



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمه لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de Vie

قسم بيولوجيا خلوية وجزيئية

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

Contribution à l'identification et à l'évaluation
de toxicité de certaines espèces fongiques à
intérêt agricole

Présentés Par :

M^{elle} GHODBANE Raounak

M^{elle} RAHMANI Ouijdane

Devant le jury composé de :

Présidente : BOUKHARI Dalel MAA Université d'El Oued

Examineur : KIRAM Abderrazak MAA Université d'El Oued.

Promoteur : LAICHE Ammar Touhami MCA Université d'El Oued.

Année universitaire 2020/2021

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 remercions également les membres du jury d'avoir accepté
de jurer ce travail.*

*En fin, que tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail, trouveront ici l'expression de notre
profonde gratitude.*



DÉDICACE

À ma chère mère

La source de ma force, ma patience et un exemple de dévouement qui ne s'est pas arrêté sur ma motivation et mes encouragements. Vos prières pour moi m'ont beaucoup aidé à terminer mes études et à atteindre ce niveau.

À mon cher père

Pour vos sacrifices pour mon éducation et pour tout ce que vous m'avez donné depuis ma naissance jusqu'à ce moment. Que Dieu Tout-Puissant vous protège et vous apporte la santé, si Dieu le veut.

*Je dédie mon travail à ma chère et unique sœur
Haïfa*

Et à mes chers frères Houssam El Dîn et Dhîa El-HaK

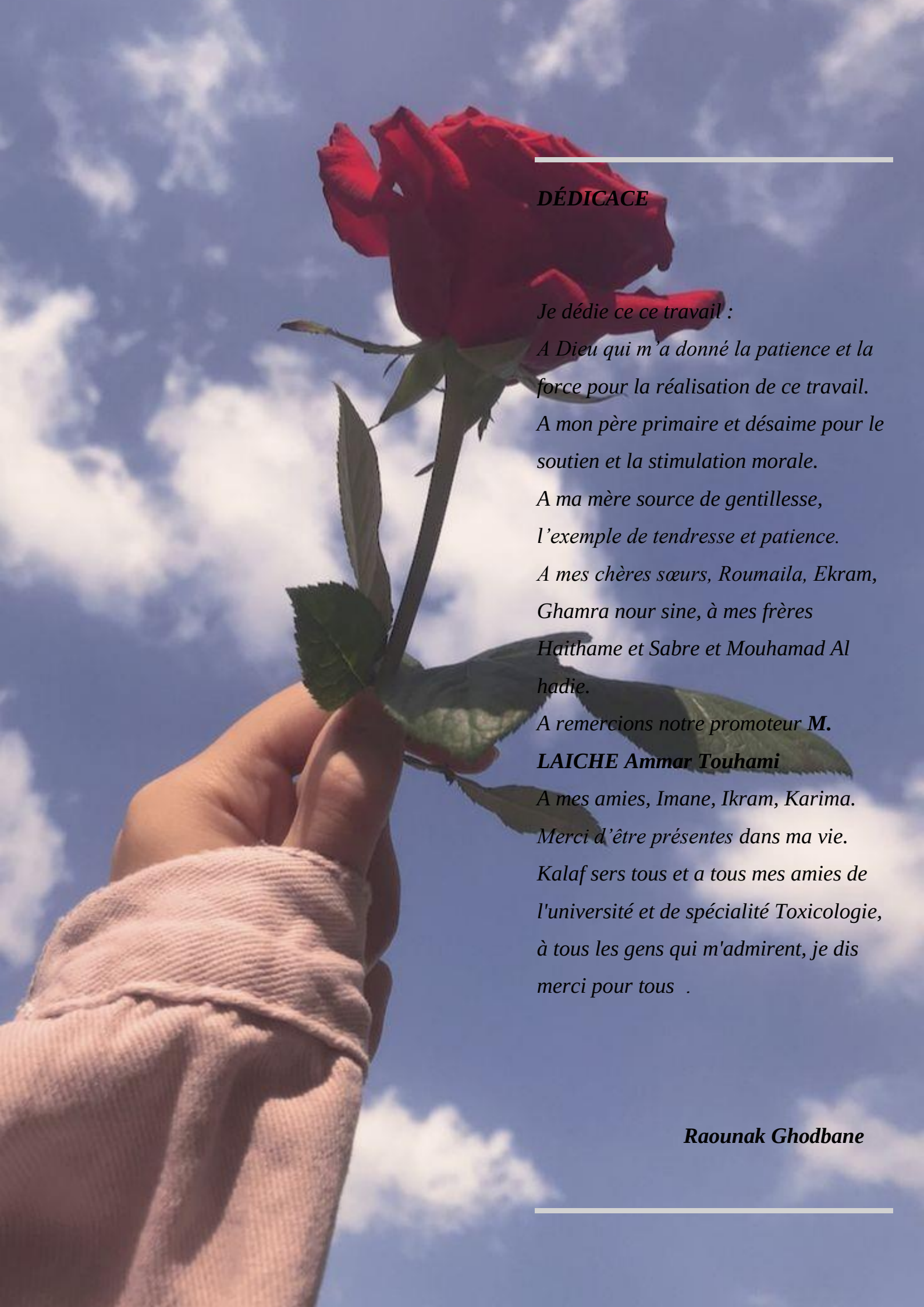
Avec tous mes meilleurs vœux de santé, de bonheur et de réussite

À chaque enseignant et professeur qui a contribué à mon éducation de l'école primaire à l'université.

À ma chère binôme Raounak

A tous mes chers amis surtout ma très chère sœur Oumaïma.

Ouijdane



DÉDICACE

Je dédie ce travail :

A Dieu qui m'a donné la patience et la force pour la réalisation de ce travail.

A mon père primaire et désaïme pour le soutien et la stimulation morale.

A ma mère source de gentillesse, l'exemple de tendresse et patience.

A mes chères sœurs, Roumaila, Ekram, Ghamra nour sine, à mes frères Haithame et Sabre et Mouhamad Al hadie.

*A remerciions notre promoteur **M.***

LAICHE Ammar Touhami

A mes amies, Imane, Ikram, Karima.

Merci d'être présentes dans ma vie.

Kalaf sers tous et a tous mes amies de l'université et de spécialité Toxicologie, à tous les gens qui m'admirent, je dis merci pour tous .

Raounak Ghodbane

RESUME

Alternaria sp et *Garluc Rust* sont deux genres des champignons capables de synthétiser des mycotoxines et d'infecter les produits agricoles. Dans ce travail, nous avons étudié la contamination des plantes cultivées dans la région dl'EL-Oued par des mycotoxines. pour cela, un total d'échantillons de pomme de terre et l'échantillons d'ail ont été prélevés.

Après l'isolement et la purification des genres *Alternaria sp* contaminant la pomme de terre et *Garluc Rust* contaminant l'ail, l'évaluation de l'activité antifongiques produits fongiques synthétiques (Consento et Amistar top ,Equation pro sur *Alternaria sp* et Agriculazole, Agrium sur *Garluc Rust*) a été réalisées par deux méthodes: la méthode de diffusion sur disque et la méthode de dilution en milieu gélosé.

Les résultats relatifs à la réductions de la toxicité des souches *Alternaria sp* et *Garluc Rust* isolées par des produits fongiques ,les zones d'inhibition varient entre 0 et 4.2cm pour le genre *Alternaria sp* et entre 0 et 3cm pour le genre *Garluc Rust*.

Le produit le plus efficace sur *Alternaria sp* est Amistar à toutes les doses (D1,D2,D3) et l'effet du produit Equation pro est à doses (D1, D2).Pour Agriculazole et le produit Agrium, ils ont un impact significatif sur *Garluc Rust* dans toutes les doses (D1,D2,D3).

Mots clés: *Alternaria sp*, *Garluc Rust* ,contamination , mycotoxines, produits fongiques ,dose, réduction de la toxicité.

الملخص

Garluc Rust و *Alternaria sp* نوعان من الفطريات القادرة على تصنيع السموم الفطرية وإصابة المنتجات الزراعية. درسنا في هذا العمل تلوث النباتات المزروعة في منطقة الواد بالسموم الفطرية. لهذا الغرض ، تم أخذ مجموع عينات البطاطا وعينات الثوم.

بعد عزل وتنقية أجناس *Alternaria sp* الملوثة بالبطاطا و *Garluc Rust* الملوثة بالثوم ، تم إجراء تقييم النشاط المضاد للفطريات للمنتجات الفطرية الاصطناعية (Equation ، Amistar top و Consento) على *Alternaria sp* و *Agrium*، *Agriculazole* على *Garluc Rust* بطريقتين: طريقة نشر القرص وطريقة تخفيف الآجار.

النتائج المتعلقة بالحد من سمية سلالات *Garluc Rust* و *Alternaria sp* المعزولة بمنتجات فطرية ، تتراوح مناطق التثبيط بين 0 و 4.2 سم للجنس *Alternaria sp* وبين 0 و 3 سم للجنس *Garluc Rust*.

المنتج الأكثر فعالية على *Alternaria sp* هو Amistar top في جميع الجرعات (D1 ، D2 ، D3) ويكون تأثير منتج Equation pro عند الجرعات (D1 ، D2). بالنسبة إلى *Agrium* و *Agriculazole* ، فإنهما لهما تأثير كبير على *Garluc Rust* في جميع الجرعات (D1 ، D2 ، D3).

الكلمات الأساسية: *Alternaria sp* ، *Garluc Rust* ، التلوث ، السموم الفطرية ، المنتجات الفطرية ، جرعة ، تقليل السمية.

Abstract

Alternaria sp and *Garluc Rust* are two genera of fungi capable of synthesizing mycotoxins and infecting agricultural products. In this work, we studied the contamination of cultivated plants in the EL-Oued region by mycotoxins. for this, a total of potato samples and garlic samples were taken.

After the isolation and purification of the genera *Alternaria sp* contaminating potato and *Garluc Rust* contaminating garlic, the evaluation of the antifungal activity of synthetic fungal products (Consento and Amistar top, Equation pro on *Alternaria sp* and Agriculazole, Agrium on *Garluc Rust*) was carried out by two methods: the disk diffusion method and the agar dilution method.

The results relating to the reduction in the toxicity of *Alternaria sp* and *Garluc Rust* strains isolated by fungal products, the zones of inhibition vary between 0 and 4.2 cm for the genus *Alternaria sp* and between 0 and 3 cm for the genus *Garluc Rust*.

The most effective product on *Alternaria sp* is Amistar top at all doses (D1, D2, D3) and the effect of the product Equation pro is at doses (D1, D2). For Agriculazole and the product Agrium, they have an impact significant on *Garluc Rust* in all doses (D1, D2, D3).

Key words: *Alternaria sp*, *Garluc Rust*, contamination, mycotoxins, fungal products, dose ,toxicity reduction.

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des Abréviations	
INTRODUCTION GENERALE	
PARTIE I: RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUES	
CHAPITRE I :LESCHAMPIGNONS	
I. Généralités surleschampignons	5
I.1.Définition	5
I.2. Structure et constituants cellulaire	5
I.3.Ecologies des champignons	7
I.4.Classification des champignons	7
I.5. Cycle de vie fongique	8
I.6.Reproduction	9
I.7.Champignons telluriques phytopathogènes	11
I.8.Application des champignons	11
CHAPITRE II : LES MYCOTOXINES	
II. Généralités surles mycotoxines	14
II.1. Définition des mycotoxines	14
II.2. Principales mycotoxines	14
II.2.1. Aflatoxines	14
II.2.2.Ochratoxine A	15
II.2.3.Zéaraléonone	16
II.2.4.Trichothécènes	16
II.2.5.Citrinine	17
II.2.6. Fumonisines	17
II.3. Biosynthèse des mycotoxines	18
II.4. Facteurs influençant la production des mycotoxines	19

II.4.1. Champignons toxigènes	19
II.4.2. Facteurs environnementaux	19
II.4.3. Influence du substrat	21
II.4.4. Interaction microbienne	21
II.5. Réduction de la toxicité fongique	22
II.5.1. Contrôle du niveau d'humidité avant et pendant le stockage	22
II.5.2. Contrôle de la température pendant le stockage	22
II.5.3. Traitement thermique	22
II.5.4. L'irradiation	23
II.5.5. Traitements chimiques	23
II.5.6. Traitements biologiques	23
PARTIE II: ETUDE EXPERIMENTAL	
CHAPTER I: MATERIEL ET METHODES	
I.1. Matériels et méthodes	26
I.1.1. Matériels	26
I.1.1.1. Matériel végétal	26
I.1.1.2. Matériel de laboratoire	26
I.1.2. Méthodes d'étude	27
I.1.2.1. Préparation de la culture de l'implant	27
I.2.2. Implantation d'échantillons infectés en contexte de transplantation	27
I.2.3. Isolement, ensemencement et incubation	27
I.2.4. Observation macro et microscopique des résultats de l'expérience	28
I.2.5. Repiquage	29
I.2.6. Conservation des moisissures	29
I.2.7. Identification des souches sélectionnées	29
I.2.8. Critères d'identification des moisissures	30
I.2.9. Etude de l'activité antifongiques des fongicides synthétiques	30
Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSTIONS	
II.1. Résultats	34
II.1.1. Identification morphologique de l'agent phytopathogène	34

II.1.2. Etude de l'activité antifongiques des fongicides synthétiques	37
II.1.2.1. Méthode de dilution dans un milieu gélosé	37
II.1.2.2. Méthode de diffusion sur disques	41
II.2. Discussion générale	46
CONCLUSION GENERALE	48
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

Liste de figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Schématisation de la structure de la paroi fongique	6
Figure 02	Cycle de vie des champignons	9
Figure 03	Reproduction chez les champignons	10
Figure 04	Cycle de développement d'un champignon supérieur	10
Figure 05	Structure de l'aflatoxine B1 et de la stérigmatocystine	15
Figure 06	Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA)	15
Figure 07	Structure chimique de la zéaralène	16
Figure 08	Structure générale semi développée des trichothécènes	17
Figure 09	Structure de citrinine	17
Figure 10	Structure de la fumonisine B1	18
Figure 11	Biosynthèse des mycotoxines	19
Figure 12	Echantillons de pomme de terre et d'ail utilisés	26
Figure 13	Préparation de la culture de l'implant	27
Figure 14	Isolement des champignons de Pomme de terre et d'Ail	28
Figure 15	Technique d'ensemencement adoptée	28
Figure 16	Colonies d'Alternaria sp et de Garlic Rust par la méthode de dilution	38
Figure 17	Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur Alt1cas dilution	38
Figure 18	Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur Alt2 cas dilution	38
Figure 19	Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur Garl 1 cas dilution	39
Figure 20	Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur Garl 2 cas dillution	39
Figure 21	Colonies d'Alternaria sp et de Garlic Rust par la méthode de disque	42
Figure 22	Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur Alt1cas disque	42
Figure 23	Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur Alt2 cas disque	43

Liste de figures

Figure 24	Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur Garl 1 cas disque	43
Figure 25	Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur Garl 2 cas disque	44

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Aspect macroscopique des isolats fongiques	34
Tableau 02	Aspect microscopique des isolats fongiques	35
Tableau 03	Comparaison des résultats du test des produit antifongique P1 et P2 et P3 sur les souches d'Alternaria sp dans le cas dilution	41
Tableau 04	Comparaison résultat du test des produit antifongique P1* et P2* sur les souches d'Garlic Rust dans le cas dilution	41
Tableau 05	Comparaison des résultats du test des produit antifongique P1 et P2 et P3 sur les souches d'Alternaria sp dans le cas disque	45
Tableau 06	Comparaison résultat du test des produit antifongique P1* et P2* sur les souches d'Garlic Rust dans le cas disque	45

Liste des abréviations

Liste des abréviations

% :pourcentage.

°C : Degré Celsius.

µL : microlitre.

AFB1 : aflatoxine B1

AFM1 : aflatoxine M1

Alt 1 :*Alternaria* dans la culture PDA

Alt 2 :*Alternaria* dans la culture OGA

aw : activité de l'eau

Cm :centimètre.

D1 :does1(dose initiale des produits)

D2 :does2(dose initiale des produits sur deux)

D3 :does3(dose initiale des produits sur quatre)

E :Echantillon

g : gramme.

G :Grossissement.

Garl 1 : *Garlicrust* dans la culture PDA

Garl 2 : *Garlicrust* dans la culture OGA

He: hectare.

IARC: International Agency for Research on Cancer

J :jour.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

mm :millimètre.

Liste des abréviations

OGA :Gélose glucosée à l'oxytétracycline

OTA :ochratoxine A

P1 : Fongicide Consentio

P1*:FongicideAgriculazole

P2 :Fongicide Amistar top

P2*:FongicideAgrium

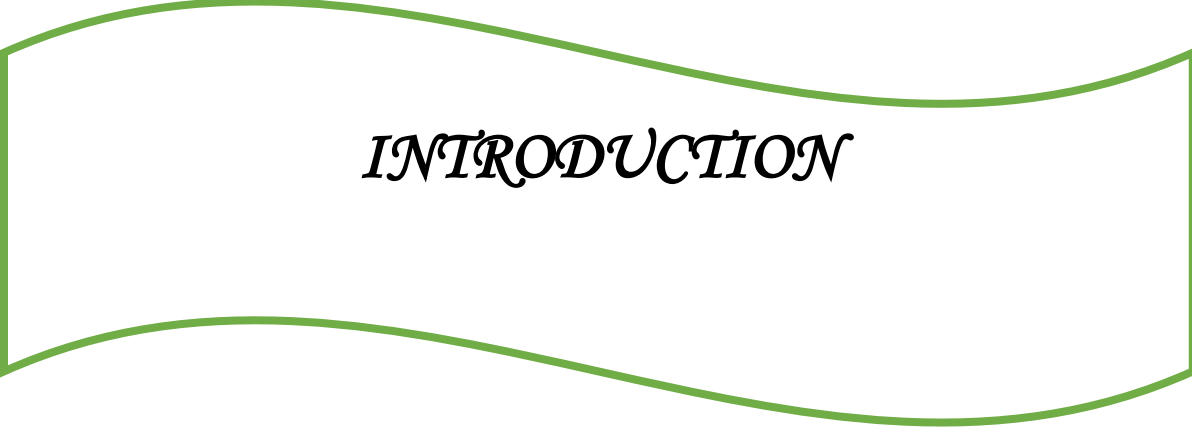
P3 :Fongicide Equation pro

PDA : Potatoes Dextrose Agar.

sp : Espèce

T° : Température.

ZEN :zéaralénone



INTRODUCTION

Introduction

L'Homme se nourrit d'aliments d'origine animale ou végétale, crus ou cuits qu'il trouve dans son environnement et pris directement de la nature ou transformés par l'industrie alimentaire. Tous ces aliments risquent de devenir de véritables vecteurs de maladies lorsqu'ils renferment des substances chimiques toxiques (métaux lourds, toxines de bactéries ou de champignons, hydrocarbures aliphatiques, pesticides...) ou des agents pathogènes biologiques (virus, bactéries, champignons) **(BHAT & VASANTHI, 2003)**.

Ces états pathologiques sont presque toujours en rapport avec des contaminations diverses qui relèvent d'un manque d'hygiène, d'erreurs grossières de préparation ou de conservation des aliments et l'absence de la maîtrise des bonnes pratiques d'agriculture, de fabrication, de stockage et de distribution. Les répercussions sur la santé humaine et l'économie qui résultent de la dégradation de la qualité nutritionnelle et hygiénique des produits alimentaires sont énormes à l'échelle mondiale **(BHAT & VASANTHI, 2003)**.

Vue le progrès industriel, économique et social que le monde a connu durant les deux derniers siècles et l'accroissement remarquable de la production et de la circulation des aliments afin de satisfaire les besoins nutritionnels de la population mondiale, la prévention de la contamination des denrées alimentaires par tout agent pathogène devient de plus en plus une nécessité de premier ordre **(BHAT & VASANTHI, 2003)**.

Parmi les agents pathogènes qui peuvent contaminer les aliments, les champignons mycotoxinogènes constituent un danger réel pour la santé de l'Homme et de l'animal lorsqu'elles contaminent les différents produits alimentaires. La prolifération fongique et la contamination par les mycotoxines altèrent la qualité marchande des produits alimentaires impliquant d'énormes pertes économiques **(BHAT & VASANTHI, 2003)**. La FAO (Food and Agriculture Organisation) estime qu'environ 25% des récoltes mondiales sont susceptibles d'être contaminées par les mycotoxines **(YIANNIKOURIS & JOUANY, 2002)**.

L'impact économique des mycotoxines sur l'industrie alimentaire et l'élevage représente un coût annuel d'environ 5 milliards de dollars aux Etats unis et le Canada.

Introduction

En Europe, une potentielle perte économique estimée entre 800 et 1000 millions d'euros est due à la contamination des céréales par l'ochratoxine A (**Olsen et al.,2003**).

Du fait que les mycotoxines ne peuvent jamais être complètement absentes ou éliminées des denrées alimentaires, et afin de cerner les problèmes engendrés par ces substances, plusieurs pays ont établi des normes fixant les teneurs maximales tolérées des mycotoxines dans un produit alimentaire déterminé et qui ne sont pas susceptibles d'engendrer un problème de santé chez le consommateur. Ainsi, dans le cadre des travaux menés par la Commission Européenne et le Codex Alimentarius, des règlements et des recommandations ont été édictés à travers le monde afin de fiabiliser les échanges commerciaux des produits alimentaires.

L'objectif de notre travail est la recherche des mycotoxines à partir des genres d'*Alternaria* et *Garulis Rust*, isolés à partir de pomme de terre et ail contaminés. En effet, le travail s'articule sur :

- ✓ L'isolement, la purification et l'identification de souches fongiques productrices des mycotoxines.
- ✓ L'évaluation de l'effet antifongique de certains produits synthétiques destinés à être utilisés comme fongicide

*PARTIE I: RAPPEL
BIBLIOGRAPHIQUES*



CHAPITRE I: LES CHAMPIGNONS

I. Généralités sur les champignons :

I.1. Définition :

Les champignons sont des organismes eucaryotes ne constituent pas une entité monophylétique mais forment au contraire un groupe très hétérogène dont la caractéristique essentielle commune est la nutrition hétérotrophe par absorption, celle-ci pouvant prendre la forme du saprophytisme, du parasitisme ou de la symbiose.(NASRAOUI, 2006)

a) Les champignons symbiotiques : Il s'agit des champignons mycorhiziens, qui aboutissent des interactions à bénéfices avec les racines des plantes (VANDER *et al.*, 1998).

b) Les champignons phytopathogènes : Ils établissent des interactions antagonistes avec les plantes (VANDER, 2003).

c) Les champignons saprophytes (libres) : Ils participent notamment aux processus de décomposition des matières organiques, d'immobilisation des éléments minéraux et établissent des interactions neutres avec la plante (KLEIN et PASCHKE, 2004).

I.2. Structure et constituants cellulaire :

La cellule fongique contient les éléments suivants :

- ✓ **Noyau :** Les compartiments hyphaux des champignons peuvent contenir un, deux ou plusieurs noyaux. Les noyaux fongiques sont d'habitude petits (2-3 µm de diamètre) comparés à ceux des animaux et des plantes et ils ont comparativement de petits chromosomes. Bien que généralement de forme sphérique à ovoïde, les noyaux ont des structures extrêmement plastiques qui sont capables de passer à travers les minuscules pores septaux. La plupart des champignons est haploïde, mais les Oomycota sont diploïdes et certains autres champignons peuvent alterner entre des générations haploïdes et diploïdes. (NASRAOUI, 2015)
- ✓ **Mitochondries :** Les mitochondries existent dans le cytoplasme des cellules fongiques. Elles paraissent circulaires, ovales ou allongées, mais sont souvent ramifiées. Leur taille, forme et nombre peuvent varier durant le cycle de la

cellule et en réponse aux conditions environnementales. Les cellules fongiques peuvent contenir peu de mitochondries très ramifiées ou plusieurs, plus que vingt, petites mitochondries non ramifiées. Chaque mitochondrie a une membrane externe lisse et une membrane interne qui se prolonge en crêtes qui pénètrent dans la matrice. Le cycle de l'acide tricarboxylique se déroule dans la matrice alors que le transport des électrons et la production d'ATP s'effectuent au niveau des crêtes. (NASRAOUI, 2015)

- ✓ **Membrane plasmique** : Les champignons ont une membrane plasmique (ou plasmalemm) similaire à celle des autres eucaryotes, consistant en une bicouche de phospholipides et des protéines et stérols associés. Cependant, le principal stérol membranaire chez les champignons est l'ergostérol et non le cholestérol comme chez les animaux et les phytostérols du type cholestérol comme chez les plantes.
- ✓ **Paroi** : Etant l'interface entre un champignon et son environnement, la paroi protège le corps fongique contre la lyse osmotique et agit comme un tamis moléculaire régulant le passage des grosses molécules à travers les pores. Quand la paroi est pigmentée, le plus souvent avec des mélanines, elle peut protéger les cellules contre la radiation ultraviolette ou les enzymes lytiques des autres organismes. La paroi fongique est formée essentiellement de polysaccharides (80 à 90 %), mais aussi de faibles teneurs de protéines et beaucoup moins de lipides. (NASRAOUI, 2015)

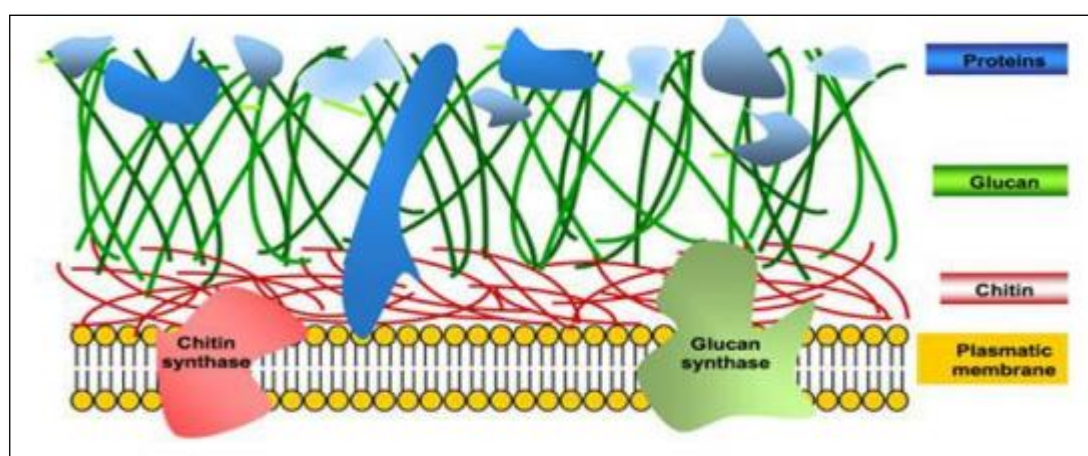


Figure 01: Schématisation de la structure de la paroi fongique (NWE & STEVENS, 2008).

I.3. Ecologie des champignons:

Les champignons ont développé des adaptations très diverses, de telle sorte qu'on les trouve dans pratiquement tous les milieux du monde. Les plus répandues sont les *Penicillium* et les *Aspergillus*. On les trouve sous tous les climats et sous toutes les latitudes. (FLORENT, 1993 ; TACHENO, 1999).

I.4. Classification des champignons :

Le règne des champignons, ou Fungi, comprend des sous-ensembles appelés divisions ou phylums. Le nom de chaque division se termine par Mycotina , les phylums se divisent en classes, le nom de ces dernières se termine par - Mycètes, ensuite le suffixe « ale » est utilisé pour désigner les ordres, le suffixe « aceae » pour les familles. Chaque famille renferme le genre et les espèces qui représentent la base de la classification. Ainsi, Chaque champignon est identifié par un nom binomial qui débute par le genre et qui se termine par l'espèce (CHABASSE, 2008)

- ❖ Domaine : **Eukaryota**
- ❖ Règne : **Champignon (Fungi)**
- ❖ Embranchement (Phylum) : **mycota**
- ❖ Sous-embranchement : **mycotina**
- ❖ Classe : **mycète**
- ❖ Ordre : **ales**
- ❖ Famille : **aceae** selon (BOUCHET, 2005)

Les champignons comprennent quatre groupes (phyla) basés sur les différentes formes de la reproduction sexuée : les zygomycota , les ascomycota , les basidiomycota, les chytridiomycota(EVERT *et al.*,2007)

Les zygomycota produisent de zygospores dans des zygosporanges, sont sans flagelles (YAJUAN *et al.*,2006)

- ✚ Les ascomycota produisent des ascospores dans des asques
- ✚ Les basidiomycota, les basidiospores sont produites sur des basides
- ✚ Les chytridiomycota : produisent des cellules mobiles flagellées sont un groupe principalement aquatique c'est le seul groupe de champignons possède des cellules ductrices (zoospores et gamète) mobiles (EVERT *et al.*, 2007)

✚ Les Deutéromycète : ou champignons anamorphes (= champignons imparfaits = champignons conidiens = champignons mitosporiques) avec un système d'identification particulier essentiellement basé sur le mode de formation des spores, appelées conidies (**CAILLAUD *et al.*, 2006**).

L'identification des très nombreuses espèces fongiques susceptibles de coloniser les végétaux ou d'autres supports est une étape très importante. En effet, toutes les espèces n'ayant pas les mêmes caractères physiologiques ni les mêmes exigences, l'identification peut donner des indications précieuses sur l'origine d'une contamination et permettre un traitement adapté.

Cette identification a pendant longtemps été exclusivement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce. Les progrès récents de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils d'aide à l'identification (**Abdel Massih, 2007**).

Toutefois, la complexité du règne fongique fait, qu'à l'heure actuelle, ces outils ne peuvent pas encore remplacer complètement l'examen morphologique, qui reste la base de l'identification (**Tabuc, 2007**).

I.5. Cycle de vie fongique :

Le cycle de vie des champignons débute lorsqu'une spore se dépose sur une surface lui offrant les conditions nécessaires à sa croissance. En fait, la germination se déclenchera par la présence d'eau combinée ou non à certains facteurs très spécifiques comme l'intensité lumineuse, certaines températures ou types d'éléments nutritifs. La spore germera alors et donnera naissance à un premier filament non différencié, appelé hyphe, qui s'allongera pour former un ensemble appelé mycélium. Cet ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, constitue le thalle des champignons. En présence de conditions favorables à la sporulation, le mycélium donnera naissance à des structures plus spécialisées, qui produiront des spores asexuées (conidies) ou, plus rarement, des spores sexuées. Chaque champignon produit un très grand nombre de spores dont l'ensemble, appelé sporée, se présente très souvent sous un aspect poudreux et coloré à la surface de la moisissure. La taille, la forme et la couleur des spores de moisissures varient grandement d'une espèce à l'autre. Par contre, en microscopie, toutes les spores d'une même espèce sont de couleur, de dimension et de

forme relativement constante ce qui, dans bien des cas, constitue un élément d'identification taxonomique (ACGIH, 1999).

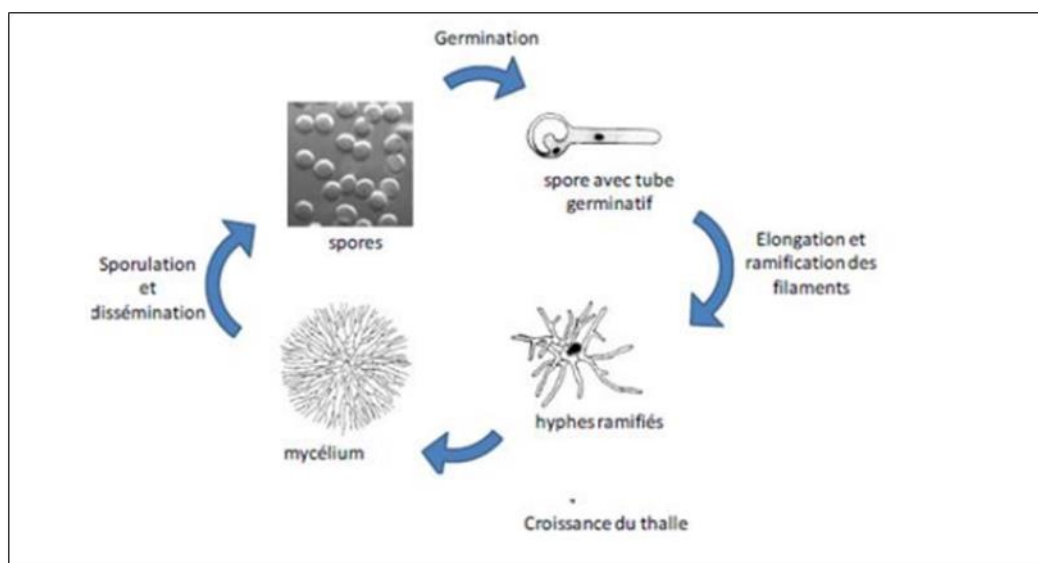


Figure 02 : Cycle de vie des champignons (Site web,2021).

I.6.Reproduction :

Le cycle sexuel des champignons se déroule en trois étapes : plasmogamie, caryogamie et méiose (JENNINGS & LYSEK, 1996). La plasmogamie correspond à la fusion cellulaire entre deux cellules haploïdes. La cellule résultante est appelée dicaryon car elle possède deux types de noyaux haploïdes. Les deux noyaux vont fusionner lors de la caryogamie puis la méiose va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes (CARLILE & WATKINSON, 1994). On recense également des modes de reproduction différents de celui qui précède : certains organismes garderont un mode de vie haploïde, d'autres un mode de vie uniquement diploïde, tandis que certains organismes (Deutéromycètes) n'ont pas de capacité de reproduction sexuée (CARLILE & WATKINSON, 1994).

Les Gloméromycètes ont quant à eux un mode de reproduction très mal compris même si le mode de reproduction asexuée soit généralement accepté chez les organismes de ce phylum (REDECKER, 2002). Les spores peuvent être répandues dans le milieu de façon passive ou active par le champignon mais leur dispersion se fera toujours passivement, selon différents modes : une dispersion par le vent, par les animaux (notamment les insectes), mais également par la graine des plantes

colonisées. L'eau est aussi un vecteur important de dissémination des spores ; il est à noter que les zoospores (chez les organismes du phylum Chytridiomycota) ont la faculté de nager grâce à leur flagelle (CARLILE & WATKINSON, 1994).

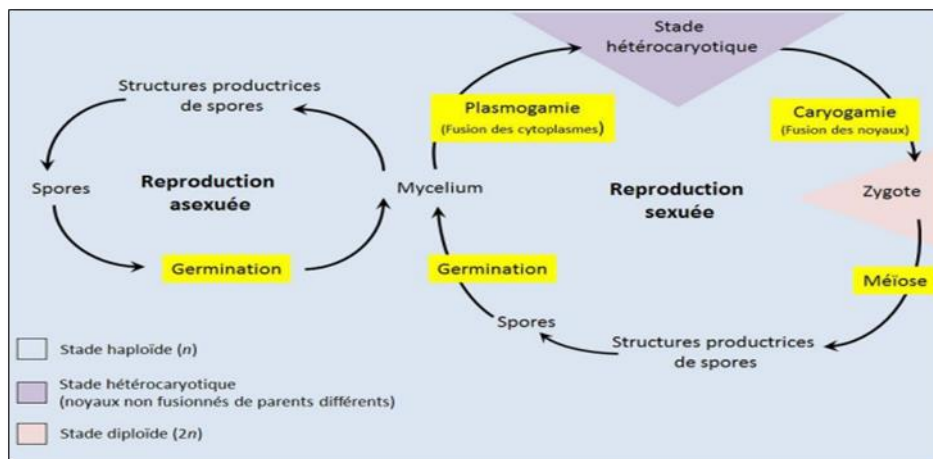


Figure 03 : Reproduction chez les champignons (Site web,2021)

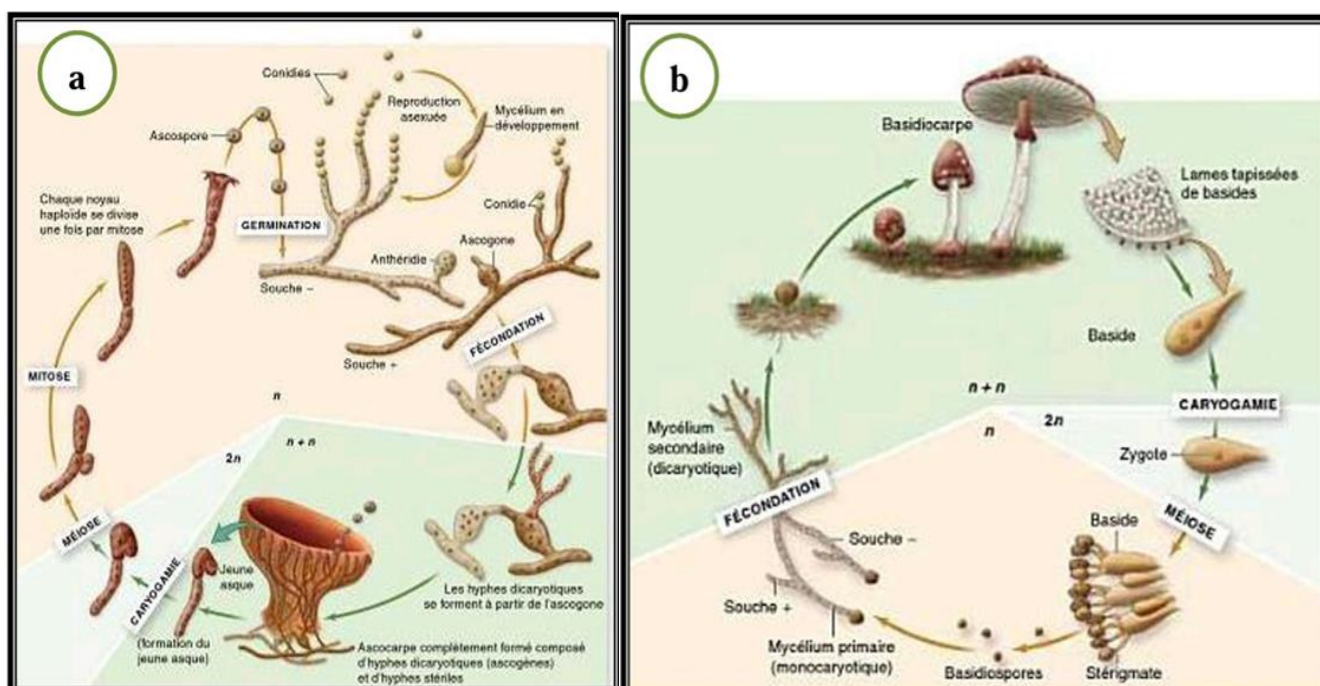


Figure 04: Cycle de développement d'un champignon supérieur (Raven et al., 2011)

(a) : Ascomycète. (b) : Basidiomycète

I.7. Champignons telluriques phytopathogènes :

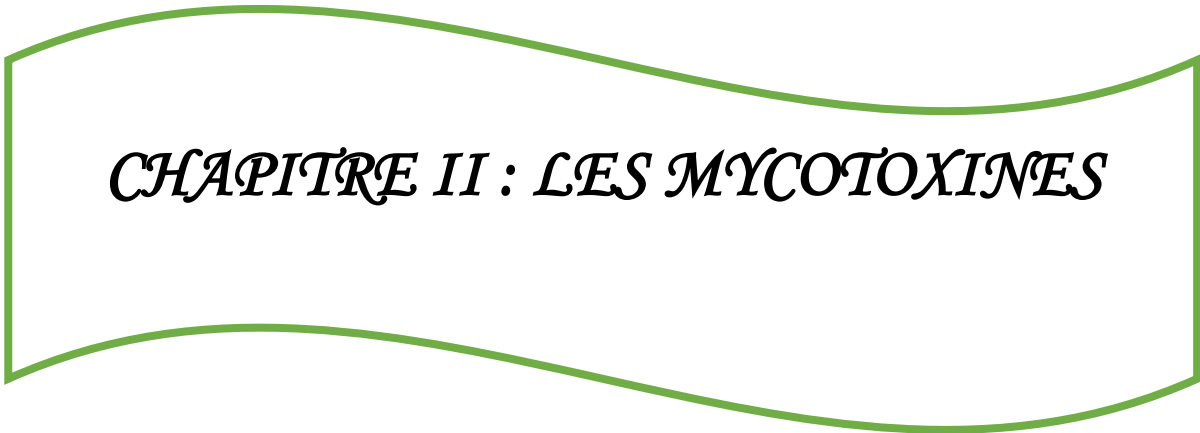
Les champignons telluriques phytopathogènes (fungi ou mycètes) constituent un groupe d'organismes microscopiques hétérotrophes Ubiquistes, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées (KIRK *et al.*, 2001).

Plusieurs genres de champignons telluriques sont capables d'infecter les racines de plantes sauvages et cultivées et de causer des dégâts importants. Il s'agit notamment des *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Pythium*, *verticillium*... L'ensemble de ces microorganismes provoquent des maladies sur diverses cultures maraîchères, céréales, plantes, (AGRIOS, 2005).

I.8. Application des champignons :

- ❖ **En charcuterie** : Les champignons interviennent soit comme contaminants soit pour donner en charcuterie l'aspect blanc extérieur du saucisson. Des bactéries lactiques sont aussi utilisées.
- ❖ **Dans les préparations culinaires** : Les champignons peuvent faire partie des repas (champignons de Paris, cèpes...) ou intervenir dans l'arôme des mets (truffes). Ils interviennent dans les dans des préparations comme la choucroute (levures). En Asie surtout mais parfois aussi en Afrique les champignons sont très culinaires utilisés dans les préparations culinaires particulières de ces pays. De très nombreuses sortes de champignons servent : *Aspergillus*, *Mucorales*, *Levures*...
- ❖ **Dans la fabrication des additifs** : Des molécules sont souvent ajoutées à des aliments pour faciliter la préparation, améliorer la présentation, améliorer les qualités organoleptiques ou faciliter la conservation. Ces additifs peuvent être chimiques mais sont souvent apportés par des champignons:
 - 🌈 des acides organiques comme l'acide citrique (*Aspergillus niger*, *P. citrinum*)
 - 🌈 des enzymes utilisées dans la préparation du pain (hydrolyse de l'amidon par amylases d'*Aspergillus*), la coagulation du lait (pseudoprésures de *Mucorales*).
- ❖ **Dans la lutte biologique** : Un certain nombre de champignons sont utilisés pour tuer des insectes dans la lutte ou vers nuisibles; *Beauveria bassiana* peut parasiter les insectes, *Arthrobotrys superba* les nématodes.

- ❖ **Dans la fabrication des médicaments:** Le premier antibiotique, la pénicilline, est le fruit d'un champignon *Penicillium notatum*. Ajoutons la cyclosporine très important immunosuppresseur utilisé pour les greffes. De nombreuses protéines issues du génie génétique sont aujourd'hui fabriquées par des levures. C'est le cas du vaccin contre l'hépatite B. L'avantage des levures réside dans leur nature eucaryote pour la synthèse des protéines et la facilité de leur culture par rapport aux cellules animales en culture.



CHAPITRE II : LES MYCOTOXINES

II. Généralités sur les mycotoxines :

II.1. Définition des mycotoxines :

Le terme mycotoxine vient du grec « mycos » qui signifie champignon et du latin « toxicum » qui signifie poison. Les mycotoxines sont considérées parmi les contaminants alimentaires les plus significatifs en terme d'impact sur la santé publique et l'économie de nombreux pays (**SAMSON *et al.*, 2000**). La majorité des espèces fongiques connues productrices de la plupart des mycotoxines appartient aux genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria* à cause de leur nature ubiquitaire (**SIDHU, 2001**).

Ce sont des métabolites secondaires peu volatiles, élaborés par diverses moisissures sous certaines conditions environnementales. A l'heure actuelle seules certaines espèces de moisissures sont connues comme ayant la capacité de produire des toxines. Leur biosynthèse est dépendante de plusieurs facteurs, dont la température, l'intensité lumineuse, le dioxyde de carbone dans l'air, les éléments nutritifs disponibles et la présence et la présence d'autres espèces en compétition (**HENDEY *et al.*, 1993**).

Chaque mycotoxine n'est pas nécessairement spécifique à une moisissure donnée. La gliotoxine, par exemple : peut aussi bien être produite par *Aspergillus fumigatus* que par *Trichoderma viridae*. De même, une moisissure donnée peut produire plusieurs toxines : *Aspergillus fumigatus*, agent étiologique de certaines atteintes pulmonaires, fabrique plus de huit toxines différentes (**MAHEUX, 1998**).

II.2. Principales mycotoxines:

II.2.1. Aflatoxines :

Les aflatoxines (AFs) substances sont produites par des espèces d'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus nomius* (**KURTZMAN *et al.*, 1987**). Elles sont extrêmement toxiques et leurs effets secondaires incluent : la carcinogénicité, la mutagénicité, la tératogénicité et l'immunosuppression (**EATON & GALLAGHER, 1994**). Les aflatoxines les plus rencontrées dans la nature sont : AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 et AFM1. Parmi les aflatoxines, l'AFB1 est la plus

fréquente et la plus toxique. Elle est considérée comme étant le plus puissant hépatocancérigène pour les mammifères et elle est classée en tant que cancérigène probable du groupe 1 par l'agence internationale de la recherche sur le cancer (IARC) (IARC, 1993).

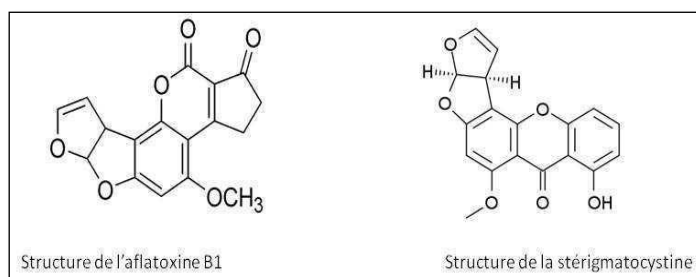


Figure 05 : Structure de l'aflatoxine B1 et de la stérigmatocystine (GHERRAS S, El HIMER N. 2017).

II.2.2.Ochratoxine A :

L'ochratoxine A est un dérivé de phénylalaninyl produit par des espèces du genre *Penicillium* et *Aspergillus* (PITT & HOCKING, 1997). L'OTA est connue par ses propriétés néphrotoxiques, cancérogènes, immunotoxiques, génotoxiques et tératogènes pour toutes les espèces animales testées (PITT *et al.*, 2001). En effet, l'agence internationale de recherche sur le cancer (IARC) a classé l'OTA dans le groupe 2B comme un composé cancérigène pour l'Homme (IARC, 1999). Elle est caractérisée par une longue demi-vie d'élimination (environ 35 jours dans le sérum), à cause de sa liaison aux protéines plasmatiques, sa circulation entéro-hépatique et sa réabsorption dans l'urine (STUDER-ROHR *et al.*, 2000).

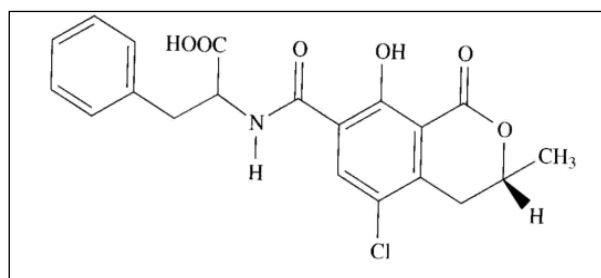


Figure 06 : Structure chimique de l'ochratoxine A (OTA) (GHERRASS, El HIMERN 2017).

II.2.3.Zéaralénone :

La zéaralénone (ZEN) est une mycotoxine de structure œstrogénique non-stéroïde produite par des espèces du genre *Fusarium* tel que *Fusariumgraminearum* et *Fusariumculmorum*(**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 et hématotoxiques(**ABBES et al.,2006**).

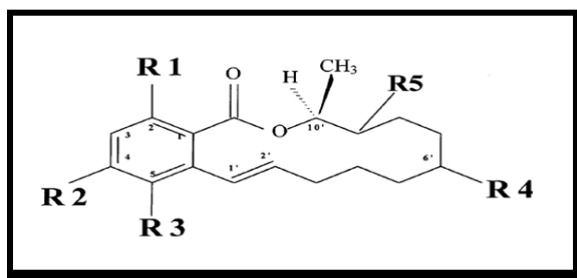


Figure 07 : Structure chimique de la zéaralénone (WILLIE et MOREHOUSE, 1977).

II.2.4.Trichothécènes :

Les trichothécènes sont un groupe de mycotoxines produites principalement par des espèces appartenant aux genres *Fusarium*, *Myrothecium*, *Phomopsis* et *Trichoderma*. Toutes les trichothécènes ont en commun un 12, 13-époxytrichothécène et un acide olifénique avec une variété de substituants (**BENNETT & KLICH, 2003**).

Les trichothécènes sont classées en 4 groupes A, B, C et D selon leur structure chimique. 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 (**WHO, 1990**).

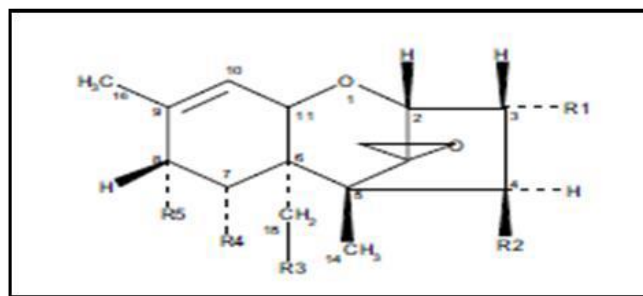


Figure 08 : Structure générale semi développée des trichothécènes (IPCS, 1990).

II.2.5.Citrinine :

La citrinine (CIT) est produite principalement par *Penicillium citrinum* mais aussi par *Penicillium expansum* et *Penicillium verrucosum* et quelques espèces du genre *Aspergillus* et *Monascus* (LI *et al.*, 2003). La CIT est toxique pour l'Homme et l'animal (CAST, 2003). Plusieurs études ont montré que la CIT est cytotoxique, génotoxique, mutagène, immunotoxique et tératogène (BOUSLIMI *et al.*, 2008). La toxicité de cette mycotoxine est due à sa propriété néphrotoxique (CHAGAS *et al.*, 1992).



Figure 09 : Structure de la citrinine (www.alamyimages.fr 2021)

II.2.6. Fumonisines :

Les fumonisines sont synthétisées principalement par plusieurs espèces du genre *Fusarium* y compris *Fusarium verticillioides* et *Fusarium proliferatum* (CHEN *et al.*, 1992). Plusieurs fumonisines sont isolées et caractérisées mais FB1, FB2 et FB3 sont les plus fréquemment détectées dans les produits alimentaires. La FB1 est un diester d'acide propane-1,2,3- tricarboxylique.

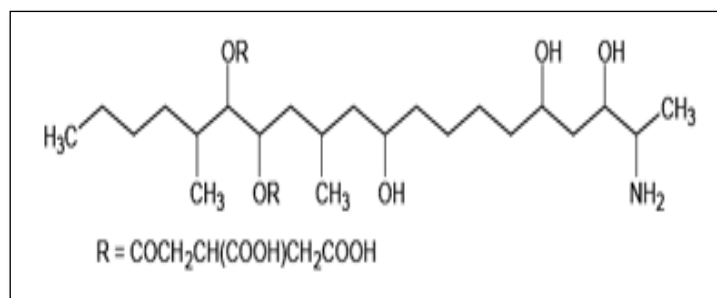


Figure 10 : Structure de la fumonisine B1 (GHERRAS et El HIMER. 2017).

L'incidence du cancer oesophageal dans certains pays est liée à la contamination du maïs par les fumonisines (CHU & LI, 1994). Ces substances ont été prouvées responsables de la promotion du cancer du foie chez plusieurs espèces animales (GELDERBLOM *et al.*, 1992).

II.3. Biosynthèse des mycotoxines :

Les mycotoxines font partie des métabolites secondaires, qui ne jouent pas de rôle évident dans le métabolisme du microorganisme. Ce sont probablement un moyen de défense pour les champignons contre les parasites ou contre les autres micro-organismes en concurrence dans le même environnement (ADAMS, 2002).

Ces composés non essentiels au métabolisme basique des moisissures sont produits au cours de l'idiophase (phase stationnaire) à partir des précurseurs issus du métabolisme primaire, tels que l'Acétyl-CoA, les acides aminés, les phénols ou les composés terpéniques. Les voies de biosynthèse sont longues et complexes et les réactions sont catalysées par des enzymes de spécificité différente de celle du métabolisme primaire. Contrairement au métabolisme primaire, qui est fondamentalement le même pour tous les êtres vivants, le métabolisme secondaire dépend de l'espèce considérée, et très souvent de la souche. La nature des métabolites secondaires, très hétérogènes, dépend des caractères individuels de la souche et des conditions environnementales (STEYN, 1980).

Le métabolisme secondaire, très important chez les moisissures, aboutit à une grande diversité de molécules dont les mycotoxines. Ces produits sont très souvent classés par famille de produits chimiquement voisins (les aflatoxines, les

trichothécènes, etc.). Elles ont trois origines biosynthétiques principales : la voie des polyacétates, celle des terpènes et celle des acides aminés (TABUC, 2007).

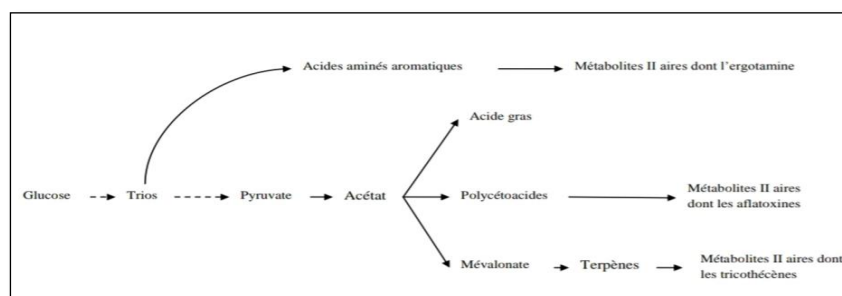


Figure 11 : Biosynthèse des mycotoxines (LEYRAL *et al.*..., 2007).

II.4. Facteurs influençant la production des mycotoxines :

II.4.1. Champignons toxigènes :

Le type et la quantité de mycotoxine dépendent des espèces fongiques qui les produisent (LACEY, 1986). Elles diffèrent dans leur caractère morphologique, génétique et dans leurs places écologiques. Les champignons toxigènes peuvent être classés en deux groupes principaux :

- Les champignons de champs qui contaminent les produits agricoles avant ou pendant la récolte, principalement *Fusarium* et *Alternaria* mais aussi des *Aspergillus* dans le cas des raisins.
- Les champignons de stockage (par exemple les *Penicillium* et *Aspergillus*) qui tendent à contaminer les denrées alimentaires pendant leur stockage (CHRISTENSEN, 1974).

II.4.2. Facteurs environnementaux :

Les facteurs environnementaux affectant la production de mycotoxine sont d'origine physique, chimique ou biologique (MITCHELL *et al.*, 2004).

a. Activité de l'eau :

L'activité hydrique nécessaire à la toxinogénèse est supérieure à celle permettant la croissance fongique. Par exemple, *Penicillium verrucosum* peut se développer à partir d'une AW de 0,80 ; par contre, la production d'OTA n'est

possible que lorsque l'AW est supérieure ou égale à 0,85 (CAIRNS-FULLER *et al.*, 2005).

La formation des aflatoxines par *Aspergillus flavus* nécessite une valeur d'AW comprise entre 0,83 et 0,87 mais la croissance du microorganisme peut avoir lieu à des valeurs d'AW plus basses (TROLLER, 1980).

b. PH :

Comme pour l'aw, la gamme de pH permettant la toxinogénèse est plus restreinte que celle permettant la croissance fongique. En effet, ont démontré que la production de fumonisine B1 est maximale à un pH compris entre 3,7 et 4,2 (KELLER *et al.*, 1997)

c. Présence d'oxygène :

Généralement, la production de mycotoxines est plus sensible à la variation de la composition de l'air que la croissance fongique. La réduction de la pression partielle en oxygène jusqu'à moins de 1% et l'accroissement des concentrations de CO₂ empêchent l'élaboration des mycotoxines. Par contre, *F. roseum*, dans une atmosphère confinée, peut encore élaborer de la zéaralénone. Après conservation dans une atmosphère confinée, dans laquelle les moisissures peuvent plus ou moins se développer, la remise à l'air libre ou la ventilation provoque rapidement une intense toxinogénèse (CAIRNS-FULLER *et al.*, 2005).

d. Température :

La température optimale pour l'élaboration des mycotoxines est généralement proche de la température optimale de croissance, mais, le plus souvent, légèrement inférieure, par exemple la température optimale pour la production d'OTA par *A. ochraceus* est comprise entre 25 et 30°C (RAMOS *et al.*, 1998). Par contre la température optimale pour la croissance de *Fusarium graminearum* et *Fusarium roseum* est de 25°C, mais la synthèse de la zéaralénone peut avoir lieu à 15°C. La température optimale pour la production de fumonisine B1 dans le maïs est 30°C pour *F. moniliforme* et 15°C pour *F. proliferatum* (MARIN *et al.*, 1999).

e. Composition du substrat :

La composition qualitative et quantitative des substances nutritives (surtout les glucides, principale source de carbone chez les moisissures) peut influencer la production des mycotoxines. La présence de quelques substances dans les aliments, comme le saccharose et les acides aminés, stimule la croissance fongique ainsi que l'élaboration des mycotoxines (**PFOHL-LESZKOWICZ, 2001**).

II.4.3. Influence du substrat :

La nature du substrat joue un rôle primordial dans la croissance fongique. Dans le cas des céréales par exemple, c'est presque toujours au niveau du germe du grain que se manifeste l'attaque par les moisissures (**PFOHL-LESZKOWICZ, 2001**).

Les mycotoxines sont produites par de nombreuses moisissures dotées génétiquement d'un pouvoir toxigène. Cependant la nature du substrat peut influencer l'expression du pouvoir de sécrétion des toxines (**REBOUX, 2006**).

Il est important de noter que des différences dans cette expression, peuvent être observées au sein d'une même espèce et expliquer les différences de pouvoir toxigène observées entre "souches". En outre, des souches au sein d'une même espèce ne disposent pas toutes du système enzymatique requis pour la production des mycotoxines (**NICHOLSON et al., 2003**).

Ainsi les progrès de la chémotaxonomie ont permis de démontrer que pour une même espèce les profils des substances produites sont différents si on prélève le champignon sur le substrat naturel ou à partir d'une culture en boîte de Pétri. L'exemple le plus parlant concerne *Penicillium roqueforti*, incapable de produire une toxine sur le fromage de Roquefort, alors qu'*in vitro* il est en mesure de sécréter un métabolite très toxique (**CHAPELAND et al., 2005**).

II.4.4. Interaction microbienne :

La compétition pour les nutriments et l'espace est un phénomène rencontré fréquemment dans le monde vivant. La présence simultanée de plusieurs espèces de microorganismes dans le même milieu détermine les interactions entre les différentes espèces. La synthèse des mycotoxines et leur accumulation dans le milieu peut aussi

avoir un effet inhibiteur sur le développement de certaines espèces microbiennes (PFOHL-LESZKOWICZ, 2001).

II.5. Réduction de la toxicité fongique :

Les origines de la contamination des plantes par les moisissures et leurs mycotoxines sont multiples. Ainsi, toute stratégie de prévention de la contamination fongique doit être appliquée tout au long de la chaîne alimentaire. Trois étapes d'intervention ont été identifiées. La première consiste à éviter l'infestation par les champignons, la deuxième doit avoir lieu au cours de l'invasion des végétaux par les mycètes et la production des mycotoxines et la troisième est réalisée lorsque les produits agricoles s'avèrent contaminés par les mycotoxines (JOUANY, 2007). Au cours de cette partie, on va s'intéresser seulement aux stratégies appliquées au cours de la récolte et au stockage et puisque il n'y a pas de données sur le sorgho, les mesures citées par la suite ont été déterminées par des travaux réalisés sur d'autres céréales comme le blé et le maïs.

II.5.1. Contrôle du niveau d'humidité avant et pendant le stockage :

La teneur totale en eau est un facteur limitant pour la croissance et l'activité fongique. Une a_w supérieure à 0,65 est nécessaire pour le métabolisme fongique. Un niveau total d'eau supérieur à 150 g/kg est suffisant pour que les champignons restent vivants bien que de grandes différences existent entre les espèces fongiques. *Aspergillus* spp., qui est le champignon le moins exigeant, peut se développer dans un niveau bas d'humidité (de 13,5 à 18%), tandis que *Fusarium* spp. a besoin d'une humidité de 17% à 19% (BIRZELE *et al.*, 2000).

II.5.2. Contrôle de la température pendant le stockage :

Outre l'humidité, la température régnant au cours du stockage affecte la croissance et l'activité fongiques. L'accumulation des grains dans le silo immobilise de grands volumes d'air, ce qui représente un bon isolant thermique. En outre, la rotation des grains de temps à l'autre peut diminuer la présence des taches d'humidité à l'intérieur du silo (JOUANY, 2007).

II.5.3. Traitement thermique :

La plupart des mycotoxines sont thermostables. Cependant, plusieurs études ont montré que la concentration de quelques mycotoxines peut diminuer sous l'effet

de la chaleur. **DUPUY *et al.*, (1993)** ont montré que le contenu en FB1 suit une cinétique de décomposition du premier degré en fonction de l'augmentation de température.

II.5.4. L'irradiation :

L'irradiation Gamma a été testée pour réduire la contamination des grains ou des aliments destinés à l'alimentation humaine et animale par les spores ou pour dégrader les mycotoxines déjà produites dans les aliments. L'irradiation Gamma à 5 kGray inhibe la croissance des *Fusarium* spp. et la formation des mycotoxines dans les grains (**AZIZ & MOUSSA, 2004**).

II.5.5. Traitements chimiques :

L'usage de l'hydroxyde d'ammonium ou l'ammoniac gazeux est une procédure efficace pour réduire les aflatoxines dans les aliments des animaux. Appliqué au maïs contaminé par les fumonisines pendant 4 jours à 50°C et sous pression atmosphérique, l'ammoniac a diminué de 30 à 45% le contenu de FB1 mais n'a pas changé la toxicité chez les rats (**NORRED *et al.*, 1991**).

II.5.6. Traitements biologiques :

Les méthodes physiques et chimiques développées pour prévenir l'envahissement par les champignons ou la réduction des mycotoxines sont parfois peu efficaces et limitées à cause de plusieurs obstacles tels que le coût onéreux de ces méthodes et la dégradation ou l'inactivation partielle des mycotoxines. Par conséquent, la biopréservation ou le contrôle d'un organisme par un autre a reçu beaucoup d'attention au cours des dernières années (**MAGNUSSON *et al.*, 2003**). Parmi les antagonistes biologiques naturels, les bactéries lactiques ont plusieurs possibilités d'application (**DALIE *et al.*, 2010**). Ces microorganismes, qui font partie de la flore intestinale, sont largement utilisés dans l'industrie agro-alimentaire pour la production des aliments fermentés. Les bactéries lactiques produisent plusieurs antagonistes capables de contrôler les bactéries pathogènes et la flore de détérioration. L'utilisation des bactéries lactiques pour contrôler les moisissures peut être une alternative intéressante aux méthodes physiques et chimiques pour leurs propriétés antimicrobiennes importantes (**DALIE *et al.*, 2010**).



PARTIE II: ETUDE EXPERIMENTALE

*CHAPITRE I : MATERIEL ET
METHODES*

I.1. Matériel et Méthodes :

I.1.1. Matériels :

Le présent travail port sur contribution à l'identification et à l'évaluation de toxicité de certaines espèces fongiques à intérêt agricole. Ce travail a été initié et réalisé dans le laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université El-ChahidHamma Lakhdar d'El-oued.

I.1.1.1. Matériel végétal :

Les échantillons sont été prélevés à partir de différents vendeurs d'ail et de pommes de terre dans la wilaya d'- El oued (la ville de Guémar).



Figure 12 : Echantillons de pomme de terre et d'ail utilisés (photo originale, 2021)

I.1.1.2. Matériel de laboratoire :

Les matériels utilisés dans notre étude sont :

- **Matériel de laboratoire et Verrerie :**

Ans de platine ; Autoclave ; Bc bunsen ; Balance analytique ; Coton stérile ; Eprouvette 500 ml ; Erlenmeyer ; Etuve ; Hotte à flux laminaire ; Lame et lamelle ; Micropipette 5 à 50 μ L, 1000 μ L ; Microscope optique; Papier filtre; Pince; Plaque chauffante; Réfrigération; Spatule; Portoir des tubes; Béchers; Boîtes de Pétri; Cuve d'élution; Pipettes graduées Tubes à essais.

▪ Milieux de culture et réactifs

Milieu OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline) ; Milieu PDA (Agar Dextrose Potatoes) ; Milieu Sabouraud ; Eau distillée stérile ; Lactophénol.

I.1.2. Méthodes d'étude :

I.1.2.1. Préparation de la culture de l'implant :

Nous avons fait venir 06 flacon hôte, nous les avons mis dans un autoclave pendant 45 minutes, puis nous les avons mis dans un pack ouvert de cinq minutes. On verse un énorme 05cm d'implants dans la boîte de Pétri et on vous montre à sécher pendant 20 minutes jusqu'à ce que ce soit Gélose, puis on ferme les boîtes de Pétri et on les met au frigo pendant 24 heures.



Figure 13 :Préparation de la culture de l'implant (photo originale, 2021)

I.2.2. Implantation d'échantillons infectés en contexte de transplantation:

Nous avons obtenu deux échantillons : Échantillon de pomme de terre infectée par genre *Internaria*, et un échantillon d'ail infecté de la rouille (remarque : Les deux échantillons sont infectés à un niveau feuilles).

I.2.3. Isolement, ensemencement et incubation :

- ✚ Laver les deux échantillons avec de l'eau émaillée, puis nous les avons trempés à Becher avec 100ml de javel, puis à Becher avec 100 ml d'eau physiologique.
- ✚ Couper les échantillons avec un désinfectant à l'eau physiologique ciseaux de 01cm et les avons mis dans Van Dumont, d'autre part nous stérilisons les cascades de Bac benzenet on commence par prendre 03 morceaux d'yeux et les implanter dans des boîtes de Pétri avec un PDA et un OGA en forme de triangle. Nous le fermons et le plaçons à l'envers dans l'incubateur pendant 05 jours à une température (27°C - 30°C) jusqu'à l'obtention des souches fongiques pures (LAOUID et NEFTIA, 2007)

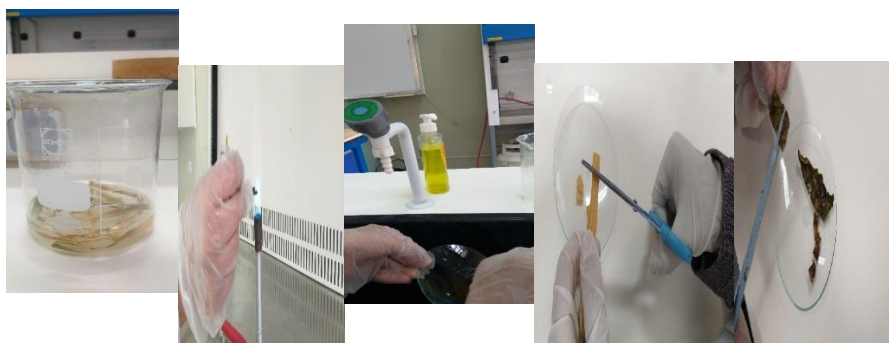


Figure 14 : Isolement des champignons de Pomme de terre et d'Ail (photo originale, 2021)

L'ensemencement se fait toujours dans la zone stérile du bec Bunsen. Ont apporté 04 tubes et les avons lavés avec de l'eau du robinet et ensuite avec de l'eau physiologique, On Prélève 100ml de chaque suspension dilution pour chaque échantillon avec une Pipete stérile et on les déverse dans une boite de pétri préparée à cet effet. On étale à L'établir jusqu'à homogénéisation de la suspension sur la surface de milieu de culture. Sur les boites ensemencées on indique le milieu de culture et nom des maladies (**BOUGHACHICHE *et al.*, 2005**).

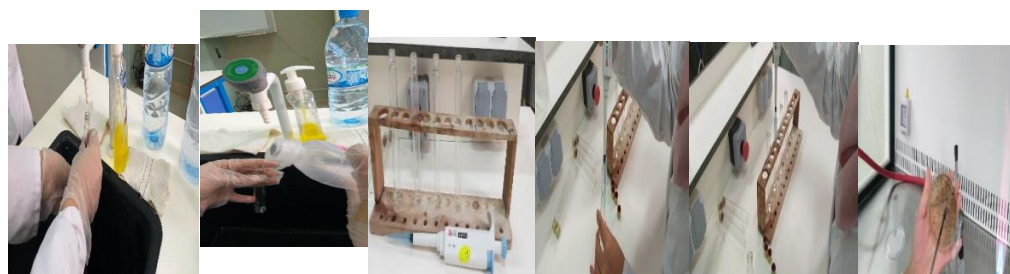


Figure 15 : Technique d'ensemencement adoptée (photo originale, 2021)

Les boites ensemencées sont portées à l'incubation à l'étuve à une température De 27°C à 30°C pendant 05 jours jusqu'à apparition d'un bon développement des Champignons.

I.2.4. Observation macro et microscopique des résultats de l'expérience :

Nous avons sorti les boîtes de Pétri de l'incubateur et les avons lues à l'œil nu dans l'hôte autour de Bec bunsen, identifiant les boîtes de Pétri où les champignons sont apparus le plus Clair. Les deux échantillons ont une boîte de Pétri contenant des implants PDA et OGA. Nous avons apporté 04 tubes et les avons lavés avec de l'eau du robinet et ensuite avec de l'eau physiologique. D'autre part, nous avons pris 100

ml d'eau physiologique avec des battements de 100 ml que nous avons mis dans chacun des quatre tubes.

Une partie du spécimen infecté (provenant de chaque boîte de Pétri PDA pour les pommes de terre et l'ail, ainsi que l'OGA pour les pommes de terre et l'ail) a été prélevée par un anse de platine et placée dans les tubes suivants, on se penche jusqu'à ce que l'échantillon soit décomposé.

Nous avons apporté quatre implants du frigo (02 PDA et 02 OGA) et avons ajouté le contenu des quatre tubes susmentionnés, et on le déploie à la surface de l'implant par Anse de platine, puis on ferme les quatre boîtes de Pétri et on les met dans l'incubateur pendant 03 jours à degrés température (27C°- 30C°).

I.2.5. Repiquage :

Après un bon développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque Colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné.

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement. Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen (**Guiraud, 1998**).

I.2.6. Conservation des moisissures :

Pour favoriser la viabilité, et limiter les possibilités de variation des moisissures isolées, on procède à la conservation sur gélose inclinée.

Après purification et obtention de cultures pures, les isolats obtenus ont été repiqués dans des tubes à essai contenant le milieu PDA incliné. Les cultures ont été conservées à 28° C pendant une semaine puis conservées à 4° C. Le repiquage et la conservation des isolats sont répétés tous les trois mois(**Botton, 1990**).

I.2.7. Identification des souches sélectionnées :

La détermination systématique d'une souche est basée sur deux types d'observation : macroscopiques et microscopiques.

- **Observation macroscopique :**

On s'intéresse à l'aspect, la forme, la couleur et la vitesse de croissance des colonies. Ces observations se font à l'œil nu et à la loupe binoculaire.

- **Observation microscopique :**

Juste après l'observation macroscopique, on procède au prélèvement d'un fragment à l'aide d'un pique stérilisé à la flamme qu'on monte dans une goutte de lactophénol, et une goutte de l'eau physiologique entre lame et lamelle et qu'on porte à l'observation microscopique au différents grossissements en générale (40X et 100 X) (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

I.2.8. Critères d'identification des moisissures :

L'identification des moisissures fait essentiellement appel aux caractères cultureux et à la morphologie, rarement à des propriétés biochimiques ; elle nécessite souvent l'utilisation des milieux standards favorisant la croissance ou la reproduction et permettant ainsi une expression correcte des caractères à étudier : *Alternaria sp* et *Greulais Rusten* particulier, à savoir :

- ✓ Vitesse de croissance
- ✓ Texture de thalle (veloute, laineux, etc....).
- ✓ Couleur de thalle (pigmentation du mycélium, couleur des conidies).
- ✓ Couleur de revers de la culture et présence d'un pigment diffusible.
- ✓ Odeur.
- ✓ Exsudat (gouttelettes transpirées par le mycélium aérien).

Tous les caractères doivent être notés avec précision en utilisant, la précision du microscope et l'huile d'immersion qui déterminent exactement les dimensions du thalle et le contenu des conidiospores (**BOTTON et al, 1990**).

I.2.9. Etude de l'activité antifongiques des fongicides synthétiques :

Différents produit synthétiques (P1, P2, P3, P1*, P2*) sont testées pour leur pouvoir antifongique suivant la méthode de diffusion par des disques et la méthode de dilution. Les produits antifongiques utilisés lors de la présente étude sont :

- ✓ P1 : Fongicide Consentio
- ✓ P2 : Fongicide Amistar top
- ✓ P3: Fongicide Equation pro
- ✓ P1*: FongicideAgriculazole

✓ P2*: Fongicide Agrium

a. Préparation de différentes doses des produits antifongiques

Trente (30) tubes à essai sont placés sur un support et ajouter 5 ml d'eau physiologique à chaque tube, et trois doses diluées (D1, D2, D3) sont ajoutées à chaque tube de chaque produit fongicide synthétique spécifique à une souche de champignons (**Annexe : Tableaux 01**).

b. Méthode de diffusion sur disques :

Afin de déterminer l'activité antimicrobienne des extraits obtenus après dilution dans l'eau physiologique. La méthode de diffusion sur disques a été utilisé (**HAZALIN *et al.*, 2009**). Les boîtes contenant du Sabouraud ont été inoculées avec 2 ml de champignon respectivement (**MOHANTA *et al.*, 2008**).

Chaque extrait fongique a été dissous dans du l'eau physiologique de façon à obtenir une concentration de 1mg/ml, 500µl de chaque dose (D1, D2, D3) extrait ont été déposé à l'aide d'une pipette sur les disques stériles (6 mm de diamètre) placés à la surface des géloses préalablement inoculés avec les champignons (**HAZALIN *et al.*, 2009**).

Les boîtes ainsi terminées ont été mise pendant 2 heures à 4°C afin que les métabolites puissent diffuser ensuite elles ont été misent à incuber à 30°C pendant 72 heures pour les champignons. Le diamètre des zones claires autour des disques révélant l'activité antimicrobienne des extraits ont été mesuré et les tests ont été effectués en triplicata (**YAMAÇ *et ILGILI*, 2006**).

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**).

NB : utilisation des dose D1, D2, D3, D1*, D2* pour chaque produit fongique

c. Méthode de dilution dans un milieu gélosé :

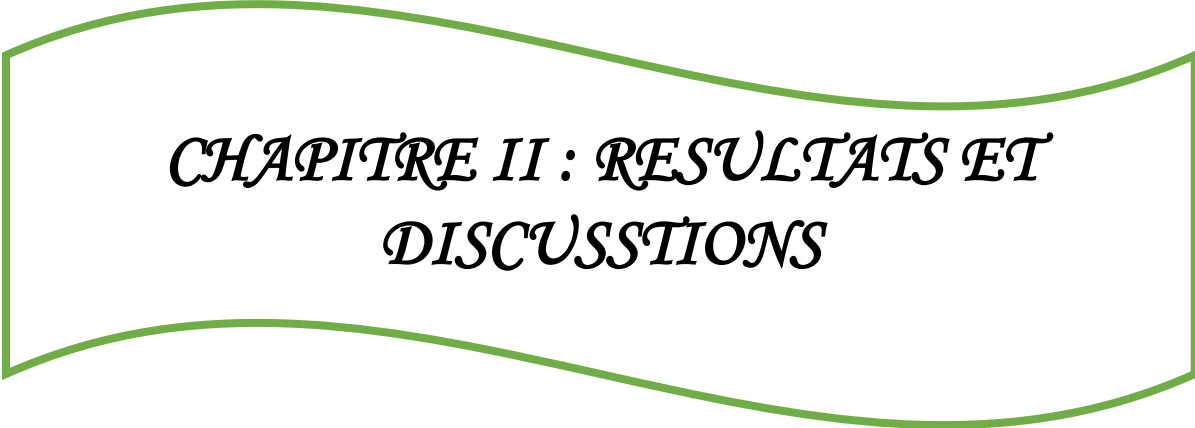
La méthode utilisé pour évaluer l'activité antifongique des extraits est la méthode de dilution dans un milieu gélosé, l'extrait à tester est incorporée dans le milieu gélosé et alors un disque mycélien activement grandissant est placé au centre

de la boîte de Pétri. La croissance radiale du mycète après un temps approprié, selon les caractéristiques de croissance du champignon, est alors mesurée et comparée aux échantillons témoins (WILKINSON, 2006).

Trente-deux virgule cinq grammes (32,5g) de milieu Sabouraud est additionner au 500ml d'eau distillée et chauffe le sur plaque chauffante dans le but de préparer 4 flacon de milieu de la culture ; Le milieu est stérilisé à l'autoclave à 120 C pendant 20 mn. Aprèsrefroidissement à 60 °C environ, le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire.

Cinq produits fongicides de synthèse dilués dans 5 ml d'eau physiologique ont été combinés en trois doses avec du milieu Sabouraud dans des boîtes de Pétri de 9 cm à raison de 2 ml pour dose.

Les souches de *Alternariasp* et *Garlus Rust* à tester est cultivée sur des milieux gélosés à base d'extrait Sabouraud et fongicides de synthèse contenu dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre. A partir d'une colonie âgée de dix-neuf (19) jours, trois disque mycéliens pour chaque dose de taille identique (5 mm) sont délimités à l'aide d'un tube de test. Chaque disque est ensuite déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant un des milieux de culture. Les boîtes ainsi inoculées sont incubées dans un étuve à 27°C. Les mesures ont été enregistrées dans les 7 jours.



CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

II.1. Résultats :

II.1.1 Identification morphologique de l'agent phytopathogène :

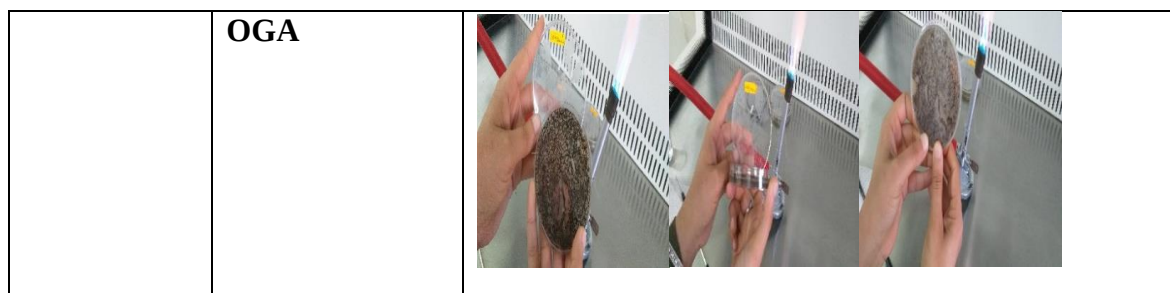
La pré-identification des genres fongiques a été réalisée selon les clés de détermination de **ZILLINSKY (1983)** ; **BOTTON *et al* (1990)** ; **LEPOIVRE (2003)** et **NASRAOUI (2006)** en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, odeur, forme, contour, etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores et conidies, forme des organes de fructification, etc.).

a. Etude macroscopique :

Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés, cultivés sur milieu PDA et OGA, récapitule l'aspect macroscopique des isolats purifiés : surface et consistance des colonies, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

Tableau 01 :Aspect macroscopique des isolats fongiques

	Milieux de culture	Etude macroscopique		
Alternaria	PDA			
	OGA			
Greulic rust	PDA			



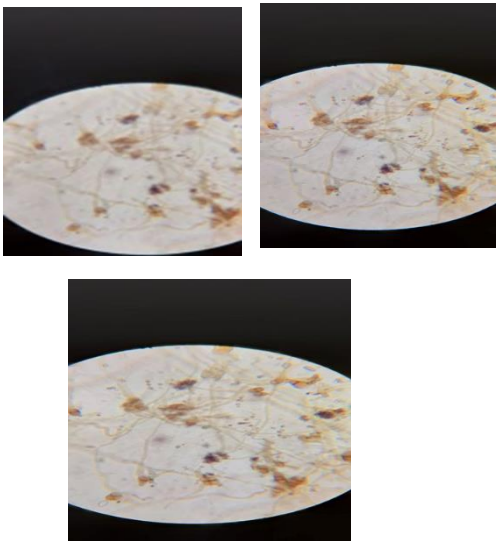
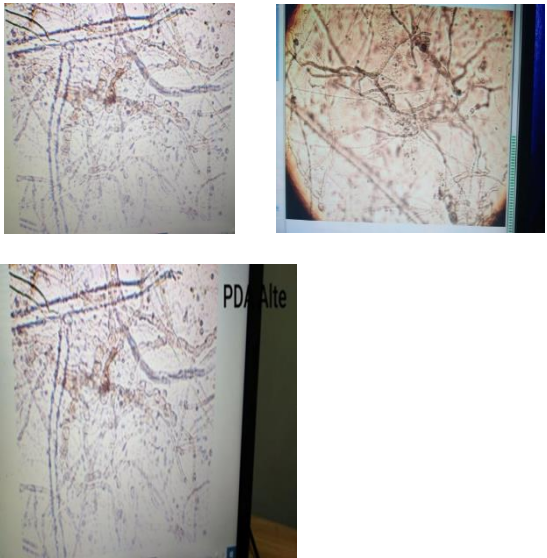
Sur la base des résultats obtenus les souches Alt1 et Alt2 sont des champignons à reproduction asexuée, ils appartiennent au Deutéromycètes. Les colonies sont de croissance rapide, de couleur, blanc-gris au début, deviennent rapidement foncées (vert foncé). La texture est duveteuse à laineuse. Les Alternaria sont des saprophytes ou des parasites de plantes très répandus (**Chabasse et al.2002**)

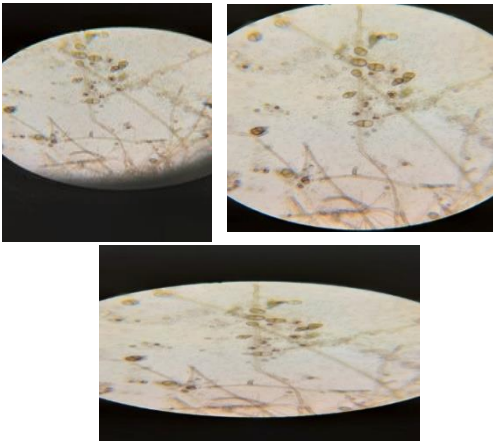
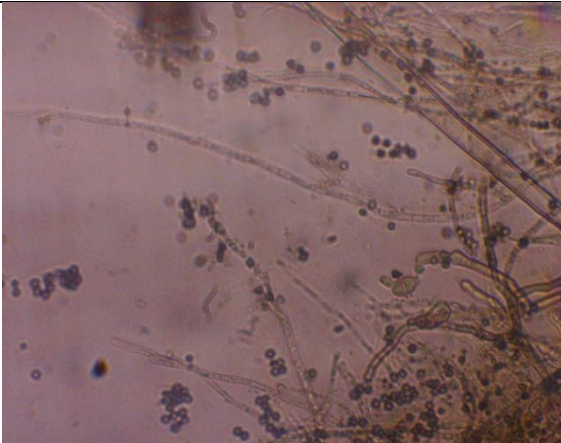
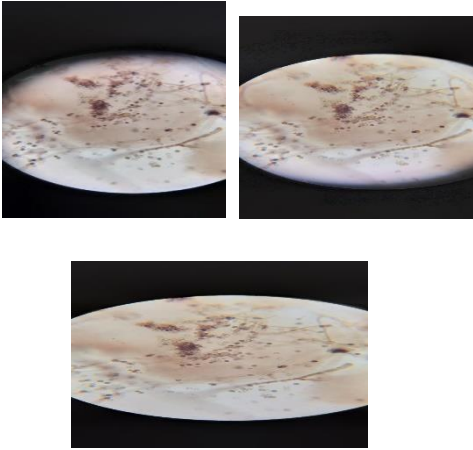
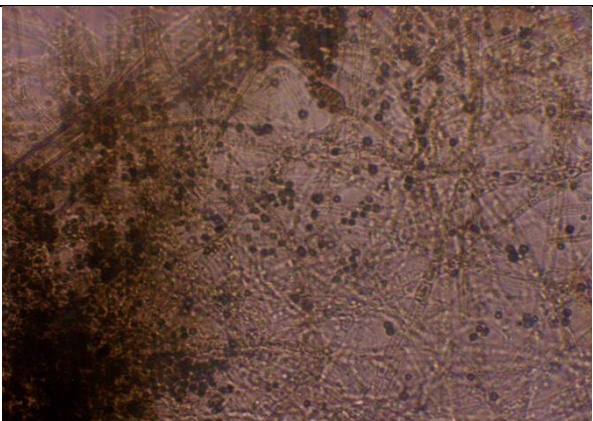
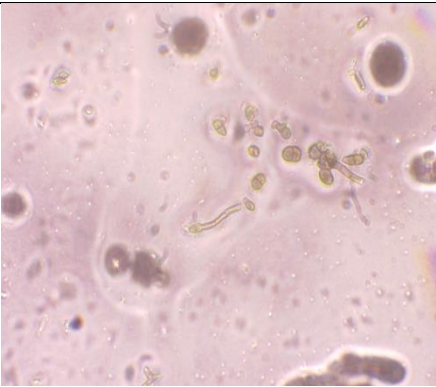
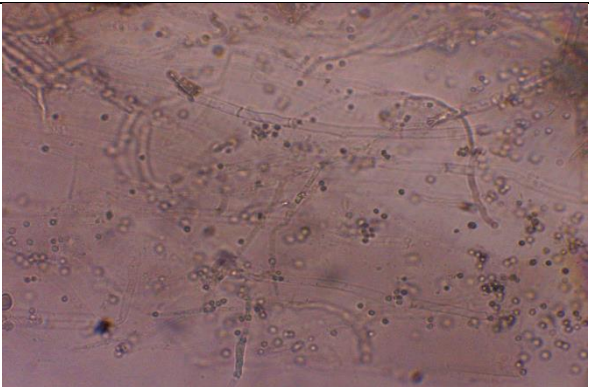
Les souches Gal1 et Gal2 présentent une texture laineuse, duveteuse à poudreuse. La couleur est brun olive à noire et le recto est noir .

b. Etude microscopique :

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

Tableau 02 :Aspect microscopique des isolats fongiques

Aspect microscopique		
	Sans coloration	Coloration par le Lactophénol
<i>Alt 1</i>		

<i>Alt 2</i>		
<i>Gar11</i>		
<i>Gar12</i>		

✚ Les souches Alt1 et Alt2 qui présentent les caractères suivants :

Les hyphes sont septés, ramifiés et tardivement certains filaments sont pigmentés en brun. Les conidiophores sont cloisonnés, bruns, septés, simples ou ramifiés, plus ou moins droits ou flexueux (géniculés). Les conidies ou porospores sont brunes, pluricellulaires, d'aspect piriforme ou ovoïde, avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongée en bec plus ou moins important. Ce sont des dictyospores. A maturité, elles présentent à la fois des cloisons transversales, obliques ou longitudinales.

Ces spores à paroi lisse ou verruqueuse et de taille importante, sont souvent disposées en chaînes. En l'absence de bec marqué, c'est la disposition en chaînes des dictyospores qui caractérise le genre *Alternaria*.

✚ Les souches Gal1 et Gal2 qui présentent les caractères suivants :

Des hyphes septés, bruns, naissent de courts conidiophores septés, non ramifiés. Les conidies (ou porospores) sont brunes, ovoïdes, à paroi lisse ou rugueuse. Produites isolément (rarement en chaînes), elles sont cloisonnées à la fois longitudinalement et transversalement (dictyospores). Elles sont plus larges à la partie distale qu'à la partie proximale où se trouve la cicatrice de libération. Ils se distinguent des *Alternaria* par des conidiophores courts fortement géniculés, des conidies sans bec et presque toujours solitaires.

II.1.2. Etude de l'activité antifongiques des fongicides synthétiques:

II.1.2.1. Méthode de dilution dans un milieu gélosé :

C'est une méthode plus simple et plus économique que la méthode de dilution au bouillon. Elle est maintenant considérée comme la méthode internationale de test de sensibilité de référence (**SCHWALBE *et al.*, 2007**).

Cette technique a été effectuée par Baron et Bruckner 1984 pour déterminer la susceptibilité des champignons à l'aide de la dilution d'agar (**RIOS *et al.*, 1988**). Dans cette méthode, la substance d'essai est incorporée à des concentrations connues dans la gélose et, une fois définies, des champignons sont appliqués sur sa surface. De cette façon, un grand nombre de champignons peuvent être criblés dans une seule opération. Les boîtes sont incubées pendant 24 h ou plus et la croissance des champignons sur le mélange extrait / agar est marquée soit présente ou absente (**BALOUIRI *et al.*, 2016**).



**Figures 16 : Colonies d'*Alternaria* sp et de *Garlic Rust* par la méthode de dilution
(photo originale, 2021)**

Les figures 17 et 18, représentent l'activité antifongique des produits fongicides synthétique contre les deux souches *Alternaria* sp:

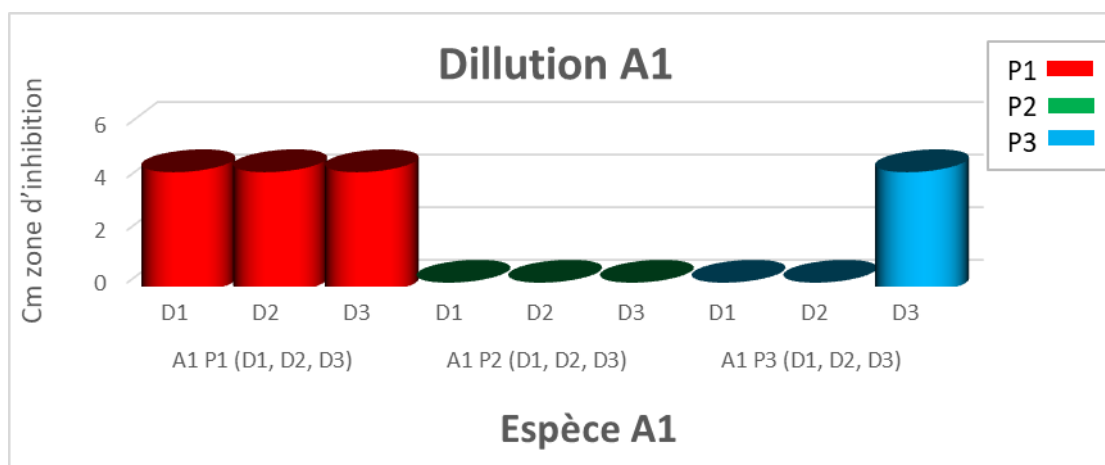


Figure 17 : Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur *Alt1* cas dilution

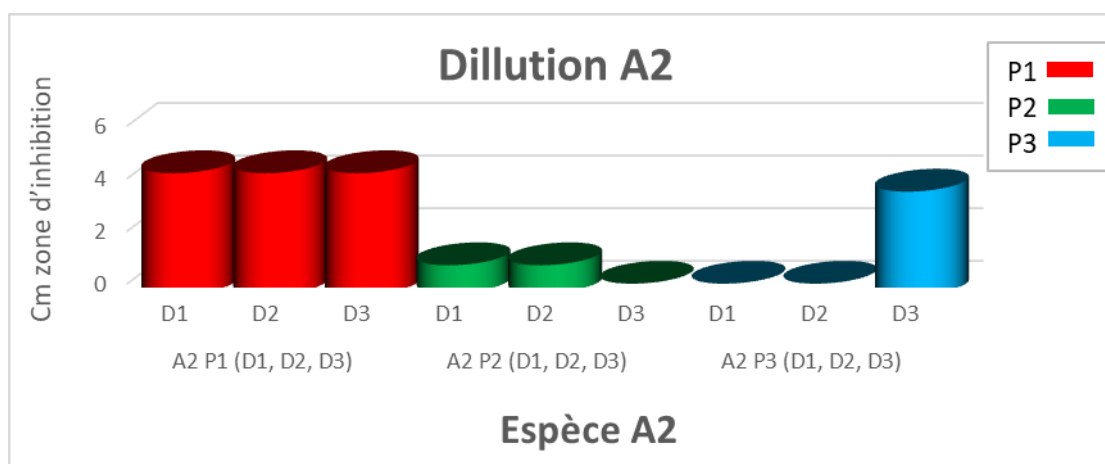


Figure 18 : Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur *Alt2* cas dilution

Les résultats, représenté sur l'histogramme des figures précédentes, révèlent qu'en plaçant le produit 1 dans milieux de cultures PDA et OGA, on a remarqué que les deux souches Alt1 et Alt2 proliféraient et se propageaient beaucoup plus haut par rapport aux produits 2 et 3, où le produit 2 était placé, la croissance était inexistante ou presque inexistante, et pour produit 3, la croissance fongique était à la dose 3 seulement.

Les figures 19 et 20, représentent l'activité antifongique des produits fongicides synthétique contre les deux souches *Garlus Rust* :

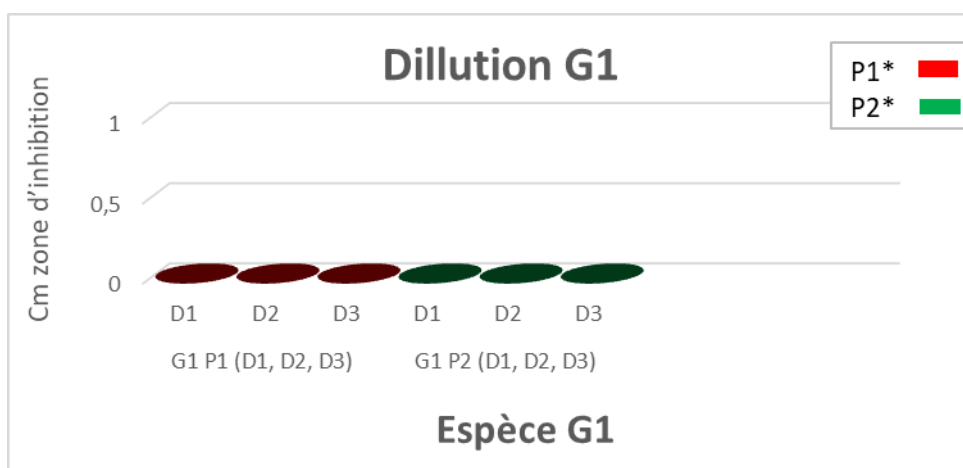


Figure 19 :Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur *Garl 1* cas dilution

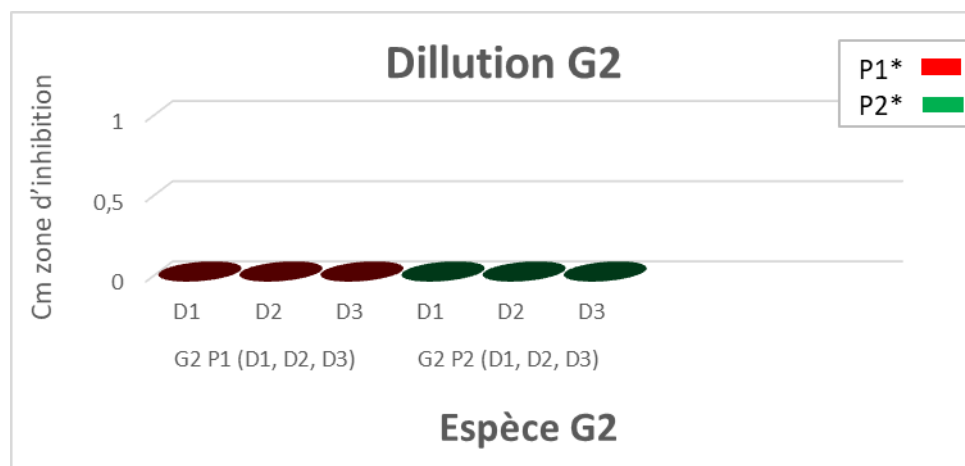


Figure 20 : Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur *Garl 2* cas dilution

L'effet des deux fongicides de synthèse sur l'abondance de mycélium, selon les résultats obtenus sur les histogrammes, il a été constaté que l'ajout des produits 1 et 2 dans milieux de cultures PDA et OGA, la prolifération et la prévalence des souches G 1 et G 2 étaient nulles à toutes les doses(D1,D2,D3).

Selon le tableau 03 : Pour Alt1, le plus grand effet a été obtenu par les fongicides Amistar top et Equation pro par toutes les doses dans lesquelles la zone d'inhibition était de 0 cm sauf pour la dose 3 pour Equation pro, contrairement à P1 à différentes doses (D1 , D2, D3) Cela n'a eu aucun effet. Pour Alt2, l'effet le plus grand a été obtenu par les fongicides Amistar top et Equation pro dont la zone d'inhibition a été de 0cm, contrairement à P1 par les différent doses (D1, D2, D3) n'ont eu aucun effet.

Selon le tableau 04 : Pour Garl 1 et Garl 2, le plus grand effet a été obtenu par les deux fongicides Agriculazole etAgrim par les différent doses (D1, D2, D3) dont la zone d'inhibition était de 0cm.

Tableau 03 : Comparaison des résultats du test des produit antifongique P1 et P2 et P3 sur les souches d'*Alternaria sp* dans le cas dilution

Produit antifongique	<i>Alt1</i>						<i>Alt2</i>					
	P1		P2		P3		P1		P2		P3	
	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre
D1	+	4.2cm	-	0 cm	-	0 cm	+	4.2cm	+	0.7cm	-	0cm
D2	+	4.2cm	-	0 cm	-	0 cm	+	4.2cm	+	0.7cm	-	0cm
D3	+	4.2cm	-	0 cm	+	4.2cm	+	4.2cm	-	0 cm	+	3.5cm

Tableau 04 : Comparaison résultat du test des produit antifongique P1* et P2* sur les souches d'*Garlic Rust* dans le cas dilution

Produit antifongique	<i>Garl 1</i>				<i>Garl 2</i>			
	P1*		P2*		P1*		P2*	
	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre
D1	-	0cm	-	0cm	-	0cm	-	0cm
D2	-	0cm	-	0cm	-	0cm	-	0cm
D3	-	0cm	-	0cm	-	0cm	-	0cm

II.1.2.2. Méthode de diffusion sur disques :

L'isolement des moisissures a été réalisé par la méthode d'ulster ou la méthode directe de **BOTTON *et al*,(1990)** qui repose sur le principe de stimulation du développement des moisissures par incubation des grains.

Pour l'identification des genres, nous avons examiné les caractères cultureux et morphologiques (**BOUCHET, 2005**). En effet, pour les caractères cultureux nous avons : vitesse de croissance ; couleur des colonies ; texture du thalle; présence ou absence des mucorale ; couleur et changement de la couleur du milieu; présence ou absence d'odeurs caractéristiques.



Figures 21 :Colonies d'*Alternari* sp et de*GarlicRust* par la méthode de disque (originale, 2021)

Après dilution des différents produits, les solutions ont été examinées sur leur activité contre les souches fongiques par la méthode de diffusion sur disques. Les différents extraits ont montré une activité antifongique plus ou moins considérable, et où les zones d'inhibition allaient de 0 à 8,5 mm pour les différentes souches. Les diamètres de toutes les zones d'inhibition sont résumés dans le tableau 03 et 04 les figures de 22 à 25 pour les différentes souches phyto-pathogènes testées respectivement.

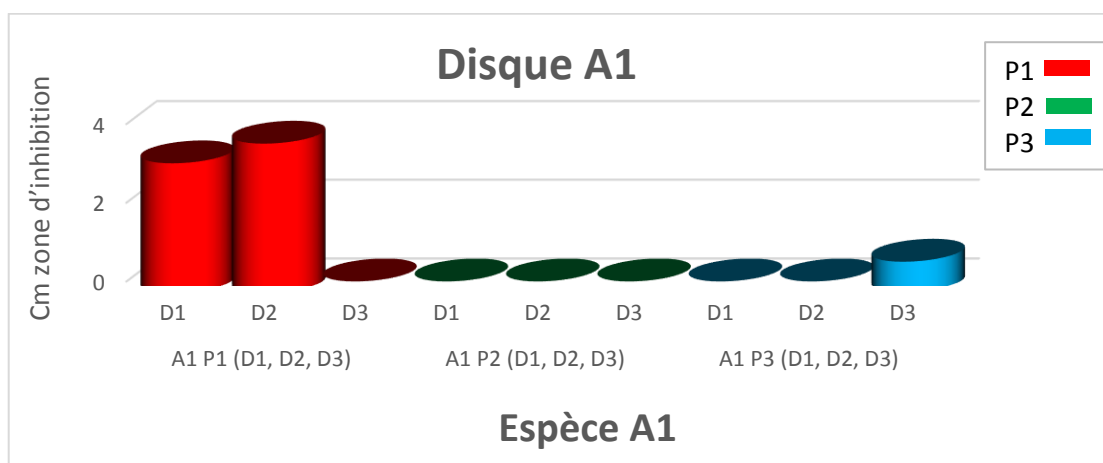


Figure 22 : Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur *Alt1* cas disque

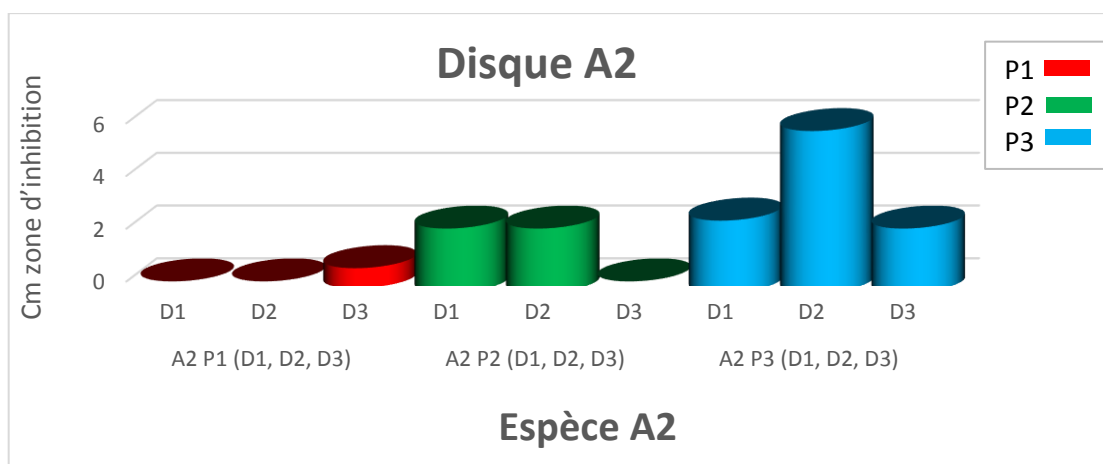


Figure 23 : Effet des produits fongiques P1, P2 et P3 sur surAlt2 cas disque

Pour *Alt1* : l'effet le plus important a été obtenu par A1 P1 D2 par *Alternaria sp* dans la culture PDA dont la zone est de 3.5cm, contrairement à faible effet par A1 P1 D3 et A1 P2 D1, D2, D3 et A1 P3 D1, D2 d'*Alternaria sp* dans la culture PDA, dont la zone été de 0cm.

Pour *Alt2* : l'effet le plus important a été obtenu par A2 P3 D2 par *Alternaria sp* dans la culture OGA dont la zone est de 5.7cm, contrairement à faible effet par A2 P1 D1, D2 et A2 P2 D3 d'*Alternaria sp* dans la culture OGA dont la zone été de 0cm.

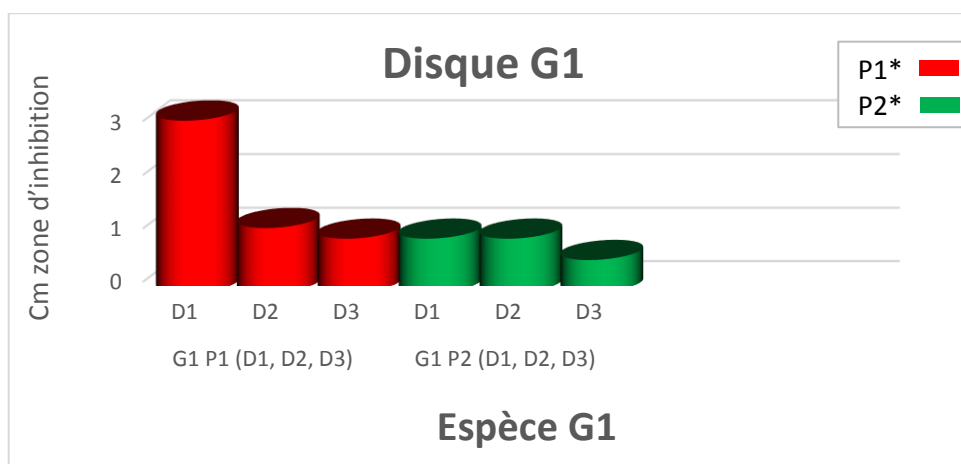


Figure 24 : Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur *Garl 1* cas disque

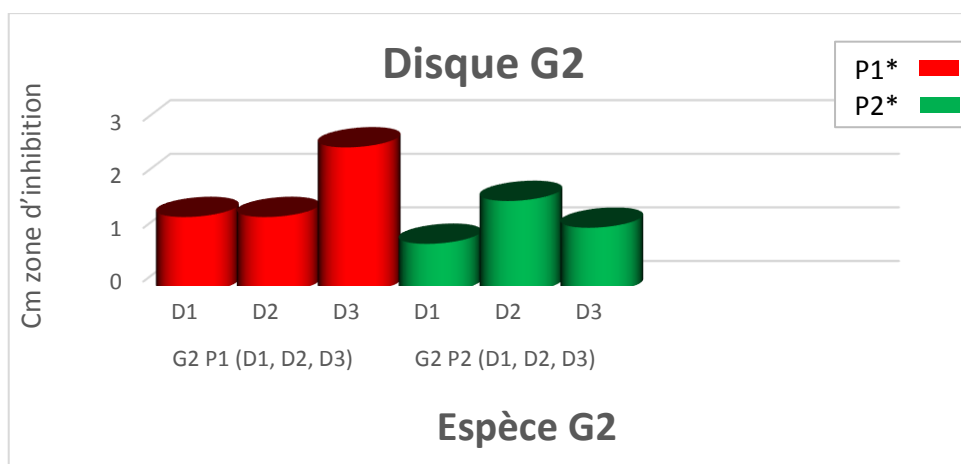


Figure 25 : Effet de deux produits fongiques P1* et P2* sur *Garl 2* cas disque

Pour *Garl 1* : l'effet le plus important a été obtenu par G1 P1* D1 par *Garlic Rust* dans la culture PDA dont la zone est de 3cm, contrairement à faible effet par G1 P2* D3 d'*Garlic Rust* dans la culture PDA dont la zone été de 0.4cm.

Pour *Garl2* : l'effet le plus important a été obtenu par G2 P1* D3 par *Garlic Rust* dans la culture OGA dont la zone est de 2.5cm, contrairement à faible effet par G2 P2* D1 d'*Garlic Rust* dans la culture OGA dont la zone été de 0.7cm.

D'après le tableau 05 : pour *Alt1*, l'effet le plus grand a été obtenu par fongicide ConsentoparD2 dont la zone d'inhibition a été de 3.5 cm, contrairement à P2par les différent dose (D1, D2, D3) n'ont eu aucun effet. Pour *Alt2*, l'effet le plus grand a été obtenu par fongicide Equation proparD2 dont la zone d'inhibition a été de 5.7 cm, contrairement à P1 par les différent dose (D1, D2) n'ont eu aucun effet.

D'après le tableau 06 : pour *Garl 1*, l'effet le plus grand a été obtenu par fongicide AgriculazoleparD1 dont la zone d'inhibition a été de 3 cm, contrairement à P2*par D3 petit effet dont la zone d'inhibition a été de 0.4 cm. Pour *Garl 2*, l'effet le plus grand a été obtenu par fongicide AgriculazoleparD3dont la zone d'inhibition a été de 2.5 cm, contrairement à P2* par D1petit effet dont la zone d'inhibition a été de 0.7 cm.

Tableau 05 : Comparaison des résultats du test des produit antifongique P1 et P2 et P3 sur les souches d'*Alternaria sp* dans le cas disque

Produit antifongique	<i>Alt1</i>						<i>Alt2</i>					
	P1		P2		P3		P1		P2		P3	
	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre
D1	+	3 cm	-	0 cm	-	0 cm	-	0 cm	+	2 cm	+	2.3 cm
D2	+	3.5 cm	-	0 cm	-	0 cm	-	0 cm	+	2 cm	+	5.7 cm
D3	-	0 cm	-	0 cm	+	0.5 cm	+	0.5 cm	-	0 cm	+	2 cm

Tableau 06 : Comparaison résultat du test des produit antifongique P1* et P2* sur les souches d'*Garlic Rust* dans le cas disque

Produit antifongique	<i>Garl 1</i>				<i>Garl 2</i>			
	P1*		P2*		P1*		P2*	
	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre	Résultat	Diamètre
D1	+	3 cm	+	0.8 cm	+	1.2 cm	+	0.7 cm
D2	+	1 cm	+	0.8 cm	+	1.2 cm	+	1.5 cm
D3	+	0.8 cm	+	0.4 cm	+	2.5 cm	+	1 cm

II.2. Discussion générale :

Il y a une multitude de modes d'action des fongicides. Les fongicides peuvent altérer la membrane des cellules des champignons, désactiver des enzymes ou des protéines, interférer avec des processus de respiration ou de production d'énergie. Certains fongicides interfèrent avec des cycles métaboliques important pour la survie du champignon comme la production de stérol. Pour choisir un fongicide il n'est pas nécessaire de connaître exactement le mode d'action de tous les fongicides, mais il est important de savoir que tous les fongicides appartenant au même groupe chimique ont le même mode d'action. **(BOUL *et al.*,2008)**

Il est préférable d'utiliser des fongicides qui ont différents modes d'action pour éviter le phénomène de résistance ou 'd'accoutumance' du champignon. Il est important de noter que les fongicides affectent une ou plusieurs activités métaboliques du champignon. Les fongicides qui agissent sur un seul site métabolique sont généralement efficaces seulement sur certains champignons, mais il est plus facile pour le champignon de développer de la résistance. **(BOUL *et al.*,2008)**

Les fongicides peuvent avoir un effet préventif en détruisant le champignon avant que celui-ci ne pénètre dans la plante. On appelle souvent ces fongicides 'antigerminatif'. Les fongicides de contact (ou de surface) sont généralement utilisés comme préventifs. Les fongicides peuvent également avoir un effet curatif en détruisant le champignon après que celui-ci ait pénétré dans la plante. La durée et l'intensité de l'effet curatif varient selon le fongicide et la température. Certains fongicides ont un effet anti sporulant en détruisant la reproduction du champignon suite à une infection. **(BOUL *et al.*,2008)**



CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

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.

Le présent travail est une contribution à l'étude mycologique et recherche des souches toxigènes isolées à partir d'homme de terre et ail commercialisés dans la ville d'El-Oued, cette étude dévoile la présence d'une grande biodiversité de contaminants fongiques.

Selon les résultats d'identification préliminaire de l'isolat obtenu basé sur l'étude macroscopique et microscopique, par diverses méthodes mycologiques, il semble que la méthode de dilution et la méthode de disque permet un isolement plus performant des moisissures d'un point de vue qualitatif où les genres les plus dominants sont : *Alternaria* et *Garulis Rust*

L'effet inhibiteur des mycotoxines *Alternaria* et *Garulis Rust* testés sur les fongiques par la méthode des puits sur le milieu sabouroud, montre une activité inhibitrice importante. Le test de diffusion sur disques a démontré que tous les extraits avaient une activité inhibitrice sur au minimum un ou plusieurs microorganismes pathogènes. Les zones d'inhibitions varient pour les souches d'*Alternaria sp* entre 0 et 5.7 cm, et entre 0.7 et 3 pour les souches *Garlic rust*. Le test de dilutions a démontré que tous les extraits avaient une activité inhibitrice sur au minimum un ou plusieurs microorganismes pathogènes. Les zones d'inhibitions varient pour les souches d'*Alternaria sp* entre 0 et 4.2 cm, et 0 cm pour les souches d'*Garlic rust*.

Les résultats de la méthode de diffusion sur disque et dilution de 04 souches de fongique (**Alt 1, Alt 2, Garl 1, Garl 2**), ont montré que les produits fongiques (**Consento, Amistar top, Equation pro, Agriculazole, Agrium**) utilisées sécrètent des substances bioactives et qui ont un effet anti-*Alternaria sp* et anti-*Garlic rust*, avec une valeur de zone d'inhibition assez importantes.

Afin de confirmer ou d'infirmer les résultats obtenus et de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces microorganismes, il serait souhaitable d'effectuer des études complémentaires sur :

- ✓ Elargir l'échantillonnage en augmentant le nombre des variétés infectées par d'*Alternaria sp* et d'*Garlic rust*
- ✓ Effectuer une identification plus profonde ; moléculaire.

CONCLUSION GENERALE

- ✓ Caractériser les mycotoxines produit par les souches isolées.



RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographies

1. **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.
2. **Abdel Massih, M. (2007).** Moisissures: identification, sources de contamination et moyens de lutte. Pôle technologique agroalimentaire: 3.
3. **Adams, M.R., Moss, M.O. 2002.** Toxingenic fungi. *Food Microbiology*. RSC, UK, 282-301.
4. **Adams, R.Z. 2002.** Indoor Environment Connections Featured Public Library Closes Down for Mold Investigation www.ieconnections.com/archive/jan_01/jan-01.htm.
5. **Agrios, G.N.(2005).** Plant Pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
6. **AIT OUADA., BOUZNAD, Z., M., KEDAD, A., MOKABLIA, A., SIAFA, A. et YAHIAOUI, S., 2008.** Principaux ravageurs et maladies de la pomme de terre : Agents responsables, dégâts, conditions de développement et méthodes de lutte. in Journée d'étude sur la filière pomme de terre : situation actuelle et perspectives, 18 juin 2008. INA EL-HARRACH, Alger.
7. **ANONYME., 2011.** Profil de la culture de la pomme de terre au Canada, Programme de réduction des risques liés aux pesticides. Centre de la lutte antiparasitaire ; Agriculture et Agroalimentaire. Canada. 63p.
8. **Aziz, N.H., Moussa, L.A.A. 2004.** Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-irradiation. *Journal of Food Safety* 24, 109-127.
9. **Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K., 2016.** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6, 71-79.
10. **BENINAL, L., BOUZNAD, Z., CORBIERE, R., KEDAD, A., ANDRIVON, D., 2009.** A2 mating type, metalaxyl resistance and complex virulence profiles. Proceeding of the eleventh euroblightworkchop. Special report N°13.p 237:241-322p

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

11. **Bennett, J. W., Klich, M. 2003.** Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews* 16, 497-516.
12. **Bhat, R. V., Vasanthi, S. 2003.** Mycotoxin food safety risks in developing countries. Food Safety in Food Security and Food Trade. Vision 2020 for Food, Agriculture and Environment, Focus 10, brief 3 of 17, 1-2.
13. **Birzele, B., Prange, A., Krämer, J. 2000.** Deoxynivalenol and ochratoxinA in German wheat and changes of level in relation to storage parameters. *Food Additives Contaminants* 12, 1027-1035.
14. **BOTTON B. ET AL. 1990.** Les moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2eme édition. Masson. Paris:18, 34-207.
15. **Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J P., Reymond, P., Anglier, J., Vayssier, Y., Veau, P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, *Ed. Masson*, Paris.
16. **Bouchet P .,Guirgnard J L ., Pouchus Y V. (2005)** .les champignons Mycologie fondamentale et appliquée Masson Paris
17. **BOUGHACHICHE.F, REGHIOUA. S, OULMI. L, ZERIZER.H ,KITOUNI.M, BOUDMEMAGH. A, BOULAHROUF. A, 2005:** Isolement d'actinomycetales productrice de substance antimicrobiennes à partir de la SEBKHA DE AIN MLILA. 23: 5-10.
18. **Bourgeois C.M. et Leverau J.Y. (1980).** Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire. Tome 3. Contrôle microbiologique. Edition technique et documentation. Lavoisier Paris.
19. **Bouslimi, A., Bouaziz, C., Ayed-Boussema, I., Hassen, W., Bacha, H. 2008.** Individual and combined effects of ochratoxin A and citrinin on viability and DNA fragmentation in cultured Vero cells and on chromosome aberrations in mice bone marrow cells. *Toxicology* 251, 1-7.
20. **Cairns-Fuller, V., Aldred, D., Magan, N. 2005.** Water, temperature and gas composition interactions affect growth and ochratoxinA production by isolates of *Penicillium verrucosum* on wheat grain, *Journal of Applied Microbiology* 99, 1215-1221.
21. **Carlile M.J., Watkinson S.C. The Fungi. 1994.** (Academic Press eds).
22. **Chabasse D.(2008).** classification des champignons d'intérêt médicale encyclopédie médicale, chirurgicale (Edition ,scientifiques et médicales elsevier SAS ,Paris) maladie infectieuse 8-088-B-10-9p

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

23. **Chagas, G. M., Campello, A. P., & Kluppel, M. L. W. 1992.** Mechanism of citrinin-induced dysfunction of mitochondria. Effects on respiration, enzyme activities and membrane potential of renal cortical mitochondria. *Journal of Applied Toxicology* 12, 123-129.
24. **CHAPELAND-LECLERC F, PAPON N, NOËL T, VILLARD J. 2005.** Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicoles). *Rev Fr Laboratoires*; 373: 61-6.
25. **Chen, J., Mirocha, C.J., Xie, W., Hogge, L.R., Olson, S.C. 1992.** Production of the mycotoxin fumonisin B1 by *Alternaria alternata* sp. *lycopersici*. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 847-852.
26. **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.
27. **Clear, R. M., Patrick, S.K. 2000.** *Fusarium* head blight pathogens isolated from *Fusarium* damaged kernels of wheat in western Canada, 1993 to 1998. *Canadian Journal of Plant Pathology* 22, 51-60.
28. **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.
29. **Dalié, D.K.D., Deschamps, A.M., Richard-Forget, F. 2010.** Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control* 21, 370-380.
30. **Desjardins, A. E., Proctor, R.H. 2001.** Biochemistry and genetics of *Fusarium* toxins. In B.A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhaus, W. L. Bryden, & L. W. Burgess (Eds.), *Fusarium*—Paul E. Nelson memorial symposium. St. Paul, Minnesota, USA: APS Press, 50-69.
31. **Dupuy, J., Le Bars, P., Boudra, H. 1993.** Thermostability of fumonisin B1, a mycotoxin from *Fusarium moniliforme* in corn. *Applied and Environmental Microbiology* 59, 2864-2867.
32. **Eaton, D. L., Gallagher, E. P. 1994.** Mechanisms of aflatoxins carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 34, 135-172.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

33. **Eriksen, G. S., Pettersson, H. 2004.** Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 114, 205-239.
34. **Florent.J.(1993).**Microbiologie industrielle, Les microorganisme d'intérêt industriels. Ed.Lavoisier Tec et Doc.612p
35. **Gelderblom, W.C., Marasas, W.F., Vleggaar, R., Thiel, P.G., Cawood, M.E. 1992.**Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects.*Mycopathologia*117, 11-16.
36. **Gherras S, El himer N. 2017.**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Toxicologie industrielle et environnemental :7-20 .
37. **Guiraud J. (1998).** Microbiologie alimentaire.p 8-101.p 330 Edition Donod, Paris.**Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. Pp., 34428.
38. **HAZALIN N. A., RAMASAMY K., LIM S. M., WAHAB I. A., COLE A. L. AND ABDUL MAJEED A. B.2009.** Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 9: 46.
39. **Hendeyk.H. &colec.E. 1993.**Areviws of mycotoxins in indoor air. *J.Toxical.Environ. Health.* 38 (2) : 183- 198.
40. **International Agency for Research on Cancer, IARC. 1993.** Evaluation of carcinogenic risks of chemical to humans. In 'Some naturally-occurring substances: Food Items and Constituents'. Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. *IARC monographs, Vol56 Lyon, France*, 359-362.
41. **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.
42. **Jennings D.H., Lysek G. 1996.** Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. (Bios Scientific publisherseds).
43. **Jennings D.H., Lysek G. 1996.** Fungal biology: understanding the fungal l .
44. **Jouany, J.P. 2007.** Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology* 137, 342-362.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

45. **Keller, S.E., Sullivan, T.M., Chirtel, S. 1997.** Factors affecting the growth of *Fusarium proliferatum* and the production of fumonisin B1: oxygen and pH. *Industrial Microbiology, Biotechnology*. 19, 305-309.
46. **Kirk, P.M., Cannon, P.F., David, J.C., Egham, U.K. and Stophes, J.A. (2001).** Ainsworth and Bysby's Dictionary of fungi , 9 th edn .CABI. Bioscience.UK. Center and central Bureau Voie. Utrecht. The Net.
47. **Klein, D.A., Paschke, M.W. (2004).** Filamentous Fungy: The indeterminate lifestyle and microbial ecology. *Microbial Ecology*. 47: 224-235.
48. **Kurata, H. 1990.** *Mycotoxins and mycotoxicoses*. IN A. E. Pohland, V.R. Dowell, & J.L. Richards (EDs.), *Microbial toxins in foods and feeds*. New York, USA: Plenum Press, 249-259.
49. **Kurtzman, C.D., Horn, B.W., Hesseltine, C.W. 1987.** *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. *Antonie van Leeuwenhoek Journal of Microbiology* 53, 158-174.
50. **Leclerc, F.C. Papon, N., Noel, T., Villard, J. 2007.** Moisissures et risques alimentaires (Mycotoxicoses). *Revue Francophone des Laboratoires*. 373:61-66.
51. **Lepoivre, Ph. (2003).** Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte, pp.111-140.
52. **Li, F., Xu, G., Li, Y., Chen, Y. 2003.** Study on the production of citrinin by *Monascus* strains used in food industry. *Wei Sheng Yan Jiu* 32, 602-605.
53. **Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J., Schnürer, J. 2003.** Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 219, 129-135.
54. **Maheux L. 1998.** Session on microbial contamination occupational and environmental health services agency, (edn) Health Canada. Canada.
55. **Marín, S., Magan, N., Serra, J., Ramos, A.J., Canela, R., Sanchis, V. 1999a.** Fumonisin B1 production and growth of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* on maize, wheat, and barley grain. *Journal of Food Science* 64, 921-924.
56. **Mitchell, D., Parra, R., Aldred, D., Magan N. 2004.** Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. *J. Appl. Microbiol.*, 97, 439–445.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

57. **MOHANTA J., TAYUNG K. and MOHAPATRA U. 2008.** Antimicrobial potentials of endophytic fungi inhabiting three Ethnomedicinal plants of Similipal Biosphere Reserve, India. *The Internet Journal of Microbiology*; 5(2).
58. **Nasraoui, B. (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées, biologie, systématique, pathologie, maladies.
59. **Nasraoui, B. (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées, biologie, systématique, pathologie, maladies.
60. **NICHOLSON, T.P., RUDD, B.A.M., DAWSON, M., LAZARUS, C.M., SIMPSON, T.J., COX, R.J. 2003.** Design and utility of oligonucleotide gene probes for fungal polyketide synthases. *Chem. and Biol.*, 8:157-178.
61. **Norred, W.P., Voss, K.A., Bacon, C.W., Riley, R.T. 1991.** Effectiveness of ammonia treatment in detoxification of fumonisin-contaminated corn. *Food and Chemical Toxicology* 29, 815-819.
62. **Nwe, N., and Stevens, W. F. 2008.** Production of chitin and chitosan and their application in the medical and biological sector. In *Recent Research in Biomedical Aspects of chitin and chitosan*. ed H. Tamura, pp. 161-176, Research signpost, India.
63. **Olsen, M., Jonsson, N., Magan, N., Banks, J., Fanelli, C., Rizzo, A., Haikar, A., Dobson, A., Frisvad, J., Holmes, S., Olkku, J., Persson, S.J., Börjesson, T. 2003.** Prevention of Ochratoxin A in Cereals. OTA PREV. Final report. Quality of Life and Management of Living Resources. Project No. QLK1-CT-1999-00433.
64. **Pena, A., Seifrtova, M., Lino, C., Silveira, I., Solich, P. 2006.** Estimation of ochratoxin A in Portuguese population: New data on the occurrence in human urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 1449-1454.
65. **Pestka, J. J. 2007.** Deoxynivalenol: toxicity, mechanisms and health risks. *Fusarium and their* In D. P. Morgavi & R. T. Riley (Eds.), *toxins: Mycology, occurrence toxicity, control and economic impact*. Animal feed science and technology. 137, 283-298.
66. **Pitt JI, Mischamble BF.** Water relations of *Aspergillus flavus* and closely related species. *J Food Prot.* 1995; 58:86---90

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

67. **Pitt, D. B., Plestina.J.I, Shepard, R., Solfrizzo, G., Verger, M., Walker, P.J.P. 2001.** Safety evaluation of certain mycotoxins in food. In Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) Rome: Food and Agriculture Organization, pp. 281.
68. **Pitt, J. I., Hocking, A.D. 1997.** Fungi and food spoilage (2nd ed.). London: Blackie Academic and Professional.
69. **RADTKE, W ET RIECKMANN, W., 1991.** Maladies et ravageurs de la pomme de terre. Editions Th. Mann. Pp. 168.
70. **Ramos, A.J., N. Labernia, S. Marín, V. Sanchis, N. Magan. 1998.** Effect of water activity and temperature on growth and ochratoxine production by three strains of *Aspergillus ochraceus* on a barley extract medium and on barley grains. *International Journal of Food Microbiology*. 44, 133-140.
71. **REBOUX, G. 2006.** Mycotoxins: health effects and relationship to other organic compounds. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46, 208–212
72. **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.
73. **Rios, J., Recio, M., Villar, A., 1988.** Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology* 23, 127-149.
74. **Samson RA, Hoeckstra ES, Frisvad JC, Filteborg O. 2000.** Introduction to food-and airborne fungi. 6th ed. Utrecht :Centraalbureauvoorschimmelcultures.
75. **Sanders I.R., 2004.** Intraspecific genetic variation in arbuscularmycorrhizal fungi and its consequences for molecular biology, ecology, and development of inoculum. *Canadian Journal of Botany*. 82: 1057-1062.
76. **Sautour M, Dantigny P, Divies C, Bensoussan M. 2001.** A temperaturetype model for describing the relationship between fungalgrowth and water activity. *Int J Food Microbiol*; 67:63---9.
77. **Schüßer A., Schwarzott D., Walker C. 2001.** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*. 105: 1413-1421.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

78. **Schwalbe, R., Steele-Moore, L., Goodwin, A.C., 2007.** Antimicrobial susceptibility testing protocols. Crc Press.
79. **Shier, W.T., Sier, A.C., Xie, W., Mirocha, C.J. 2001.** Structure-activity relationships for human oestrogenic activity in zearalenonemycotoxins. *Toxicon* 39, 1435-1438.
80. **Steyn, P.S. 1980.** The biosynthesis of mycotoxins: a study of secondary metabolism, Academic Press, INC.
81. **Studer-Rohr, I., Schlatter, J., Dietrich, D. 2000.** Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of ochratoxinA plasma levels in humans. *Archives of Toxicology* 74, 499-510.
82. **Tabuc, C. (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse présentée pour obtenir le titre de docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse et de l'université de Bucarest .Spécialité : pathologie, mycologie, génétique et nutrition. 190p
83. **Tabuc, C. 2007.** Flore Fongique de Différents Substrats et Conditions Optimales de Production des Mycotoxines. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse et de l'Université de Bucarest.
84. **Tachenon, A .(1999).** La science des champignons .<http://www.Tachenon.com>.
85. **Vandenkoornhuyse P., Leyval C., Bonnin I. 2001.** High genetic diversity in AM fungi: evidence for recombination events. *Heredity*. 87: 243-253.
86. **Vander Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R. (1998).** Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*. 396: 69-72.
87. **Vander Pulten, W.H. (2003).** Plant defense belowground and spatiotemporal processes in natural vegetation: ecology. 84: 2269-2280.
88. **WHO. 1990.** Environmental health criteria 105 selected mycotoxins: ochratoxins, trichothecenes, ergot, trichothecenes. International Programme on Chemical Safety (IPCS) Geneva, World Health Organization. 71-154.
89. **Wilkinson, J.M., 2006.** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. *Modern phytomedicine: turning medicinal plants into drugs*, 157-171.
90. **Willie, T.D, et morehouse, L.G. 1977.** Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses: Mycotoxic fungi and chemistry of mycotoxins: 538.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIES

91. Yajuan J L., Matthew C .,Hodson ., Benjamin D H .(2006). BMC Evolutionary Biology Research article Open Access Loss of the flagellum happened only once in the fungal lineage :phylogenetic structure of kingdom Fungi inferred from RNA polymerase II subunit genes 1471-2148-G-74
92. Yiannikouris, A., Jouany, J.P. 2002.Mycotins in feeds and their fate in animals: a review. Animal Research 51, 81-99.
93. Zillinsky,F.J. (1983). Maladies communes des céréales à paille. Guide d'identification.

Site web

- 1) <http://www.nasraouibouزيد.tn/Livres/Livre5Partie1.pdf>
- 2) <http://fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/microbiologie/TP/Mycetes.pdf>
- 3) <http://www.alamyimages.fr>



ANNEXES

Annexe



(1 balance analytique de type RADWAG; 2 ;3 l' hote de type BOF ; 4 plaque chauffante et Agitateur de type Labtech ;9 Fregerateur et congelateur ;10Autoclave de type pbinternational ;11 Etuve de type labtech;Microscope)

Figure 01: Les appareils de laboratoire utilisé (photos originales 2021)



Figure 02 : Milieu OGA (Gélose glucosée à l'oxytétracycline) ; Milieu PDA (Agar Dextrose Potatoes) ; Milieu Sabouraud ; Eau distillée stérile ; Lactophénol. **(photo originale 2021)**

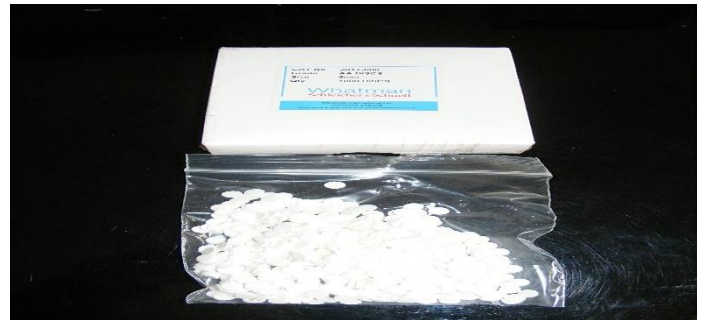


Figure 03 : Disques de 6 mm (papier Wattman) **(photo originale 2021)**



Figure 4 : Ecouvillon **(photo originale 2021)**

ANNEXE

Préparation de la culture de l'implant :

Nous avons fait venir 06 flacon hôte, nous les avons mis dans un autoclave pendant 45 minutes, puis nous les avons mis dans un pack ouvert de cinq minutes. On verse un énorme 05cm d'implants dans la boîte de Pétri et on vous montre à sécher pendant 20 minutes jusqu'à ce que ce soit Gélose, puis on ferme les boîtes de Pétri et on les met au frigo pendant 24 heures.

Liste des produits fongiques :

Maladie	N produit	Nom	Nature	Mode d'emploi	Superficie
Alt	Produit 01	Fongicide Consento 75g x 1L matériau finamidon efficace il contient 375g de substance Prothiophoscarbe "HCl"	Liquide	1L x 400L l'eau	*Hectares
	Produit 02	Fongicide Amistar top 250g de substance déconazole	Liquide	250ml x 200L l'eau	*1/4 Hectares
	Produit 03	Fongicide Equation pro contient 22.5% de substance phoxadone+30%témoxsa line	Poudre	80g x 100L l'eau	*2Hectares
Garl	Produit 01*	Fongicide Agriculazole contient 25% de substance déconazole	Liquide	*250ml x 200L l'eau(premier stade de l'apparition de la maladie) *500 ml x 200L l'eau(propagation de la maladie)	*1/4 Hectares *1/2 Hectares
	Produit 02*	Fongicide Agrim contient 25% de substance déconazole	Liquide	*250ml x 200L l'eau(premier stade de l'apparition de la maladie) *500 ml x 200L l'eau(propagation de la maladie)	*1/4 Hectares *1/2 Hectares