOR A. S., POWAR P. V. AND PATIL K. S.** Isolation and Biological Activity of Endophytic Fungi from *Withania Somnifera*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences* 2010; 2: 848-858.
- MAGAN N., HOPE C.V. AND ALDRED D. (2003).** Post – harvest fungal ecology : Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. *Euro. J. Plant. Pathol* 109, p:723-730.
- MAGNUSSON, J. & SCHNÜRER, J. (2001).** *Lactobacillus Coryniformis* subsp. *Coryniformis* strain Si3 produces a broad spectrum proteinaceous antifungal compound. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 115.

**-MANILA YADAV, AMITA YADAV, SANDEEP KUMAR, DUSHYANT SHARMA, JAYA PARKASH YDAV.** Evaluation of in vitro antimicrobial potential of endophytic fungi isolated from eugenia jambolana lam. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 6, Issue 5, 2014. ISSN- 0975-1491.

**- MANSOUR M, MAZZI Y.(2017).** Recherche de l'activité antibactérienne des souches du genre Aspergillus .Mémoire de master .46p.

**-MARASAS, W.F., KELLERMAN, T.S., GELDERBLOM, W.C., COETZER, J.A., THIEL, P.G., VAN DER LUGT, J.J. 1988B.** Leukoencephalomalacia in a horse induced by fumonisin B1 isolated from Fusarium moniliforme. Onderstepoort Journal of Veterinary Research, 55, 197-203.

**-MARTIN L., Yves D. et Sylvie R., 2007.** Fusariose de l'épi chez le blé et l'orge. CÉROM Saint-Bruno-de-Montarville, bulletin technique : phytopathologie : 2. (1). 5p.

**-MASCHER F., MICHEL V. ET BROWNE RA., 2005.** Sélection de variétés de blé et de triticales résistantes à la fusariose sur épi. Revue suisse Agric. 189-194.

**-MATHIEW, R. (1995).** Biologie Campbell, (edn) ISBN Canada.

**-MAUCH, A., DAL BELLO, F., COFFEY A. & ARENDT, E. K. (2010).** The use of Lactobacillus brevis PS1 to in vitro inhibit the outgrowth of Fusarium culmorum and other common Fusarium species found on barley. International Journal of Food Microbiology, 141, 1161121.

**-MILLER, J.D. 1992.** Fungi as contaminants in indoor air. Atmospheric Environment journal, 26, 2163-2172.

**-MILLER VINCENT, R. 2001.** Mycotoxins in Mold-Colonized Drywall Obtained from a Field Investigation. Aetotech Laboratories, Inc. Phoenix Arizona.

**-MOHANTA J., TAYUNG K. AND MOHAPATRA U.** Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting three Ethnomedicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India. *The Internet Journal of Microbiology* 2008; 5(2).

**-MOSS, M.O. (1996).** Mycotoxins. *Mycological Research* 100, 513–523.2008; 6(1&2): 47-50.

- MUHIALDIN, B. J. & HASSAN, Z. (2011).** Screening of Lactic Acid Bacteria for Antifungal Activity against *Aspergillus oryzae*. *American Journal of Applied Sciences*, 8, 4471451
- MUKHTAR I.** Influence of *Trichoderma* species on seed germination in okra. *Mycopathologia*.
- MC MULLEN M, JONES R, GALLENBERG D, 1997.** Scab of wheat and barley: A Re-emerging disease of devastating impact. *Plant Disease* 81(12), 1340-1348.
- NDAGANO, D. (2012).** Etude de l'activité antifongique des bactéries lactiques isolées de produits alimentaires fermentés et caractérisation de leurs métabolites inhibiteurs. Thèse de doctorat, université de Liège, Belgique.
- NELSON, P.E., PLATTNER, R.D., SHACKELFORD, D.D., DESJARDINS, A.E., (1992).** Fumonisin B1 production by *Fusarium* species other than *F. moniliforme* in section *Liseola* and by some related species, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, p.986-989.
- NUANGMEK W., MCKENZIE E. H. C. AND LUMYONG S.** Endophytic fungi from wild banana (*Musa acuminata* Colla) works against anthracnose disease caused by *Colletotrichum musae*. *Research Journal of Microbiology* 2008; 3: 368-374.
- O'BRIEN, H. E., PARRENT, J. L., JACKSON, J. A., MONCALVO, J.M. ET R. VILGALYS (2005).** "Fungal Community Analysis by Large-Scale Sequencing of Environmental Samples." *Applied and Environmental Microbiology* 71(9), p. 5544-5550.
- OMS. (1980).** Mycotoxines. Critères d'hygiène de l'environnement 11. publications. De l'OMS. Genève. P.142.
- OSWEILER, G.D., ROSS, P.F., WILSON, T.M., NELSON, P.E., WITTE, S.T., CARSON, T.L., RICE, L.G., NELSON, H.A. (1992).** Characterization of an epizootic of pulmonary edema in swine associated with fumonisin in corn screenings, *J. Vet. Diagn. Invest.*, 4, p.53-59.
- PAMEL, E. V., VLAEMYNCK, G., HEYNDRICKX, M., HERMAN, L., VERBEKEN, A., DAESELEIRE, E. (2010).** Mycotoxin production by pure fungal isolates analysed by means of an HPLC-MS/MS multi-mycotoxin method with possible pitfalls and solutions for patulin-producing isolates. *MycotoxRes*, p. 1-11.

- PARENT-MASSIN, FICHEUX, AND Galtier (2013).** Mycotoxines et sécurité alimentaire. EMC -Pathologie Professionnelle et de L'environnement 8, 1–14.
- PARRY, D.W., JENKINSON, P. ET MCLEOD, L. 1995.** Fusarium ear blight (scab) in small -grain cereals\_a review. Plant Pathology 44: 207-238.
- PAUVET P., (1984).** Les fusarioses des céréales. Phytoma, 202: 15-16. Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger : 7-9 avril 2007.
- PEREYRA SA, DILL-MACKY R, SIMS AL, 2004.** Survival and Inoculum Production of Gibberella zeae in Wheat Residue. Plant Disease 88, 724-730.
- PIMENTEL I. C., GLIENKE-BLANCO C., GABARDO J., STUART R. M. AND AZEVEDO J. L.** Identification and colonization of endophytic fungi from soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) under different environmental conditions. *Brazilian Archives Of Biology And Technology* 2006; **49**: 705-711.
- PITT, J.I.(2000),** Toxigenic fungi and mycotoxins, Br. Med. Bull., 56 (1), p.184 - 192.
- PITT JOHN I AND HOCKING AILSA D. (2009).** Fungi and food spoilage. Third Edition. Springer Science. p: 519.
- PRANDINI A, SIGOLO S, FILIPPI L, BATTILANI P, PIVA G, (2009).** Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. Food and Chemical Toxicology 47(5), 927–931.
- PRABAVATHY AND C. VALLI NACHIYAR.** the antimicrobial activity of *Aspergillus* sp isolated from *Justicia adathoda*. Indian Journal of Science and Technology. Vol. 5 No. 9 (Sep. 2012) ISSN: 0974- 6846.
- PRAVEENA YSN AND PADMINI PALEM PC.** Antibacterial activities of mycotoxins from newly isolated filamentous fungi . International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences Page: 13 Volume: 1: Issue-1: March-May -2011. India.
- QUILLIEN, J-F. (2002).** Les mycotoxines. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) - Centre de Réseaux pour l'Innovation en Agriculture et Agroalimentaire (CRIAA), Paris, France, p. 1-24.

- RAMASAMY K., LIM S. M., ABU B. H., ISMAIL N., ISMAIL M. S., ALI M. F., WEBER J. F. AND COLE A. L.** Antimicrobial and cytotoxic activities of Malaysian endophytes. *Phytotherapy Research* 2010; **24**: 640-643.
- RHEEDER, J.P., MARASAS, W.F.O., THIEL, P.G., SYDENHAM, E.W., SHEPARD, G.S., VAN SCHALKWYK, D.J. 1992.** Fusarium moniliforme and fumonisins in corn in relation to human oesophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*. 82, 353-357.
- RUPPOL P., DELFOSSE PH AND HORNICK, J.L. (2004).** La contamination de la filière laitière par les mycotoxines : un risque pour la santé publique en Afrique subsaharienne. *Ann. Méd.Vét.* p: 141-146.
- RYAN, L. A. M., DAL BELLO, F. & ARENDT, E. K. (2008).** The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *Int J Food Microbiol.*, 125, 27418.
- SCHILLING. A.G., MOLLER, E.M., ET GEIGER, H.H., (1996).** Polymerase chains reaction based assays for species specific detection of *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F.avenaceum*. *Phytopathology* 86 :515-522p.
- SCHWENNINGER, S. M., AH, U., VON NIEDERER, B., TEUBER, M. & MEILE, L. (2005).** Detection of antifungal properties in *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* SM20, SM29, and SM63 and molecular typing of the strains. *Journal of Food Protection*,68, 1111119.
- SHIER, W.T., SIER, A.C., XIE, W., MIROCHA, C.J. 2001.** Structure-activity relationships for human oestrogenic activity in zearalenone mycotoxins. *Toxicon* 39, 1435-1438.
- STRANGE RN. & SMITH H., 1971.** A fungal growth stimulant in anthers which predisposes wheat to attack by *Fusarium graminearum*. *Physiological Plant Pathology* 1. 141-150.
- STRÖM, K. (2005).** Fungal inhibitory lactic acid bacteria characterization and application of *Lactobacillus plantarum* Mi LAB 393. Thèse de doctorat, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala
- TABUC CRISTINA. (2007).** Flore fongique de différents substrats et condition optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Institut polytechnique de Toulouse.

- TADESSE G ., EPHRAIM E ., ASHENAFI M. (2004).** Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some food borne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity, *Internet Journal of Food Safety* V (5) 13-20.
- THIBAUT, N., BURGAT, V., AND GUERRE, P. (1997).** Les fumonisines : nature, origine et toxicité. *Revue de Médecine Vétérinaire* 148, 369–388.
- TING A. S. Y., MAH S. W. AND TEE C. S.** Prevalence of Endophytes Antagonistic Towards *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Cubense* Race 4 in Various Plants. *Am -Eurasian J Sustain Agric* 2009; 3: 399-406.
- TORTORA, J., FUNK, B.F. ET CASE, CH.L. (2003).** Introduction à la microbiologie, -(edn)ISBN.Canada.
- TRAIL F., 2009.** For blighted waves of grain : *Fusarium graminearum* in the - postgenomics era. *Plant Physiology*, 149(1). 103-110.
- VALERIO, F., FAVILLA, M., DE BELLIS, P., SISTO, A., DE CANDIA, S. & LAVERMICOCCA, P. (2009).** Antifungal activity of strains of lactic acid bacteria isolated from asemolina ecosystem against *Penicillium roqueforti*, *Aspergillus niger* and *Endomyces fibuliger* contaminating bakery products. *Systematic and Applied Microbiology*, 32, 4381448.
- VAUGHAN, E. E., CAPLICE, E., LOONEY, R., O'ROURKE, N., COVENEY, H., DALY, C. & FITZGERALD, G. F. (1994).** Isolation from food sources, of lactic bacteria that produced antimicrobials. *Journal of Applied Bacteriology*, 76, 1181123.
- VEGA, K. ETKALKUM, M. (2012).** "Chitin, Chitinase Responses, and Invasive – Fungal Infections." *International Journal of Microbiology* 2012.
- VOULGARI, K., HATZIKAMARI, M., DELEPOGLOU, A. & TZANETAKIS, N. (2010).** Antifungal activity of non1starter lactic acid bacteria isolates from dairy products. *Food Control*, 21, 1361142
- WAGACHA J.M., MUTHOMI J.W., (2007).** *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection* 26, 877-885.

- WALTER S, NICHOLSON P, DOOHAN FM, 2010.** Research review: Action and reaction of host and pathogen during Fusarium head blight disease. *New Phytologist* 185, 54–66.
- WHITLOW, W. ETHAGLER, W.M.(2001).***Mycotoxin contamination of feedstuffs – An additional stress factor for dairy cattle.* in *25esymposium sur les bovinslaitiers*.Quebec.
- WHO-IARC. 1993.**Toxins derived from Fusarium moniliforme: Fumonisin B1 and B2 and fusarin C. Lyon France: IARC.
- XIAOLING C., XIAOLI L., SHINING Z., JUNPING G., SHUIPING W., XIAOMING L., ZHIGANG S. AND YONGCHENG L.** Cytotoxic and topoisomerase I inhibitory activities from extracts of endophytic fungi isolated from mangrove plants in Zhuhai, China. *Journal of Ecology and The Natural Environment* 2010; **2**: 017-024.
- XU, X.-M., NICHOLSON, P., THOMSET, M. A., SIMPSON, D., COOKE, B. M., DOOHAN, F. M., BRENNAN, J., MONAGHAN, S., MORETTI, A., MULE, G., HORNOK, L., BEKI, E., TATNELL, J., RITIENI, A. ET EDWARDS S. G. 2008.** Relationship between the fungal complex causing Fusarium head blight of wheat and environmental conditions. *Phytopathology* 98 : 69 – 78.
- XU XM, NICHOLSON P, 2009.** Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology* 47, 83–103.
- YAMAÇ M. AND BILGILI F.** Antimicrobial Activities of Fruit Bodies and/or Mycelial Cultures of Some Mushroom Isolates. *Pharmaceutical Biology* 2006; **44**: 660-667.
- YOU F., HAN T., WU J. Z., HUANG B. K. AND QIN L. P.** Antifungal secondary metabolites from endophytic *Verticillium* sp. *Biochemical Systematics and Ecology* 2009; **37**: 162-165.
- ZERROUG A,(2011).** Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *Retama raetam* (Forssk.).Thèse magister , 77p.

# *Annexes*

## Annexe 01: Milieux de Culture

### **Potato Dextrose Agar (PDA)**

Pomme de terre (macération 500 ml de filtrat).....	200 g
Dextrose .....	10 g
Agar .....	15 g
Eau distillée .....	1000 ml
pH .....	7

### **Milieu Dichloran Rose Bengal (DRBC)**

Pomme de terre (macération 500 ml de filtrat) .....	200 g
Dextrose .....	10 g
Agar .....	15 g
Eau distillée .....	1000 ml
pH .....	7
Rose Bengal .....	25mg

### **Milieu Sabouraud**

Peptone .....	10g
Agar .....	20g
Glucose .....	20g
Eau distillée .....	1000 ml

### Milieu PDB (potato dextrose broth)

Extrait liquide de pomme de terre .....	1000 ml
D-glucose .....	20 g

### Milieu SNA (Spezieller Nährstoffärmer Agar)

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1.0 g
KNO <sub>3</sub> .....	1.0g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	0.5g
KCl .....	0.5g
Glucose .....	0,20g
Saccharose .....	0,20g
Agar .....	20 g
Eau distillée.....	1000ml

### Milieu OGA( Gélose glucosée à l'oxytétracycline )

Extrait autolytique de levure .....	5g
Glucose .....	20g
Oxytétracycline .....	0.1g
Agar agar bactériologique .....	15g
PH.....	6.6

Annexe 02:

**Tableau 01: L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par extrait fongique obtenu par le chloroforme.**

Les bactéries pathogènes et la levure	Zone d'inhibition (mm)	
	Chloroforme A	Chloroforme B
<i>Escherichia coli</i>	/	08
<i>listeria innocua</i>	/	07
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	07	07
<i>Candida albicans</i>	/	/

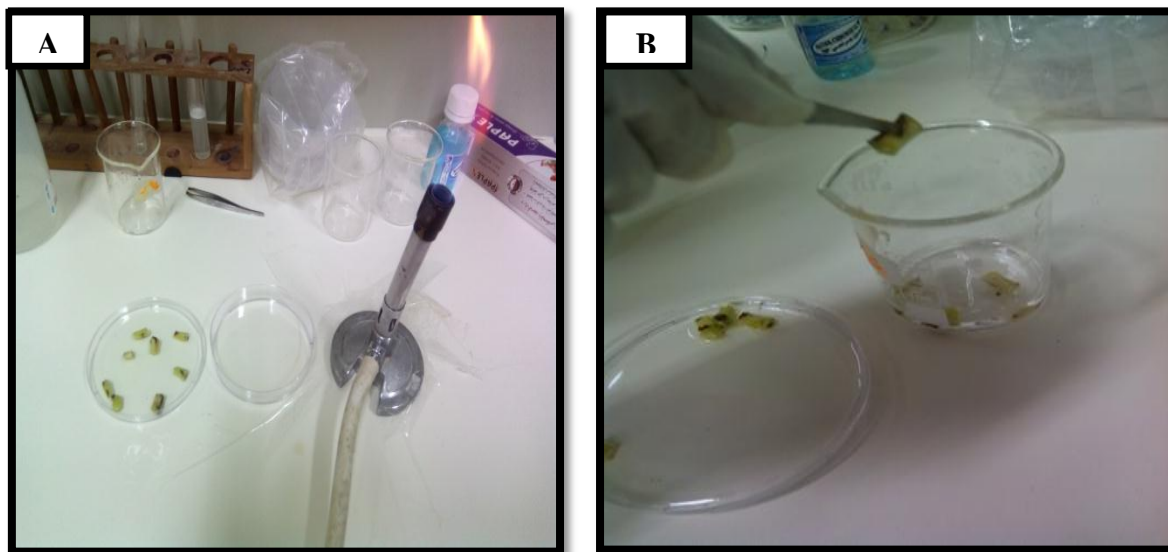
**Tableau 02: L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par extrait fongique obtenu par l'acétate d'éthyle .**

Les bactéries pathogènes et la levure	Zone d'inhibition (mm)	
	Acétate A	Acétate B
<i>Escherichia coli</i>	07	07
<i>listeria innocua</i>	07	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	08	07
<i>Candida albicans</i>	09	10

**Tableau 03: L'inhibition de la croissance des bactéries et d'une levure pathogènes par 02 souche de bactéries lactique (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* , *Streptococcus thermophilus* ).**

Les souche de <i>fusarium</i>	Zone d'inhibition (mm)	
	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>Fusarium sp01</i> (F01)	6.5	07
<i>Fusarium sp02</i> (F02)	07	15
<i>Fusarium sp03</i> (F03)	07	10

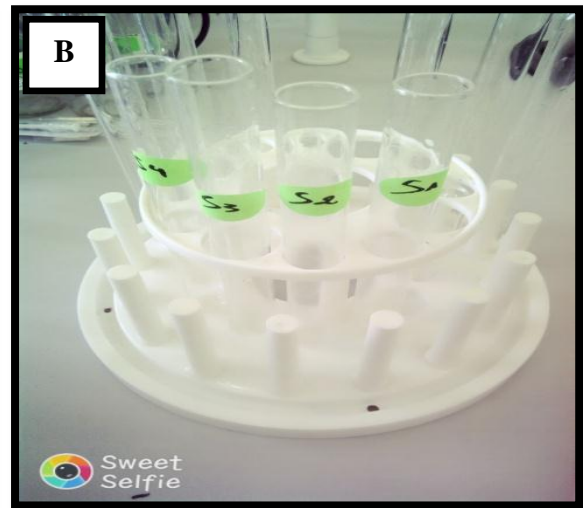
Annexe 03 :



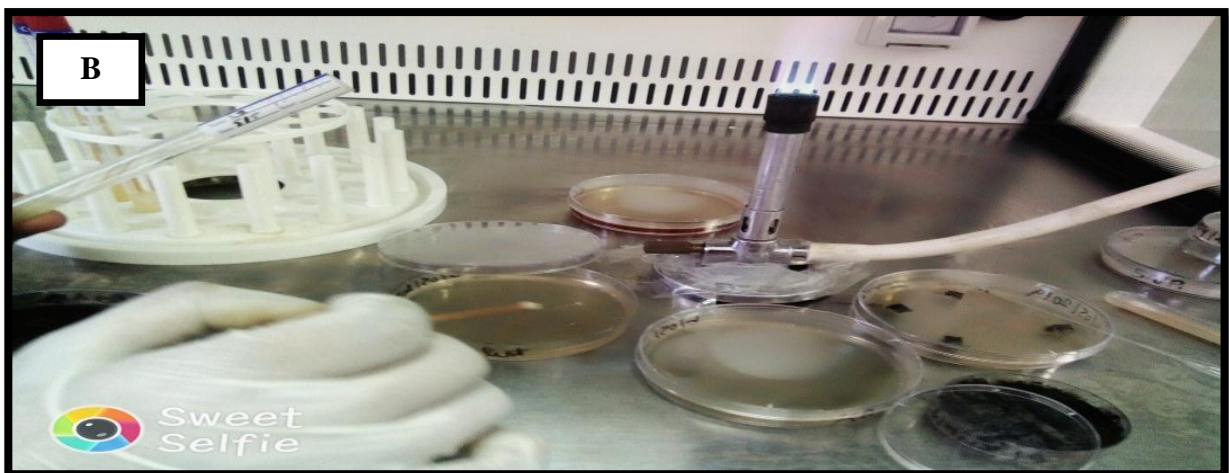
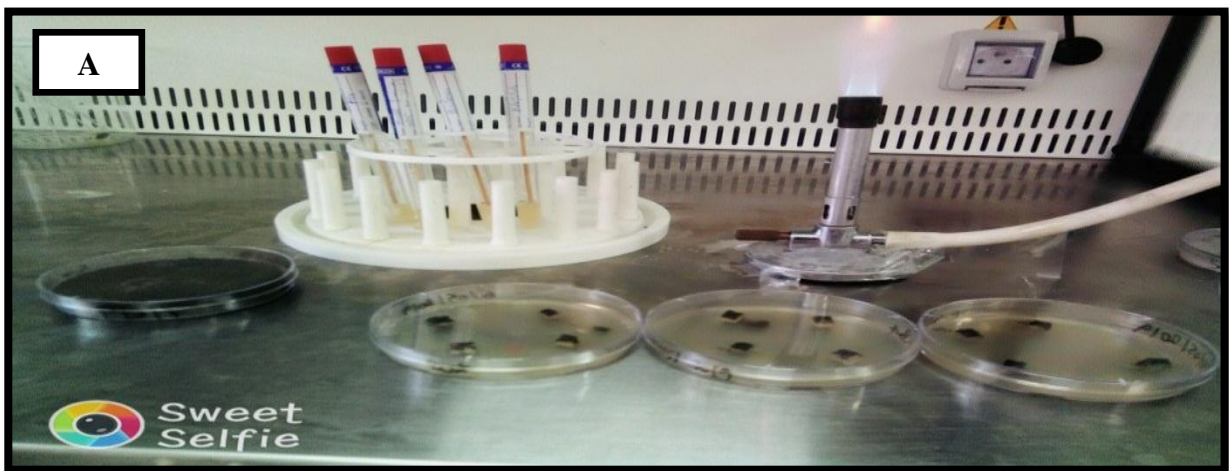
**Figure 01 : Désinfection de l'échantillon et isolement du *fusarium*.**



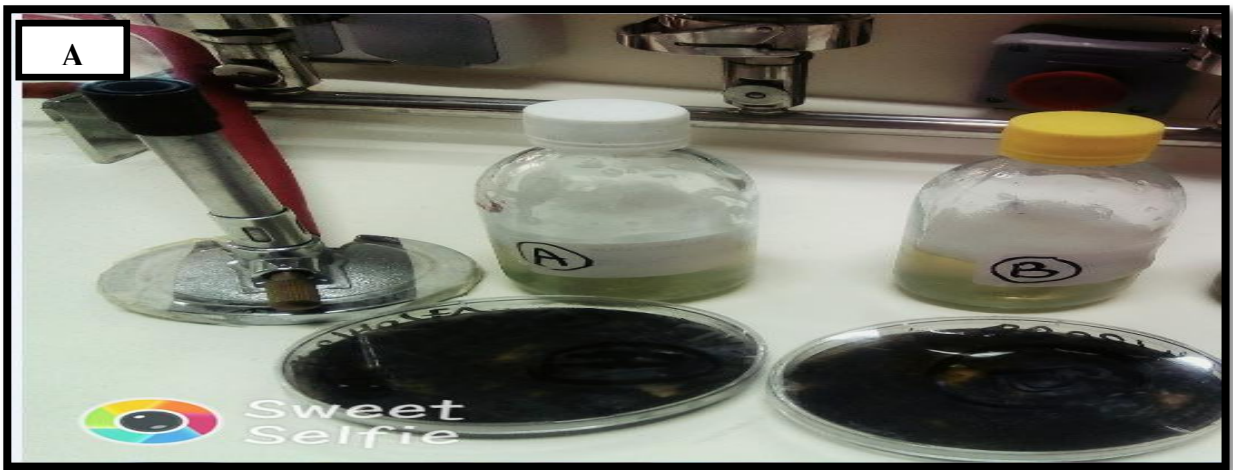
**Figure 02 : l'identification microscopique des souches.**



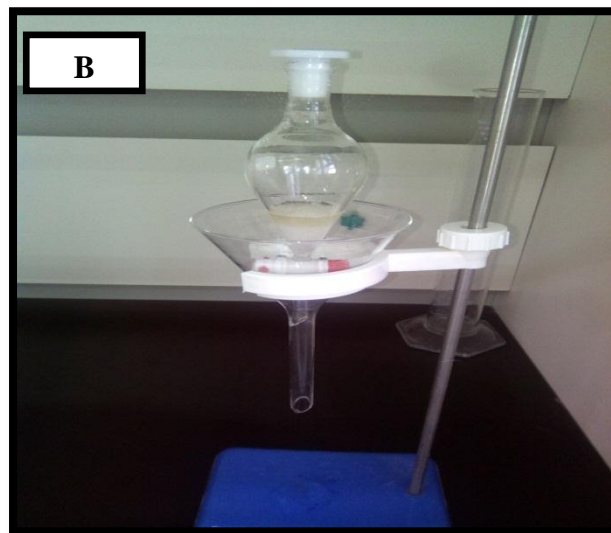
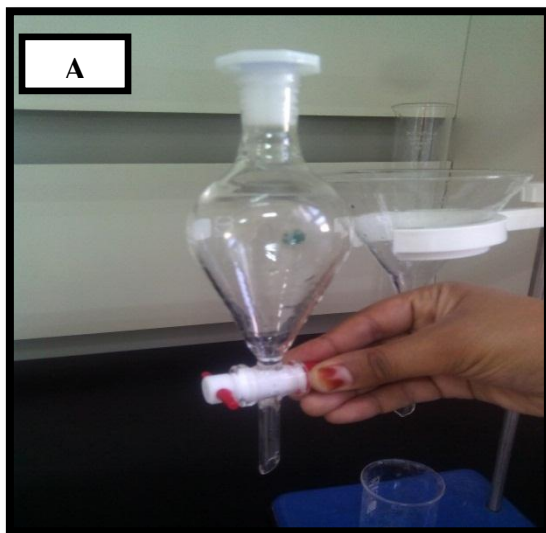
**Figure 03 : Dilution purification des souches sur milieu PDA.**



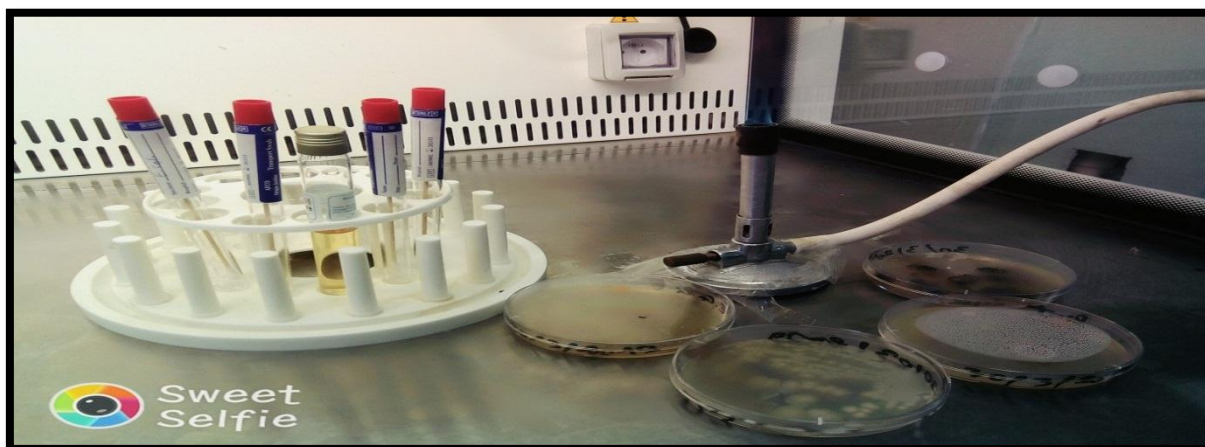
**Figure 04: Ensemencement de microorganismes pathogènes en double culture de diffusion.**



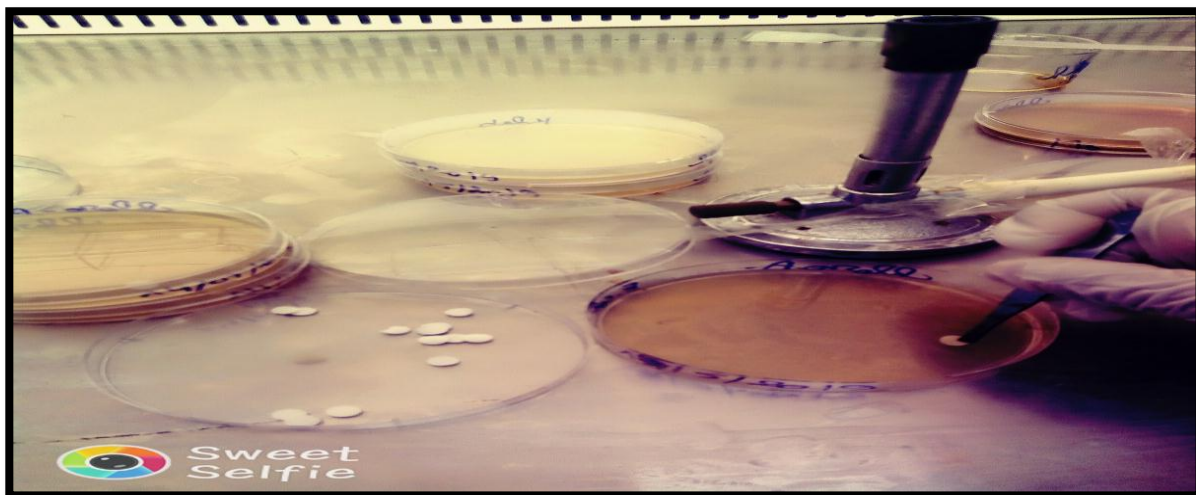
**Figure 05: Fermentation des champignons et filtration de contenu.**



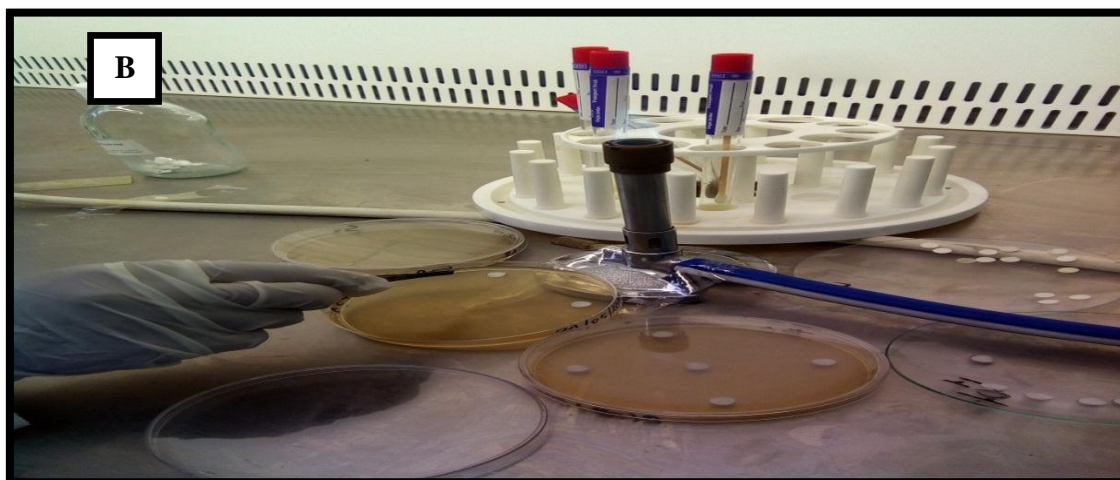
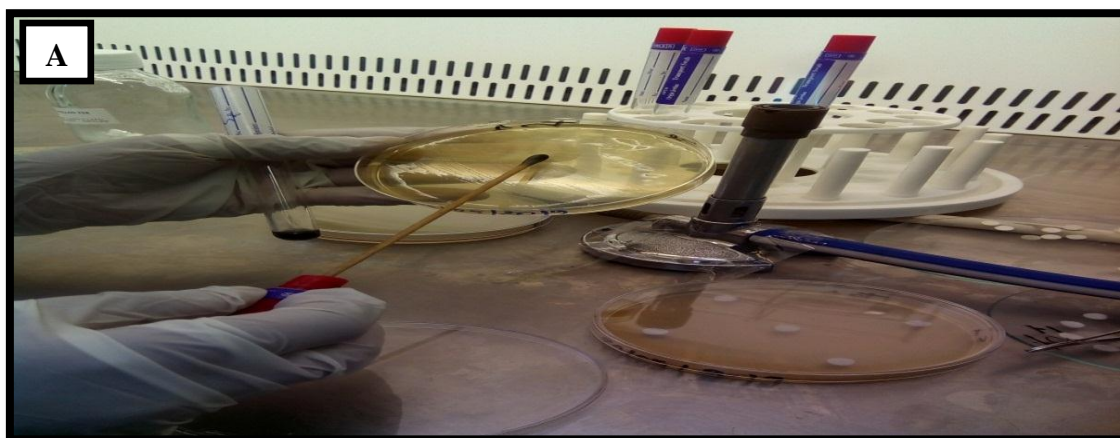
**Figure 06 : Extraction des mycotoxine de *Fusarium*: A) - ampoules a décompté; B) - la phase organique et la phase inorganique; C) - l' évaporation du solvant par rotavapor .**



**Figure 07 : Réactivation des bactéries pathogènes.**



**Figure 08 : Technique de diffusion sur disques.**



**Figure 09 : Ensemencement des souches fongiques et réduction de leur toxicité.**

## Résumé :

Les moisissures sont des contaminants fréquents de nombreux substrats végétaux et de certains produits d'origine animale. Leur présence peut améliorer les qualités organoleptiques du produit ou, au contraire, l'altérer et conduire à l'accumulation de métabolites secondaires toxiques : les mycotoxines.

A travers notre étude, un échantillonnage a été effectué dans la région de d'E-Oued (Djamaa , Magren). Quatre isolats ont été identifiés ; ils appartiennent au genre *Fusarium*.

De même, ce travail s'inscrit dans la caractérisations des mycotoxines produites par *fusarium sp* après l'identification des souche sur milieux solides **PDA** et **DRBC**. Le test d'antibiose est réalisé par la méthode de diffusion sur disque dans des boites de pétri contenant le milieu Muller-Hinton ensemencé par *Escherichia coli*, *listeria innocua*, *klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans* .

Après fermentation et extraction à l'aide de l'acétate d'éthyle et le chloroforme, les extraits des deux souches fongiques (**A,B**) ont été examinés pour leur activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disques ; les différents extraits ont montré une activité antimicrobienne plus ou moins grande, et où les zones d'inhibition allé de 0 à 10 mm pour les extraits d'acétate d'éthyle, et de 0 à 8 mm pour les extraits chloroformiques.

L'essai de lutte biologique contre les *Fusarium sp*. par l'utilisation des bactéries lactique a montré que une activité antagoniste *in vitro* intéressante par leurs pouvoir hautement anti-*Fusarium*. La sécrétion de substances antifongiques a ralenti la croissance mycélienne de les souches.

**Mots clés** : *fusarium*, Mycotoxines, Test d'antibiose , Lutte biologique.

## Abstract :

Moulds are common contaminants of a wide variety of vegetal and animal derived foods. Their presence can improve the organoleptic qualities of the product or, on the contrary, alter it and lead to the accumulation of toxic compounds : mycotoxins.

Through our study, a sampling was carried out in the region of E-Oued (Djamaa, Magren). Four isolates were identified; they belong to the genus *Fusarium*.

Similarly, this work is part of the characterization of mycotoxins produced by *fusarium sp* after the identification of the strain on **PDA** and **DRBC** solid media. The antibiosis test is performed by the disk diffusion method in Petri dishes containing Muller-Hinton medium inoculated with *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*.

After fermentation and extraction with ethyl acetate and chloroform, the extracts of both fungal strains (A, B) were examined for their antimicrobial activity by the disk diffusion method; the different extracts showed a greater or less antimicrobial activity, and where the zones of inhibition went from 0 to 10 mm for the ethyl acetate extracts, and from 0 to 8 mm for the chloroform extracts.

The biological control trial against *Fusarium sp*. by the use of lactic acid bacteria has shown that an interesting *in vitro* antagonistic activity by their highly anti-*Fusarium* potency. The secretion of antifungal substances slowed the mycelial growth of the strains.

**Key words** : *fusarium*, Mycotoxins, antibiosis test, biological control.