

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Chadli Bendjedid
El-Tarf



جامعة الشاذلي بن جديد
UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الشاذلي بن جديد
الطارف

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم العلوم الفلاحية



Mémoire de Fin d'Études

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche
« Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité »

THÈME

**Contribution à l'étude de la sensibilité des
champignons d'altérations alimentaires aux additifs
bio naturels comme alicaments**

Soutenu le : 22/06/2023

Présenté par :

CHIBANI Mouna

&

MERDACI Aya

Devant le jury composé de :

Dr Benrachou Nora	MCA	Présidente	UCBET
Dr Belbel Zeyneb	MCA	Examinatrice	UCBET
Dr Feknous Nesrine	MCA	Promotrice	UCBET

Année universitaire 2022 - 2023

Remerciements

On remercie **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

En premier lieu, nous tenons à remercier notre **Encadreur Dr. FEKNOUS Nesrine**, Maître de conférences au département des sciences agronomiques à l'université Chadli Bendjedid El-Tarf, pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa disponibilité, ses orientations et ses conseils. Elle nous a fourni les outils nécessaires au bon déroulement de notre stage.

Nous témoignons également de notre gratitude **aux membres de jury : Dr. BENRACHOU Nora et Dr. BELBEL Zineb**, toutes deux Maîtres de conférences au département des sciences agronomiques à l'université Chadli Bendjedid El-Tarf, d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer notre travail.

Et un grand merci à **Madame ALLIOUCHE Fouzia**, Directrice de l'Institut National de Protection des Végétaux «INPV» de la wilaya d'El-Tarf, pour son accueil et le partage de ses connaissances.

Nous tenons à remercier nos enseignants pour les cours et l'information dont on a bénéficié tout au long de notre parcours universitaire. Et surtout nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui nous ont aidés lors de la rédaction de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*À mon cher papa **Rabeh**.*

*À la femme qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse **Mon adorable mère Mounira**.*

*À ma chère **sœur Asma** qui n' a pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que dieu les protège.*

*À mon adorable **petite sœur Roeya** qui sait toujours comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.*

*À mes **chers frères Rami et Moka** que Dieu leur accorde santé et bonheur.*

À tous les cousins Safa et Oumaima et les amis Zahra, Marwa et Mimi. Merci pour votre amour et vos encouragements.

*À **ma grande mère** qui a toujours été mon soutien. Et à mon grand-père que Dieu prolonge sa vie, le protège et prenne soin de lui.*

*Sans oublier **mon binôme Mouna** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

Je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère

Aya

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*À mes **chers parents**, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse et leur soutien.*

«Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation»

*À mes chers frères : **Dia, Saif et Chamsou** pour leur appui et leur encouragement.*

*À toute ma famille surtout **mon grand-père** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*À mes cousines **Olfa, Maroua et Soujoud** en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle.*

*À **Aya**, chère amie avant d'être mon binôme qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.*

À tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible.

Merci d'être toujours là pour moi.

Mouna

Résumé

Les espèces du genre *Fusarium* et *Alternanria* font partie des champignons alimentaires mycotoxinogènes. L'objectif de notre travail est de tester les propriétés antifongiques de deux variétés blanche et rouge du genre *Allium* contre ces moisissures. Pour cela des antifongigrammes ont été réalisés. Les résultats obtenus ont montrés que les jus bruts des deux variétés (blanche et rouge) avait des activités antifongiques à des concentrations de: 100%, 75%, 50% et 25%. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont respectivement les suivants pour le *Fusarium sp.*: 38,66mm, 36.33mm, 33mm, 22.66mm et 30.33mm, 28.33mm, 26.66mm et 16mm et pour l'*Alternanria sp.* les diamètres suivants; 31mm, 30.66mm, 21.66mm, 25mm et 32.66mm, 30.66mm, 32mm et 26.66mm. Les diverses concentrations ont eu des pourcentages d'inhibition supérieurs à 50%. Les 2 variétés (blanche et rouge) de l'ail ont une concentration minimale inhibitrice et fongicide de 25% contre *Fusarium sp.* La CMI et la CMF de l'ail blanc est de 50% contre *Alternaria sp.* par contre l'ail rouge à une CMI et une CMF de 75% contre *Alternaria sp.*

Mots clés: *Allium*, *Fusarium*, *Alternanria*, propriétés antifongiques, phytopathogènes.

Abstract

The species of the genus *Fusarium* and *Alternanria* are part of mycotoxinogenic food fungi. The objective of our work is to test the antifungal properties of two white and red varieties of the genus *Allium* against these molds. For this purpose antifongigrams were made. The results obtained showed that the raw juices of both varieties (white and red) had antifungal activities at concentrations of: 100%, 75%, 50% and 25%. The diameters of the inhibition zones obtained are respectively the following for *Fusarium sp.*: 38, 66mm, 36.33 mm, 33mm, 22.66mm et 30.33mm, 28.33mm, 26.66mm et 16mm and for l'*Alternanria sp.* the following diameters: 31mm, 30.66mm, 21.66mm, 25mm et 32.66mm, 30.66mm, 32mm et 26.66mm. The various concentrations had inhibition percentages greater than 50%. Both varieties (white and red) of garlic have a minimum 25% inhibitory and fungicidal concentration against *Fusarium sp.* The CMI and CMF of white garlic is 50% against *Alternaria sp.* but red garlic at a CMI and a CMF of 75% against *Alternariasp.*

Keywords: *Allium*, *Fusarium*, *Alternanria*, antifungal properties, phytopathogens.

ملخص

Alternanria و *Fusarium* هي جزء من الفطريات الغذائية الفطرية. الهدف من عملنا هو اختبار الخصائص المضادة للفطريات لنوعين أبيض وأحمر من جنس الأليوم مقابل هذه الفطريات. لهذا الغرض تم صنع مضادات الغرام. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن العصائر النيئة من كلا النوعين (الأبيض والأحمر) لها أنشطة مضادة للفطريات بتركيزات: 100% و 75% و 50% و 25%. وأقطار مناطق التثبيط التي تم الحصول عليها هي على التوالي: 38، 666 3.154 ملم، 36.333 ملم، 33 ملم، 22.667 ملم و 30.333 ملم، 28.333 ملم، 26.66 ملم، 31 ملم، 30.666 ملم، 21.666 ملم، 25 ملم وآخرون 32.666 ملم، 30.666 ملم، 32 ملم وآخرون 26.666 ملم. كان للتركيزات المختلفة نسب تثبيط أكبر من 50%. كلا الصنفين (الأبيض والأحمر) من الثوم له تركيز مثبط وفطري بنسبة 25% على الأقل ضد الفوساريوم IJC و FJA للثوم الأبيض هو 50% مقابل *Alternaria sp.* لكن الثوم الأحمر في MIC و FJA بنسبة 75%.

ضد *Alternaria sp.*

الكلمات المفتاحية

خصائص مضادة للفطريات ، مسببات الأمراض النباتي ، *Allium* , *Fusarium* , *Alternanria* ,

Liste des figures

Figure 1.Principaux caractères morphologiques des <i>Aspergillus</i>	7
Figure 2. Principaux caractères morphologiques des <i>Penicillium</i> s	8
Figure 3.Caractères morphologiques primaires de deux espèces de <i>Fusarium</i>	10
Figure 4.Une feuille de la ptd contaminée par Alternariose	13
Figure 5.Tubercule touché par l'Alternariose.....	13
Figure 6.maladie de l'ergot sur le blé	15
Figure 7. Le sclérote d'ergot est noir à l'extérieur, avec une section blanc violacé.	16
Figure 8.Préparation du milieu Malt -Agar, a):Agar-agar, b) : Malte , c): eau distillé (Merdaci & Chibani, 2023).....	26
Figure 9.a):le mélange de poudre, b): autoclavage du milieu (Merdaci & Chibani, 2023).....	27
Figure 10.Préparation du milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA).....	28
Figure 11a): ébullition de la pomme de terre, b): la filtration (Merdaci & Chibani, 2023)	28
Figure 12.a): la dilution du bouillon avec l'eau distillé, b): l'autoclavage du milieu (Merdaci & Chibani, 2023)	29
Figure 13. Les milieux de culture : agar-malte et milieu PDA (Merdaci & Chibani, 2023)	29
Figure 14.a): les fragments découpés, b): désinfection et rinçage des fragments (Merdaci & Chibani, 2023)	30
Figure 15.a):séchage des racines, b): séchage des feuilles (Merdaci & Chibani, 2023)	31
Figure 16. a):ensemencement dans le milieu, b):incubation dans l'étuve.....	31
Figure 17.identification microscopique	32
Figure 18.repiquage du champignon	33
Figure 19.préparation de la suspension sporale	33
Figure 20.les différentes dilutions	34
Figure 21.ensemencement des boites	34
Figure 22. a): milieu PGA liquide, b): suspension sporale, c: ajouter l'extrait brut, d): agitation	36
Figure 23.Aspect macroscopique des colonies de moisissures.....	38
Figure 24.Aspect microscopique des colonies de moisissures.....	39
Figure 25.Le test de l'activité antifongique de <i>Fusarium roseum</i>	40
Figure 26.Les diamètres des zones d'inhibition de <i>Fusarium roseum</i> avec la variété blanche.....	40
Figure 27.Les diamètres des zones d'inhibition de <i>Fusarium roseum</i> avec la variété rouge.....	41
Figure 28. Le test de l'activité antifongique d' <i>Alternaria sp.</i>	41
Figure 29.Les diamètres des zones d'inhibition d' <i>Alternaria sp.</i> variété blanche	42
Figure 30.Les diamètres des zones d'inhibition d' <i>Alternaria sp.</i> variété rouge	42

Liste des tableaux

Tableau 1.Exemples d'espèces phytopathogènes du genre *Fusarium*

11

Liste des abréviations

AME	Alternariol Monométhyléther
ATF	Antifongique
ATX	Alertoxines
°C	Degré Celsius
a_w	Activité de l'eau
μm	micromètre
l	litre
g	gramme
j	jour
mm	millimètre
PI	Inhibition de la croissance fongique en pourcentage.
Dt	Diamètre de la croissance mycélienne dans un milieu (témoin).
Dc	Diamètre de la croissance mycélienne en présence d'huile essentielle.
GEM	Gélose à l'Extrait de Malt
MEA	Malt Extract Agar
PDA	Potato-Dextrose-Agar
μl	microlitre
CMF	concentrations minimales fongicides
CMI	concentration minimale inhibitrice
CFS	concentrations fongistatiques
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
TeA	Acide Ténazonique

Tables des matières

RESUME	I
ABSTRACT	II
ملخص.....	III
LISTE DES FIGURES	IV
LISTE DES TABLEAUX	V
LISTE DES ABREVIATIONS	VI
TABLES DES MATIERES	VII
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 : LES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES.....	5
1 GENERALITE SUR LES CHAMPIGNONS PHYTO-PATHOGENES.....	5
2 LES PRINCIPAUX GENRES DE CHAMPIGNONS PHYTO-PATHOGENES.....	6
2.1 LE GENRE ASPERGILLUS.....	6
2.1.1 Généralités	6
2.1.2 Potentiel toxigène du genre <i>Aspergillus</i>	7
2.2 LE GENRE <i>PENICILLIUM</i>	7
2.2.1 Généralités	7
2.2.2 Morphologie microscopique.....	8
2.2.3 Potentiel toxigène	8
2.3 LE GENRE <i>FUSARIUM</i>	9
2.3.1 Généralités	9
2.3.2 Fusariose et mécanisme d'invasion des plantes.....	9
2.3.3 Les caractéristiques morphologiques	10
2.3.4 Pouvoir pathogène et potentiel toxigène.....	11
2.3.5 Exigences de croissance.....	11
2.4 LE GENRE <i>ALTERNARIA</i>	12
2.4.1 Généralités	12
2.4.2 La maladie Alternariose.....	12
2.4.3 Développement de la maladie.....	14
2.5 LE GENRE <i>CLAVICEPS</i>	14
2.5.1 Maladie de l'ergot	15
CHAPITRE 2 LES PESTICIDES ET LES BIOPESTICIDES	19
3 METHODES DE LUTTE CONTRE LES MICROORGANISMES PHYTO-PATHOGENES	19

3.1	LA LUTTE CHIMIQUE	19
3.1.1	<i>Les fongicides</i>	19
3.1.1.1	Définition	19
3.1.1.2	Les fongicides non-systémiques	19
3.1.1.3	Les fongicides systémiques.....	20
3.1.1.4	Le mode d'action des fongicides	20
3.1.1.5	Les inconvénients de la lutte chimique	20
3.2	LA LUTTE BIOLOGIQUE (LES BIO PESTICIDES).....	21
3.2.1	<i>Définition</i>	21
3.2.2	<i>Les auxiliaires de la lutte biologique</i>	21
3.2.2.1	Bio pesticide végétal.....	22
3.2.2.2	Bio pesticide animal	23
3.2.2.3	Biopesticide microbien	23
3.2.3	<i>Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique :</i>	23
3.2.3.1	Les avantages	23
3.2.3.2	Les inconvénients	23
4	MATERIEL ET METHODES	26
4.1	OBJECTIF DE L'ETUDE.....	26
4.2	PREPARATION DES MILIEUX DE CULTURE	26
4.2.1	<i>Préparation de milieu Malt-Agar</i>	26
4.2.2	<i>Préparation de milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA)</i>	27
4.3	ISOLEMENT DE LA FLORE FONGIQUE	30
4.4	IDENTIFICATION DE LA SOUCHE FONGIQUE	31
4.4.1	<i>Etude des caractères macroscopiques</i>	31
4.4.2	<i>Etude des caractères microscopiques</i>	32
4.5	REPIQUAGE DE LA SOUCHE FONGIQUE	32
4.6	ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIFONGIQUE DES EXTRAITS.....	33
4.6.1	<i>Le pourcentage d'inhibition (PI)</i>	35
4.6.2	<i>Détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice)</i>	35
4.6.3	<i>Détermination des concentration minimale fongicide (CMF) et CFS (concentrations fongistatiques</i> 36	
5	RESULTATS ET DISCUSSION	38
5.1	IDENTIFICATION DES MOISSURES	38
5.1.1	<i>Aspect macroscopique</i>	38
5.1.2	<i>Aspect microscopique</i>	38
5.1.3	<i>Résultat de l'activité antifongique de l'ail blanc et rouge</i>	40
5.1.3.1	<i>Fusarium roseum</i>	40
5.1.3.2	<i>Alternaria sp</i>	41

CONCLUSION.....	45
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	46

Introduction

On estime entre dix mille et quinze mille espèces le nombre d'organismes du type champignons ou pseudo-champignons susceptibles d'infecter les plantes contre une cinquantaine susceptibles d'infecter l'homme (**Fernandez-Acero et al., 2007**).

Un certain nombre de champignons phytopathogènes, tels que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Fusarium* et *Alternaria* produisent, dans les graines de plantes infectées par ces champignons, des toxines extrêmement toxiques, appelées mycotoxines, dont certaines sont les plus cancérigènes puissants connus. Chaque année, un certain nombre de ces effets affectent négativement les humains et les animaux dans de nombreuses régions du monde (**Dora, 2020**).

Divers produits alimentaires peuvent être contaminés par une large gamme de champignons filamenteux, entraînant des pertes économiques importantes (**Sadiq et al., 2019**). En plus de la détérioration des aliments, la contamination fongique représente un risque sérieux puisque les souches de certains genres tels que *Alternaria* et *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques appelés mycotoxines.

Alternaria est l'espèce la plus commune dans les fruits et légumes récoltés et l'espèce la plus importante produisant des mycotoxines (**Lee et al., 2015**). *Alternaria* sont connues pour être capables de produire plus de 70 phytotoxines, mais seules quelques-unes ont été caractérisées chimiquement et agissent comme des mycotoxines pour les humains et les animaux. Certaines toxines telles que l'alternariol (AOH), l'alternariol monométhyléther (AME), l'acide ténazonique (TeA) et les altertoxines (ATX) ont été décrites pour induire des effets nocifs chez les animaux, y compris des effets toxiques et tératogènes. Chez *A. alternata* sept pathotypes différents ont été identifiés pour produire des toxines sélectives ou spécifiques à l'hôte (HST) (**Tsuge et al., 2013**). Les HST sont des métabolites secondaires qui ne causent des dommages qu'à l'hôte sensible et sont libérés pendant la germination des conidies, avant la pénétration tissulaire et la production de mycélium (**Tsuge et al., 2013**). En raison de leur croissance même à basse température, les espèces *Alternaria* sont responsables de la détérioration des produits alimentaires pendant le transport et le stockage réfrigéré (**EFSA, 2011**).

Actuellement, les principaux moyens de lutte contre les maladies des plantes sont les fongicides chimiques. Cependant, en raison des risques potentiels pour la santé humaine, de la pollution de l'environnement, des organismes non ciblés et du développement de la résistance

aux agents pathogènes des plantes, le développement de fongicides chimiques a été limité. Les fongicides biologiques attirent de plus en plus l'attention et l'intérêt des gens, les avantages des bio fongicides est leur forte sélectivité et sécurité pour l'homme et l'animal. Ils sont plus sûrs et ont moins d'impact sur les organismes non ciblés (**Dora, 2020**).

Ces dernières années, un intérêt croissant a été montré pour la bio préservation, c'est-à-dire l'utilisation des produits naturel ou de leurs métabolites antifongique dans la conservation des aliments, en raison de la demande des consommateurs pour une utilisation réduite des produits chimiques dans les denrées alimentaires en raison de leurs risques pour la santé, tels que l'indigestibilité ou les allergies (**Salas et al. 2018**).

À ce jour, les bio pesticides sont considérées comme les meilleurs candidats pour la protection d'une large gamme de produits alimentaires (légume et fruit) contre les champignons d'altération (**Sadiq et al., 2019**). Donc ils peuvent inhiber la croissance fongique ou la prolifération des spores dans les aliments en raison de la production de plusieurs composés antifongiques.

Dans le réservoir chimique de ces plantes, les extraits représentent des molécules de fortes valeurs, car elles présentent une activité antifongique non négligeable et en différentes autres domaines. Les extrait des plantes ont un spectre *d'activité* très large, principalement dû à leurs natures. Elles peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques (**El Mansouri, 2013**) et sont d'usage courant en thérapeutique traditionnelle en Algérie ainsi que dans d'autre pays dans le monde, grâce à leur faible toxicité et leur caractère économique. Ces substances végétales qui sont riche en antifongiques (ATF) naturels sont utilisées pour lutter contre les champignons phytopathogène.

Le premier volet de cette étude a été consacré à la description des données bibliographiques relatives aux champignons phytopathogènes, leur classification, les dégâts qu'il provoque, les maladies causées, les propositions des pesticides et bio fongicides comme moyen de lutte biologique contre ces ravageurs redoutables. Dans le deuxième volet nous avons étudiés *in vitro* l'effet de l'activité antifongique des variétés du genre *Allium* sur la croissance de *Fusarium et Alternaria*. Le troisième volet est consacré aux résultats et leurs discussion.

Synthèse

bibliographique

Chapitre 1
Les champignons
phytopathogènes

Chapitre 1 : les champignons phytopathogènes

1 Généralité sur les champignons phyto-pathogènes

Les champignons sont définis comme des organismes eucaryotes, sporogènes et non-chlorophylliens, se reproduisant par voie sexuée ou asexuée. Le terme «champignons» regroupe principalement : les levures, les champignons filamenteux (communément appelés moisissures) et les champignons supérieures (ou champignons comestibles) (**Sylvain, 1996**).

Les champignons filamenteux sont des organismes pluricellulaires dont l'appareil végétatif forme un thalle composé de filaments microscopiques, souvent ramifiés, appelés hyphes ; l'ensemble de ces hyphes forme le mycélium. Les hyphes sont entourés par une paroi cellulaire protectrice, qui permet les échanges avec le milieu extérieur. Elle est en générale formée de chitine associée à d'autres constituants (chitosanes, glucanes, protéines) (**Champion, 1997**).

Les champignons filamenteux sont ubiquitaires et très répandus dans la nature, notamment au niveau des végétaux en décompositions, ils sont hétérotrophes et plus particulièrement absorbotrophes puisqu'ils absorbent les éléments, digères de manière extracellulaire, au travers de leur appareil végétatif présentant une perméabilité pariétale. Ils ne peuvent pas synthétiser de matière organique à partir du gaz carbonique atmosphérique.

En effet, ils sont incapables d'assurer la photosynthèse. Une source de carbone organique est donc nécessaire à leur développement. Ils synthétisent leurs propres nutriments à partir de l'eau et des éléments nutritifs et minéraux qu'ils puisent dans leur environnement. Il joue un rôle important dans le recyclage des matières organiques en puisant leur énergie à partir de ces sources carbonées externes (**Lecellier, 2013**). La plupart des champignons sont mésophiles avec des optimums de croissance variant de 25°C à 35°C (**Nguyen Minh Tri, 2007**).

Les champignons se reproduisent essentiellement par des spores uni ou pluricellulaires. On distingue, selon leur origine, les spores sexuées et les asexuées. La forme sexuée, ou téléomorphe, a pour fonction de maintenir l'espèce et apparaît souvent en fin de saison alors que la forme asexuée, dite aussi forme imparfaite ou anamorphe, assure la propagation.

2 les principaux genres de champignons phyto-pathogènes

Plusieurs genres des 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*, des *Penicillium*, les *Fusarium*, les *Alternaria* et les *Claviceps* (Agrios, 2005). Ils sont la principale cause des maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70% des maladies des plantes cultivées (Deacon, 2006).

2.1 Le genre *Aspergillus*

2.1.1 Généralités

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. Certaines formes sexuées d'*Aspergillus sp.* sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*.

Il existe actuellement environ 180 espèces reconnues d'*Aspergillus* (Gugnani, 2003), définies d'après les caractères de l'appareil reproducteur (Botton et al., 1990). Les espèces d'*Aspergillus* se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires et les céréales (Gugnani, 2003).

La répartition géographique des *Aspergillus* est assez vaste. Ils sont les plus souvent présents dans les zones tropicales et subtropicales, donc adaptés à des climats chauds et à des milieux pauvres en eau (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002).

Les *Aspergillus* poussent rapidement, ils sont poudreux ou duveteux, de couleur variables : blanc, vert, brun à noir.

Ils se caractérisent par la formation d'organes de reproduction asexués: les têtes Aspergillaires. Le conidiophore (Figure 1), de longueur variable, se renfle à son extrémité terminale formant une vésicule globuleuse, à partir de celle-ci se forment des phialides, soit directement, soit par l'intermédiaire de métules. Les phialides forment des conidies unicellulaires, basipétales disposées en chaînettes (Rouviere, 2002).

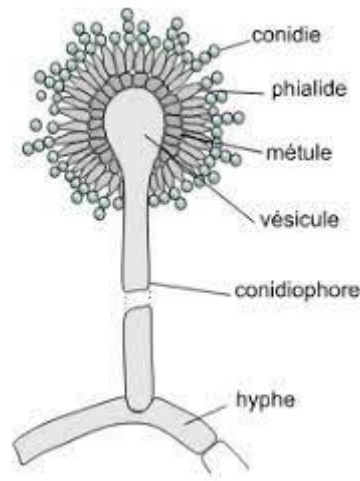


Figure 1. Principaux caractères morphologiques des *Aspergillus*

2.1.2 Potentiel toxigène du genre *Aspergillus*

De nombreuses espèces appartenant au genre *Aspergillus* sont connues pour leur capacité à produire certaines mycotoxines (Pitt, 2000).

- *Aspergillus terreus* élabore des substances antibactériennes, de toxicité variable (flavipine, terréine, citrinine, erdine et molécules voisines, calavacine) (Botton et al., 1990).
- *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxines. L'aflatoxine B1 est classée comme cancérigène chez l'homme et l'animale (Iarc, 1993).
- *Aspergillus fumigatus* synthétise plusieurs métabolites très toxiques comme la fumagiline, acide helovlique, la gliotoxine, des alcaloïdes voisins de ceux de l'ergot de seigle (Moreau, 1982).
- *Aspergillus ochraceus* est le principale producteur d'ochratoxine A. Il colonise de très nombreux substrats (Ramos et al., 1998).

2.2 Le genre *Penicillium*

Le Penicillium est surtout connu comme étant le producteur du premier antibiotique, la pénicilline. De fait, les espèces de *Penicillium* peuvent produire plusieurs composés organiques et un grand nombre de métabolites spécifiques, y compris certains métabolites possédant des propriétés antibiotiques et antivirales de même que des mycotoxines puissantes.

2.2.1 Généralités

Ce genre de moisissure est très répandu dans les régions à climat tempéré. Certaines espèces de *Penicillium* contaminent les céréales et les grains avant la récolte.

Les *Penicillium* sont des mycètes mésophiles pouvant croître entre 5 et 37 °C (température optimale de 20-30 °C). La croissance est optimale *in vitro* à 23 °C, à un pH de 3 - 4,5. Activité de l'eau : $a_w = 0,78 - 0,88$. Les *Penicillium* sp. sont les organismes dominants des « moisissures bleues et vertes » associées au pourrissement des aliments en particulier les fruits et les légumes. 85 espèces sont connues pour être toxigènes, et la plupart des mycotoxines sont produites par un petit nombre d'espèces (**Rouviere, 2002**).

2.2.2 Morphologie microscopique

Les hyphes hyalins septés (1,5-5 µm de diamètre) portent des conidiophores ramifiés ou non-ramifiés (**Figure 2**). La première cellule du conidiophore est appelée cellule pied; les branches secondaires sont connues sous le nom de métules. Les métules sont plus ou moins cylindriques, à parois lisses, portant de trois à six phialides en forme de bouteille. Les phialides produisent de longues chaînes sèches de petites spores rondes à ovales (2,5-5 µm). Les souches peuvent être classées en quatre catégories selon le type de ramification des conidiophores.

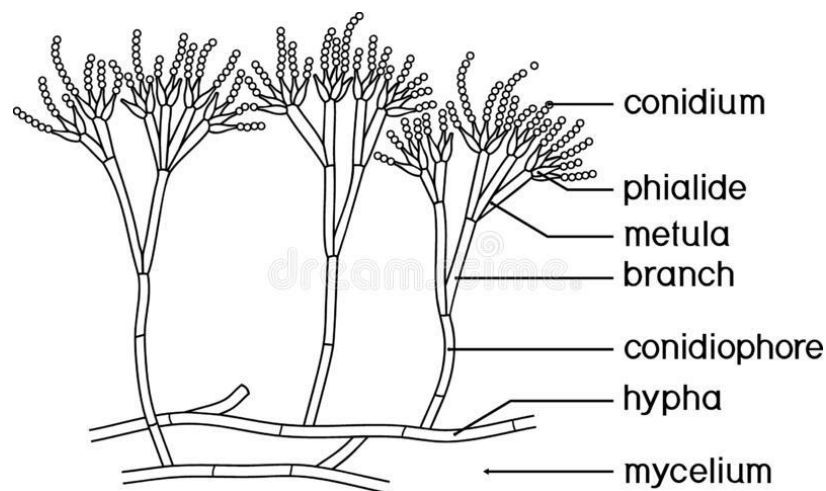


Figure 2. Principaux caractères morphologiques des *Penicillium*

2.2.3 Potentiel toxigène

La majorité d'espèce du genre *Penicillium* sont capable de produire des mycotoxines :

- l'acide cyclopiazonique (*Penicillium chrysogenum*)
- l'acide pénicillique (*Penicillium cyclopium*)
- la patuline ou la clavacine (*Penicillium expansum*, *Penicillium griseofulvum*)
- la citrinine (*Penicillium expansum*)
- l'ochratoxine A (*Penicillium verrucosum*) (**Pitt, 2000**).

2.3 Le genre *Fusarium*

2.3.1 Généralités

Les espèces du genre *Fusarium* sont des champignons filamenteux cosmopolites, comprenant des pathogènes opportunistes infectant les plantes du monde entier, mais pouvant également se développer en tant que saprophytes dans diverses zones climatiques (Stępień *et al.*, 2019). On distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature. Certaines sont phytopathogènes et capables de produire de dangereuses toxines contaminant les denrées alimentaires et provoquant ainsi des maladies graves chez les animaux (et parfois chez l'homme) qui les consomment (mycotoxicoses) comme *F. graminearum* (Chabasse *et al.*, 2002 ; Stępień *et al.*, 2019). Elles sont aussi largement répandues dans le sol, en particulier le sol cultivé et sont actives dans la décomposition de matières végétales cellulosiques. Elles sont une des principales causes de pourriture des fruits et des légumes et sont généralement associées aux céréales et aux légumineuses qu'elles envahissent généralement avant la récolte comme *F. oxysporum* et *F. solani* (Pitt *et al.* 2009 ; Stępień *et al.*, 2019).

2.3.2 Fusariose et mécanisme d'invasion des plantes

La fusariose est une maladie causée par les espèces appartenant au genre *Fusarium* qui vivent généralement dans le sol sous forme de mycélium, de périthèces dans les débris infectés et de chlamydospores (qui peuvent persister jusqu'à quatre ans) puis attaquent de nombreuses plantes (Caron, 1993). Ces agents pathogènes infectent les plantes via les racines qu'elles pénètrent directement ou par des blessures d'origine mécanique ou biologique. L'infection commence généralement à partir du sol, touche d'abord les racines et/ou le collet, et peut par la suite, remonter jusqu'aux autres organes telles les tiges et les feuilles, ce qui provoque des modifications du métabolisme des cellules hôtes, la destruction des tissus et, éventuellement, le développement de nombreuses maladies. Une fois, l'agent pathogène forme son mycélium sur la plante infectée et libère ses conidies, ces dernières peuvent être transportées par le vent et/ou la pluie jusqu'à atteindre toute la partie de la plante (Jeunot, 2005 ; Nasraoui, 2008 ; Stępień *et al.*, 2019). Les conditions optimales pour le développement de la fusariose dépendent des espèces du genre *Fusarium*, mais souvent une humidité faible et une température autour de 20°C sont des conditions favorables pour l'apparition de la maladie (Nasraoui, 2008).

2.3.3 Les caractéristiques morphologiques

Les caractères primaires ont été les premiers utilisés pour décrire et classifier le genre *Fusarium*. Ils correspondent aux aspects macroscopiques des champignons, tels que la forme et la taille des conidies. Les conidies sont les spores assurant la reproduction asexuée des champignons. Les *Fusarium* sont caractérisés par trois types de spores (**Figure 1**) (Nelson et al., 1994; Jeunot, 2005; Leslie and Summerell, 2006).

- ✚ **Les macroconidies**, fusiformes et cloisonnées. Leur présence est la caractéristique majeure qui permet de distinguer le genre *Fusarium* des autres genres. Les différentes formes des macroconidies, leur taille ainsi que les extrémités apicales et basales (arrondies, crochetées, effilées, crantées) sont des éléments centraux pour l'identification des espèces du genre *Fusarium*. Ils peuvent permettre de différencier des espèces proches (**Figure 3**).
- ✚ **Les microconidies**, petites, septées ou non (0 ou 1 septum, parfois 2 septa pour certaines espèces). Leurs formes sont diverses : fusiformes, ovoïdes, en forme de poire (piriforme) ou de rein. Elles ne sont pas produites par toutes les espèces de *Fusarium*. Leur distinction s'exerce sur les microconidies elles-mêmes, les cellules conidiogènes sur lesquelles elles sont formées (monophialides ou polyphialides) ainsi que leur arrangement (seule, en chaîne, en bouquet) (**Figure 3**).
- ✚ **Les chlamydospores**. Elles ne sont pas présentes chez toutes les espèces. Elles sont formées seules, doublées, en bouquet ou en chaîne. Elles sont terminales, intercalaires et différenciées par le mycélium ou par les conidies (**Figure 3**).

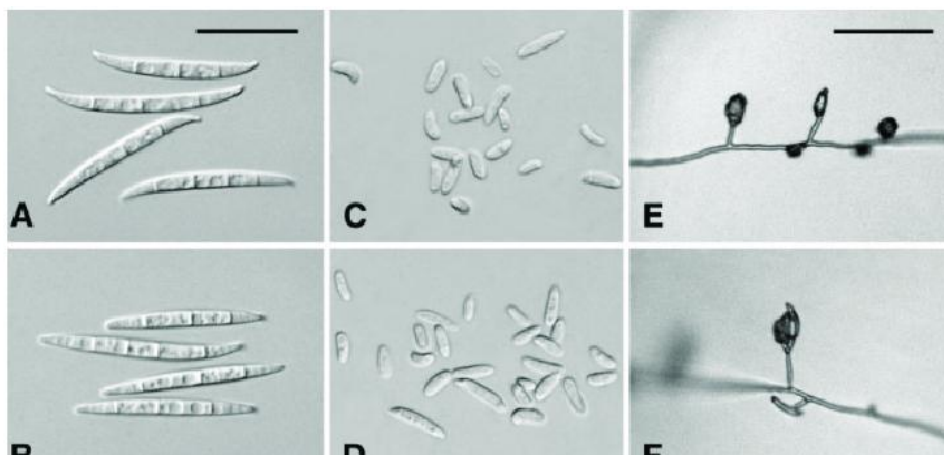


Figure 3.Caractères morphologiques primaires de deux espèces de *Fusarium*. A et B : macroconidies, C et D : microconidie, E et F : les chlamydospores (Leslie and Summerell, 2006)

2.3.4 Pouvoir pathogène et potentiel toxigène

Les *Fusarium* touchent aussi bien le règne végétal que le règne animal. Les effets sont divers selon l'espèce affectée et peuvent être directs ou indirects.

De nombreuses espèces de *Fusarium* sont saprophytes mais peuvent être des parasites ou des agents pathogènes de plantes en infectant les fruits, légumes, les céréales et les semences telles que *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. proliferatum*..etc (**tableau 1**) (**Aoki et al., 2014 ; Askun, 2018**). Certaines espèces telles que *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et *F. equiseti* peuvent produire plusieurs types de toxines dont les plus connues sont la zéaralénone, la fumonisine, la moniliformine et les trichothécènes, déoxynivalénol, diacétoxycirpénol, nivalénol) (**Gallotti et Fremy, 2006 ; Babadoost, 2018; Jimenez-Garcia et al., 2018**).

Ces mycotoxines contaminent préférentiellement les céréales comme le maïs, l'orge, le riz, le blé et l'avoine. La contamination peut survenir avant la récolte lorsque la plante cultivée est en pleine croissance ou après la récolte pendant la transformation. Le stockage des céréales à des températures supérieures à 37 °C augmente l'humidité ce qui favorise la croissance de moisissures et la sécrétion des mycotoxines (**Jimenez-Garcia et al., 2018**). Les mycotoxines fusariennes ont un effet toxique chez l'homme et chez l'animal. Elles peuvent en fait entraîner des anomalies congénitales, des avortements et même des cancers (**Babadoost, 2018**).

Tableau 1.Exemples d'espèces phytopathogènes du genre *Fusarium*

Espèce végétale hôte	les espèces du genre <i>Fusarium</i>
Banane	<i>F. oxysporum f. sp. Cubense</i>
Coton	<i>F. oxysporum f. sp. Vasinfectum</i>
Légumes	<i>F. avenaceum</i> , <i>F. oxysporum</i> et <i>F. solani</i>
Mais	<i>F. graminearum</i> , <i>F. proliferatum</i> , <i>F. subglutinans</i> , <i>F. Verticillioides</i>
Riz	<i>F. fujikuroi</i>
Blé	<i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i> et <i>F. pseudograminearum</i>

(**Aoki et al., 2014 ; Askun, 2018**).

2.3.5 Exigences de croissance

Le *Fusarium* est reconnu surtout pour se développer dans les récoltes de céréales (grains, paille et foin) ; toutefois, plusieurs espèces peuvent être trouvées occasionnellement sur une

variété de substrats. Les espèces de *Fusarium* peuvent s'adapter à divers substrats; mais cette adaptation ne peut se faire qu'au prix de changements importants dans les caractéristiques morphologiques de ces mycètes (**Leslie and Summerell, 2006**).

Le *Fusarium* exige des conditions humides : il se développe même dans de l'eau stagnante souillée telle que celle trouvée dans les réservoirs des humidificateurs. La plupart des espèces de *Fusarium* croissant dans l'environnement intérieur sont légèrement xérophiles et exigent un minimum d'eau libre (A_w), soit entre 0,86 et 0,91

Activité en eau : $A_w = 0,86-0,91$

2.4 Le genre *Alternaria*

2.4.1 Généralités

Alternaria est un champignon phytopathogène de la famille des Pleosporaceae. Ce genre renferme un grand nombre d'espèces (plus de soixante), présent dans les régions tempérées et tropicales de l'Ancien et du Nouveau monde, provoquant chez les plantes de la famille des Solanaceae, notamment la tomate et la pomme de terre, mais aussi le piment et l'aubergine.

Il est classé parmi les Deuteromycetes Dematiaceae, formant un mycélium cloisonné brun ne représentant aucun mode de reproduction sexuée connu. Les champignons appartenant au genre *Alternaria* se multiplient de manière asexuée à partir de filaments spécialisés appelés conidiophores où vont être différenciées des conidies (ou spores), brunes également, très caractéristiques du genre, organisées en chaînette. Ce sont des dictyospores : conidies piriformes, à la base élargie avec des septa transversaux, obliques et longitudinaux en nombre variable. Leur extrémité est constituée d'une partie rétrécie plus ou moins longue appelée le « bec ». L'aspect global rappelle la forme d'une massue. Chez l'homme, ce champignon peut causer des infections de l'appareil respiratoire et provoquer de l'asthme chez les personnes sensibles. Mais cette souche provoque une maladie appelée « alternariose » dans les plantes.

2.4.2 La maladie Alternariose

L'infection est provoquée par *Alternaria*, sur les feuilles des lésions qui ressemblent souvent à des taches ayant la forme d'anneaux concentriques ressemblant à une cible (**Figure 4**).



Figure 4. Une feuille de la ptd contaminée par Alternariose

Ces taches apparaissent habituellement quelques semaines après la levée de la plante et, dans un premier temps, sur les feuilles du bas, sous la forme de toutes petites taches noires ou brunes qui s'agglomèrent par la suite. Les tubercules infectés sont parfois atteints d'une pourriture sèche essentiellement superficielle, en cours de stockage (**Figure 5**) (CEE-ONU, 2014).



Figure 5. Tubercule touché par l'Alternariose

Cependant la majorité des espèces du genre *Alternaria* sont des champignons phytopathogènes inféodés à une famille de plantes ou à une plante spécifiquement. Ils sont généralement présents sur les semences provoquant des manques à la levée ou des fontes de semis. Les jeunes pousses atteintes constituent une source importante d'inoculum primaire pour les plantes matures où tous les organes aériens peuvent être affectés (**Champion, 1997**). La gamme de plantes hôtes concernées par l'alternariose est très variée et certaines espèces peuvent provoquer d'importants dégâts sur des espèces cultivées occasionnant des pertes financières significatives. C'est le cas, par exemple d'*A. triticina* sur les céréales, *A. dauci* et *A. radicina* sur cultures maraîchères comme la carotte. *A. brassicicola* qui fait partie d'un

complexe fongique avec *A. japonica* et *A. brassicae*, est responsable de la maladie de la tache noire spécifique des Brassicacées, famille végétale qui comprend notamment le chou (*Brassicaoleracea*), la moutarde (*Brassicajuncea*) ou le colza (*Brassicanapus*).

L'alternariose sur la tomate est maintenant causée par deux espèces d'*Alternaria* morphologiquement comparable soit *A. solani* et *A. tomatophila*. Cette dernière serait plus virulente qu'*A. solani*. *Alternaria tomatophila* est observé chez la tomate, mais pas chez la pomme de terre.

2.4.3 Développement de la maladie

Les spores d'*Alternaria* peuvent être propagées par le vent ou les éclaboussures d'eau sur les plantes, c'est à partir de là où l'infection peut commencer. les spores ont besoin d'humidité pour germer et elles peuvent pénétrer par les stomates ou par des lésions sur la plantes. Les plantes qui sont sous-fertilisées, les plantes dont certaines parties sont faibles ou endommagées, et les plantes stressées sont plus susceptibles d'être infectées par *Alternaria*. *Alternaria* préfère les températures plus chaudes se situant autour de 27 °C, et les taux d'infection diminuent significativement lorsque la température descend sous les 12 °C.

2.5 Le genre *Claviceps*

Claviceps est une espèce de champignon appartenant à la famille des Clavicipitacées. Une classification selon la variété (pathovars) d'ergot a été tentée, mais les variétés étant peu stables dans l'espace, aucune classification n'a pu voir le jour. Cependant, des techniques de biologie moléculaires RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) et RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) permettent de différencier trois groupes écologiques . Les groupes G1 et G2 ont une gamme d'hôte très large et sont chacun spécialisés dans un système écologique propre : G1 se trouve préférentiellement dans des zones ouvertes telles que les prairies ou les champs, tandis que G2 se retrouve principalement dans des zones humides et ombragées. Le groupe G3 semble quant à lui lié à une spécialisation d'hôte : seules les espèces Spartine et Distichlis (espèces de la sous famille des Chloroideae) peuvent être parasitées par l'ergot. Les espèces Spartine et Distichlis vivent dans des milieux particuliers : des marécages salés (**Jacquin et al., 2010**).

Les critères utilisés pour séparer les différentes espèces de *Claviceps* sont : la couleur, la forme et la taille des sclérotés (formes de résistance du champignon). Cependant, la taille du sclérote dépend en grande partie de la plante hôte et non pas de l'espèce de *Claviceps*. En effet, dans le cas de *C. purpurea*, un sclérote évoluant sur un pâturin annuel peut atteindre la taille de 1-2 mm de long, tandis que sur du riz, celui-ci peut atteindre une longueur supérieure à 50 mm .*Claviceps purpurea* est l'espèce type du genre et intéresse particulièrement les

autorités dans le contexte de sécurité alimentaire dans le monde bien que d'autres espèces doivent être citées comme *C. fusiformis* et *C. africana*. Les membres du genre *Claviceps* sont des parasites des carex, des joncs et des herbes en infectant la fleur. Aujourd'hui, près de 45 espèces de *Claviceps* sous la forme téléomorphe (état de reproduction sexuée) sont décrites, mais de nombreuses autres espèces existent sous la forme anamorphe.

2.5.1 Maladie de l'ergot

La contamination des épis par l'ergot (*Claviceps purpurea*) est rare, mais ce champignon mérite une attention particulière, car il est producteur d'alcaloïdes toxiques. Toute céréale à paille peut être contaminée, mais il existe des différences de sensibilité entre espèces : le seigle est plus sensible que le blé dur, le blé tendre que le triticale, lui-même plus sensible que l'orge et que l'avoine. Les graminées fourragères sont également concernées : vulpin, ray-grass, fétuque, dactyle, fléole.

Les symptômes apparaissent seulement sur les épis car le champignon attaque l'inflorescence des céréales (**Figure 6**). Une masse blanchâtre puis noire violacée apparaît entre les glumelles : c'est le sclérote ou l'ergot. Ce dernier peut dépasser nettement de l'épi de blé, mais pas systématiquement, ce qui rend son observation difficile. L'ergot a souvent la même taille et la même forme que les grains, mais il se différencie par sa couleur noire violacée. En coupe, le sclérote d'ergot est noir à l'extérieur, avec une section blanc violacé.



Figure 6.maladie de l'ergot sur le blé

Cette maladie se reconnaît par la présence de sclérotés . Les sclérotés sont des masses dures et noirâtres qui remplacent le grain (**Figure 7**). Le sclérote, qui permet au champignon de survivre à l'hiver, est formé de deux couches : un mycélium très cloisonné à parois épaisses constitue la couche externe tandis que le pseudo parenchyme, d'une couleur blanc rosé, constitue la couche interne. Les sclérotés contiennent des alcaloïdes qui sont toxiques pour les

humains et le bétail. Une concentration en sclérotés supérieure à 0,10 % en poids dans les rations animales est généralement considérée comme nocive pour l'alimentation du bétail (**Bailey et al. 2004**).

D'après **Bauer (1972)**, le contenu en sclérotés chez le blé peut varier d'une année à l'autre, car le taux d'humidité relative ainsi que la quantité et la distribution des précipitations influencent le développement de la maladie. Les facteurs climatiques ont également des effets sur la production et la germination des spores, de même que sur la période pendant laquelle la plante est sensible au champignon pathogène (**Rapilly 1968**). Des conditions froides et humides favorisent la germination des sclérotés, empêchent la pollinisation et prolongent la période pendant laquelle les épis demeurent ouverts (**Bailey et al. 2004**).



Figure 7. Le sclérote d'ergot est noir à l'extérieur, avec une section blanc violacé.

Chapitre 2

Les pesticides et les biopesticides

Chapitre 2 Les pesticides et les biopesticides

3 Méthodes de lutte contre les microorganismes phyto-pathogènes

Les plantes subissent souvent des dégâts causés par des « ravageurs ». Insectes et acariens sont les plus importants et leur contrôle a souvent constitué une des préoccupations majeures des agriculteurs. Les plantes peuvent être aussi attaquées par des maladies du fait du développement de bactéries, de champignons, de virus. Les ravageurs et les maladies constituent les ennemis des cultures que l'on appelle communément parasites. Pour lutter contre ces ennemis, l'homme a développé un ensemble de pratiques et de produits chimiques et bio (naturelle).

3.1 La lutte chimique

c'est les pesticides : les herbicides contre les mauvaises herbes, les fongicides contre les champignons et les insecticides contre les insectes. La lutte chimique est l'application d'un produit phytosanitaire en vue de détruire une population indésirable.

3.1.1 Les fongicides

3.1.1.1 Définition

Le mot "fongicide" désigne un produit chimique capable de tuer un champignon. Au terme fongicide il faut adjoindre les termes de fongistatique et d'anti sporulant. Le terme de fongistatique qualifie l'effet d'un produit qui inhibe le développement d'un champignon, soit sous sa forme végétative, soit sous sa forme de conservation. Lorsque le produit n'entrave pas la croissance du mycélium, mais seulement les phénomènes de sporulation ou de reproduction, il est dit anti sporulant ou généstatique (**Lhoste, 1960**).

3.1.1.2 Les fongicides non-systémiques

Les fongicides non-systémiques sont ceux qui demeurent au niveau du point d'application sur la plante. Ils sont dits de surface s'ils restent à l'extérieur du végétal, à la surface des feuilles dans le cas d'une application foliaire. Lorsque les fongicides sont suffisamment lipophiles, ils sont piégés au niveau de la cuticule des feuilles ; on les appelle alors cuticulaires. Ils peuvent aussi franchir la cuticule et diffuser dans les parois des premières couches cellulaires. Dans ce cas, il s'agit de fongicides pénétrants (**Rocher, 2004**).

3.1.1.3 Les fongicides systémiques

La systémie des fongicides se limite uniquement à une systémie xylémienne : le produit diffuse de la semence (zone d'application) vers le sol environnant puis est absorbé par les racines au moment de la germination pour migrer vers les parties aériennes (**Rocher, 2004**).

3.1.1.4 Le mode d'action des fongicides

En fonction du mode d'action sur l'agent pathogène, les fongicides peuvent agir sur plusieurs sites (multi sites) ou perturber une voie métabolique spécifique (uni site). Selon l'action exercée au niveau du cycle du développement du champignon, un fongicide peut être préventif ou anti pénétrant (action avant infection), curatif (action pendant la phase d'incubation), anti sporulant (empêche la sporulation) ou éradiquant (élimine le champignon déjà visible). En outre, du point de vue comportement dans la plante, un fongicide peut être de surface ou de contact, pénétrant, translaminaire ou systémique.

La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire (**Leroux, 2004**).

3.1.1.5 Les inconvénients de la lutte chimique

L'utilisation irraisonnée des produits chimiques a eu dans certaines situations, des conséquences inattendues sur la santé humaine et pour l'environnement telles que, la pollution importante des écosystèmes et problèmes de santé publique causé par le chlordécone, aux Antilles (**Dallaire et al., 2012**). Pour les fongicides, leur usage intensif a rapidement conduit à la sélection des souches résistantes (le premier cas est celui de la résistance aux benzimidazoles, premiers fongicides de synthèse à cible biochimique unique, chez de nombreux champignons phyto-pathogènes). Cette résistance est d'autant plus facilitée, chez les champignons, que ces organismes possèdent des caractéristiques biologiques favorisant leur adaptation aux contraintes anthropiques (**Stukenbrock et McDonald, 2008**).

Plusieurs études expérimentales ou épidémiologiques laissent supposer un risque important d'atteinte par certaines formes de cancer à la suite de l'exposition chronique à certains pesticides couramment utilisés. Les types de cancers les plus souvent cités sont le cancer de cerveau, de poumon, de foie, de l'estomac et la leucémie. Ils peuvent même affecter la reproduction humaine en exerçant une toxicité directe sur les organes de reproduction ou en interférant avec la fonction hormonale (**Capkin et al., 2006**). Les effets neurologiques constituent l'une des manifestations les plus fréquents des intoxications aiguës des pesticides (**Cuppen et al., 2000**).

Des études ont montré aussi que les herbicides sulfonyles metsulfuron et dans une moindre mesure le chloresulfuron sont à l'origine d'une réduction de la croissance des bactéries du sol *Pseudomonas* (**Boldt et Jacobsen, 2006**).

3.2 La lutte biologique (les bio pesticides)

Le milieu agricole et le milieu forestier sont l'objet depuis plusieurs années de critiques concernant leur impact environnemental. Les citoyens s'inquiètent de la dégradation des milieux naturels ainsi que de l'innocuité des aliments qu'ils consomment. Cette perception négative a été exacerbée en Europe suite aux crises successives qui ont frappé le milieu agricole (contamination de poulets à la dioxine, crise de la vache folle, épidémie de fièvre aphteuse). Face à ces critiques et afin de rendre moins polluante et moins risquée l'agriculture moderne, un certain nombre de solutions, dont la lutte biologique, sont proposées (**Boivin, 2001**).

3.2.1 Définition

Dans le domaine agronomique, on entend par la lutte biologique toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et /ou la nocivité des divers ennemis des cultures. Rongeurs, insectes et acariens, nématodes, agent des maladies des plantes et mauvaises herbes sont justiciables d'une telle lutte, qui est basée sur des relations naturelles entre individus ou entre espèces, mises à profit par l'homme de diverses manières. L'organisme vivant utilisé comme agent de lutte est un « auxiliaire » de l'homme (**Grisson, 1991**). Il existe de nombreuses définitions de la lutte biologique mais nous nous en tiendrons à une définition plus large de la lutte biologique est parfois utilisée : « *Toute action mettant enjeu des organismes modifiant l'hôte, y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite* » (**Corbaz, 1990**). Une autre définition générale telle celle proposée par **Van Drische et Bellows, (1996)** : « *La lutte biologique est un processus agissant au niveau des populations et par lequel la densité de population d'une espèce est abaissée par l'effet d'une autre espèce qui agit par prédation, parasitisme, pathogénicité ou compétition* ». Le concept de lutte biologique a subi une évolution au cours du temps et intègre dans sa définition actuelle toutes les formes non-chimiques de contrôle des ravageurs des récoltes mais aussi des mauvaises herbes (**Kouassi, 2001**).

3.2.2 Les auxiliaires de la lutte biologique

Pratiquement tous les organismes vivants peuvent être considérés comme des ennemis naturels selon l'angle avec lequel on examine leur écologie. Cependant dans un contexte de lutte biologique en agriculture et en foresterie, et surtout en ce qui concerne la lutte biologique

contre les insectes ravageurs, quatre groupes d'organismes sont surtout utilisés. Ce sont les microorganismes, les nématodes, les prédateurs et les parasitoïdes (**Boivin, 2001**). Ces organismes sont aussi nommés les auxiliaires de lutte (**Lambert, 2010**).

Il y a plusieurs catégories de bio pesticide :

- ✚ **Microbien** : Substances actives extraites des micro-organismes de bactéries, de champignons et de virus ... Agissent plus comme bio-agresseur.
- ✚ **Animal** : Prédateurs, parasites ou molécules extraites d'animaux agissant contre les ravageurs. C'est aussi les signaux et molécules qui peuvent être émis des animaux (appelés « semio-chimiques ») pour créer la confusion et les repousser.
- ✚ **Végétale** : Substances actives qui servent d'insecticide, d'asepticide, ou de régulateur. Il existe aussi des préparations et des mélanges d'extraits de certaines plantes (les purins) ayant des effets après la vaporisation de la solution sur la culture (**Deravel et al., 2013**).

Quelque Exemples :

3.2.2.1 Bio pesticide végétal

- L'huile de neem (*Azadirachta indica* - un arbre tropical), bio pesticide végétal le plus utilisé, comme fongicide, insecticide.
- L'extrait de fleurs de pyrèthre (*Tanacetum*) qui paralyse tous les insectes et les acariens rapidement.
- La quassine (extrait du *Quassia amara*, arbre d'Amérique) est utilisée comme insecticide
- Le purin de sureau contre les campagnols.
- La terre de diatomées comme biocide-insecticides (contre les insectes rampants et les parasites)
- Le marc de café contre les pucerons, les fourmis, les limaces et les escargots
- Le purin de rhubarbe contre les limaces
- Autres substances issues du végétal utilisées comme bio pesticides : certaines huiles végétales (comme le colza et la menthe verte), la nicotine, la roténone, la prêle, et beaucoup de formes de purins ou de tisanes.
- L'extraits des plantes aromatiques et médicinales contre des champignons phyto-phathogènes.

3.2.2.2 Bio pesticide animal

- Certains acariens sont des prédateurs des insectes ravageurs.
- Les coccinelles mangent les pucerons.
- Certains nématodes, comme *Phasmarhabditis hermaphrodita*, contre les limaces
- Phéromones de *Cydia pomonella* (papillon) contre les autres animaux de la même espèce dans les verges
- Autres substances : venins d'araignées pour paralyser les insectes, hormones d'animaux, huile de poisson très odorante.

3.2.2.3 Biopesticide microbien

- Substances à base de bactéries *Bacillus thuringiensis* comme insecticide
- Virus *Spodoptera exigua nucleopolyhedrosis* comme larvicide.
- Utilisation du champignon *Trichoderma spp.* comme fongicide sur d'autres espèces de champignons.

3.2.3 Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique :

La lutte biologique présente de nombreux avantages des points de vue environnementaux, sociaux et économiques (**Lefort, 2010**).

3.2.3.1 Les avantages

Les extraits des plantes sont, depuis longtemps, utilisés en agriculture pour le contrôle des maladies fongiques. Ils présenteraient les avantages d'être à la fois moins toxiques pour la santé et moins polluantes pour l'environnement (**Papoutsis et al., 2019 ; Fauvergue, 2020**).

- ❖ Efficace.
- ❖ Permet de restreindre ou d'éliminer l'utilisation des pesticides chimiques.
- ❖ Moins toxique que les pesticides chimiques.
- ❖ Elle est utilisable en serre.
- ❖ Permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques.
- ❖ Plus grande spécificité d'action.
- ❖ Faible coût de développement.
- ❖ Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricole.
- ❖ Pas de délai de traitement avant la récolte.
- ❖ Non contamination des produits (pas de résidus chimiques).
- ❖ Dégradation rapide du bio pesticide, diminuant les risques de pollution.

3.2.3.2 Les inconvénients

- ❖ Lutte souvent faite en prévention et moins efficaces lorsque curative.

- ❖ Effet moins drastique que les pesticides (plus d'application).
- ❖ Effets différés.
- ❖ Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre.
- ❖ Efficacité relative aux conditions climatiques.
- ❖ Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur.
- ❖ Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi-vie et températures plus fraîches).
- ❖ Nécessite d'excellentes connaissances de l'écologie des pathogènes cibles et des agents de contrôles biologiques et de relation pathogène cible-agent de contrôle biologique.

Matériel & méthodes

4 Matériel et méthodes

4.1 Objectif de l'étude

L'objectif de notre travail est d'étudier les propriétés antifongiques de variétés blanche et rouge du genre *Allium* contre les moisissures alimentaires mycotoxinogènes.

4.2 Préparation des milieux de culture

4.2.1 Préparation de milieu Malt-Agar

La gélose à l'extrait de malt ou Malt-Agar est un milieu de culture en biologie. Cette gélose est aussi appelée "GEM" (pour Gélose à l'Extrait de Malt) ou "MEA" (de l'anglais Malt Extract Agar). Le milieu est utilisé pour le dénombrement des levures et des moisissures dans les produits alimentaires et les produits pharmaceutiques. Elle convient également pour l'isolement et l'entretien des souches (**Figure 8**).



Figure 8.Préparation du milieu Malt -Agar, **a)**:Agar-agar, **b)** : Malte , **c)**: eau distillé (Merdaci & Chibani, 2023)

Dans une bouteille de préparation, on verse 0.6 l de l'eau distillée, ensuite on ajoute 10g de poudre Agar- Agar et 7g de poudre de Malt et on agite jusqu'a la dissolution de la poudre dans l'eau (**Figure 9**). On ferme bien la bouteille et on la met dans un autoclave pendant 20 min a 120°C (**Figure 9**).



Figure 9.a):le mélange de poudre, **b):** autoclavage du milieu (Merdaci & Chibani, 2023)

4.2.2 Préparation de milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA)

Le milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA) est un milieu de culture microbiologique courant produit à base de pomme de terre et de dextrose. La gélose PDA est un milieu utilisé pour l'identification, la culture et le dénombrement des levures et des moisissures à partir de denrées alimentaires (**Figure 10**).





Figure 10.Préparation du milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA)

a): pomme de terre, **b):**glucose, **c):**agar-agar, **d):**eau distillé (Merdaci & Chibani, 2023)

On épluche et on coupe 50g de pomme de terre en petits dés, on fait bouillir cette dernière dans de l'eau distillée pendant 30 min (**Figure 11**) et on laisse refroidir pendant 15 min, puis on filtre la pomme de terre et on verse le bouillon obtenu dans une bouteille de 500 ml (**Figure 11**).



Figure 11a): ébullition de la pomme de terre, **b):** la filtration (Merdaci & Chibani, 2023)

Ensuite on ajoute 10g de glucose et 5g de poudre Agar-Agar au bouillon. A la fin on ajoute 1 l de l'eau distillée pour un volume final d'un demi-litre (**Figure 12**). On agite le tout jusqu'à dissolution complète des poudres. On ferme bien la bouteille et on autoclave pendant 20 min a 120°C (**Figure 12**).



Figure 12.a): la dilution du bouillon avec l'eau distillé, **b):** l'autoclavage du milieu (Merdaci & Chibani, 2023)



Figure 13. Les milieux de culture : agar-malte et milieu PDA (Merdaci & Chibani, 2023)

4.3 Isolement de la flore fongique

Le matériel fongique a été obtenu par l'isolement des champignons phyto-pathogènes à partir de la plante de la pomme de terre. Pour isoler les moisissures interne et externe des feuilles et des racines de la plante on a utilisés la méthode suivante :

Les feuilles et les racines de la pomme de terre infectés ont été lavées en surface avec l'eau du robinet et on étés découpées en petit fragments (**Figure 14**). À l'aide d'une pince stérile on fait tremper les fragments dans de l'hypochlorite de sodium à 2% (eau de javel) et les feuilles dans hypochlorite de sodium à 1% pour les désinfecter (**Figure 14**).



Figure 14.a): les fragments découpés, **b):** désinfection et rinçage des fragments (Merdaci & Chibani, 2023)

Ensuite on trempe les fragments dans l'eau distillé stérile dans des boites de Pétri pendant 3 min puis on les rince encore une fois à l'eau distillé cette opération est répétée 3 fois (**Figure 15**). .



Figure 15.a):séchage des racines, **b):** séchage des feuilles (Merdaci & Chibani, 2023)

À la fin dans des conditions aseptiques et sous la hôte, les petits morceaux des feuilles et racines ont été placés directement dans les boîte de Pétri contenant le milieu PDA et milieu Malte - agar (**Figure 16**). Les 4 boîtes de Pétri préparées ont été incubées dans l'étuve (**Figure 16**).



Figure 16. **a):**ensemencement dans le milieu, **b):**incubation dans l'étuve (Merdaci & Chibani, 2023)

4.4 Identification de la souche fongique

L'identification des moisissures isolées se fait à l'état pure sur milieu solide. L'examen est effectué par :

- une observation macroscopique à l'œil nu (identification des caractères cultureux)
- une observation microscopique au microscope optique (identification des caractères morphologiques)
- et une identification des propriétés biochimiques (Botton *et al.*, 1990).

4.4.1 Etude des caractères macroscopiques

La moisissure sélectionnée est soumise à une identification macroscopique par un examen de la culture sur milieu gélosé PDA. L'examen macroscopique des souches isolées, permet de déterminer les caractères cultureux suivants :

- La croissance du champignon,

- Le développement du champignon,
- Le diamètre de la colonie,
- La texture,
- La couleur du thalle,
- La couleur du revers et l'odeur (**Lecellier, 2013**).

Les caractères culturaux sont remarqués de préférence sur le milieu PDA car les milieux trop riches en sucre et en peptone entraînent des phénomènes de pléomorphisme, les colonies peuvent perdre leur aspect caractéristique et ne pas sporuler (**Guiraud, 1998**).

4.4.2 Etude des caractères microscopiques

L'étude des caractères microscopiques se fait par l'examen microscopique qui permet ainsi de détecter la présence et la nature du mycélium, la présence ou l'absence du septum, les caractéristiques des fructifications et spores, etc. (**Almi, 2016**).

Mode opératoire

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch une fraction mycélienne à partir d'une culture et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène (**Chabasse, 2002**).

Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 40$ et $\times 100$ à l'aide d'un microscope.

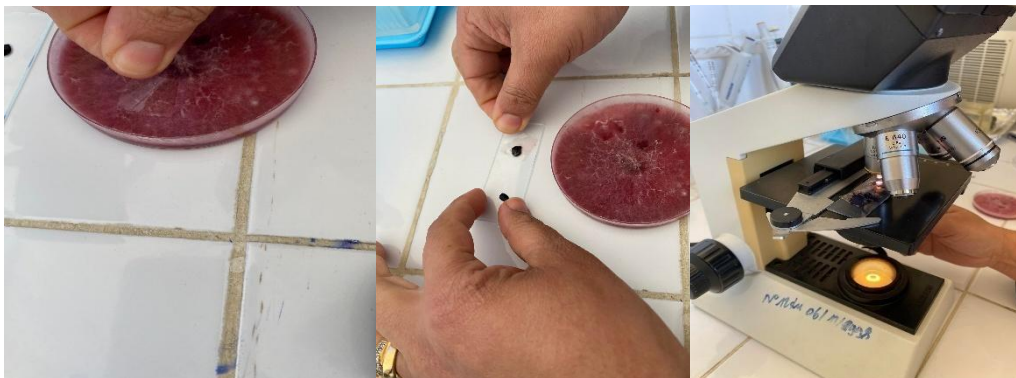


Figure 17.identification microscopique
(Merdaci & Chibani, 2023)

4.5 Repiquage de la souche fongique

Chaque isolat développé a été repiqué, cette méthode permet aux champignons de s'étendre sur toute la surface de la boîte de Pétri et produire des spores donc jusqu'à l'obtention de souches pures.

Mode opératoire

- À l'aide d'une anse de platine stérile, couper, un fragment du mycélium et le déposer au centre de la nouvelle boîte de pétri.
- L'incubation des cultures est effectuée à 40°C pendant 5 à 7 jours (**Botton et al., 1990**).

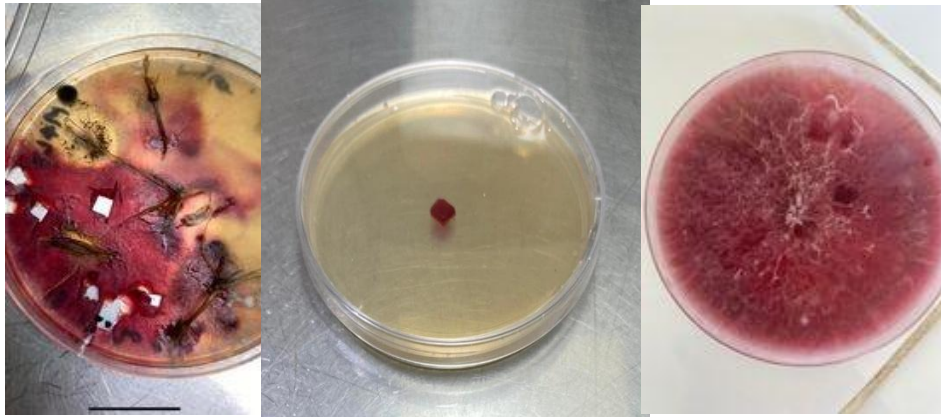


Figure 18.repiquage du champignon
(Merdaci & Chibani, 2023)

4.6 Etude de l'activité antifongique des extraits

Mode opératoire

- ✚ Racler les spores de la moisissure (**Figure 19**)
- ✚ et les mettre dans un tube à essai contenant une solution de l'eau physiologique stérile (**Figure 19**)
- ✚ la suspension est agité à l'aide d'un vortex pour homogénéisation



Figure 19.préparation de la suspension sporale

- ✚ La gamme des dilutions 100%, 75%, 50% et 25% a été préparée dans des tubes (**Figure 20**).



Figure 20.les différentes dilutions

- ✚ L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (**Figure 21**).
- ✚ L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface de la boîte, de va et vient en stries serrées(**Figure 21**).
- ✚ le disque imbibé est déposé à l'aide d'une pince stérile au centre de la boîte de Pétri
- ✚ les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à 40°C
- ✚ La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition après 7 jours d'incubation autour de chaque disque en millimètre à l'aide d'une règle (**Labiod, 2016**).



Figure 21.ensemencement des boîtes

4.6.1 Le pourcentage d'inhibition (PI)

Le pourcentage d'inhibition (PI) de la croissance mycélienne des souches testées est calculé selon la formule suivante (**Haddouchi, Lazouni et al. 2009**): $PI (\%) = ((Dt+Dc)/Dt)*100$

PI : Inhibition de la croissance fongique en pourcentage.

Dt : Diamètre de la croissance mycélienne dans un milieu sans huile essentielle (témoin).

Dc : Diamètre de la croissance mycélienne en présence d'huile essentielle.

4.6.2 Détermination de la CMI (concentration minimale inhibitrice)

Tout d'abord à l'aide d'une pipette prendre 15 µl de l'extrait brute avec différentes concentrations sont ajouté dans 100 µl du milieu PDA sans agar liquide contenant la souche à tester. Pour confirmer notre étude antifongique on prépare des tube témoins de différentes souches. Les tubes ainsi préparés sont agités et incubés à 40° C pendant 7 jours (**Figure 22**).

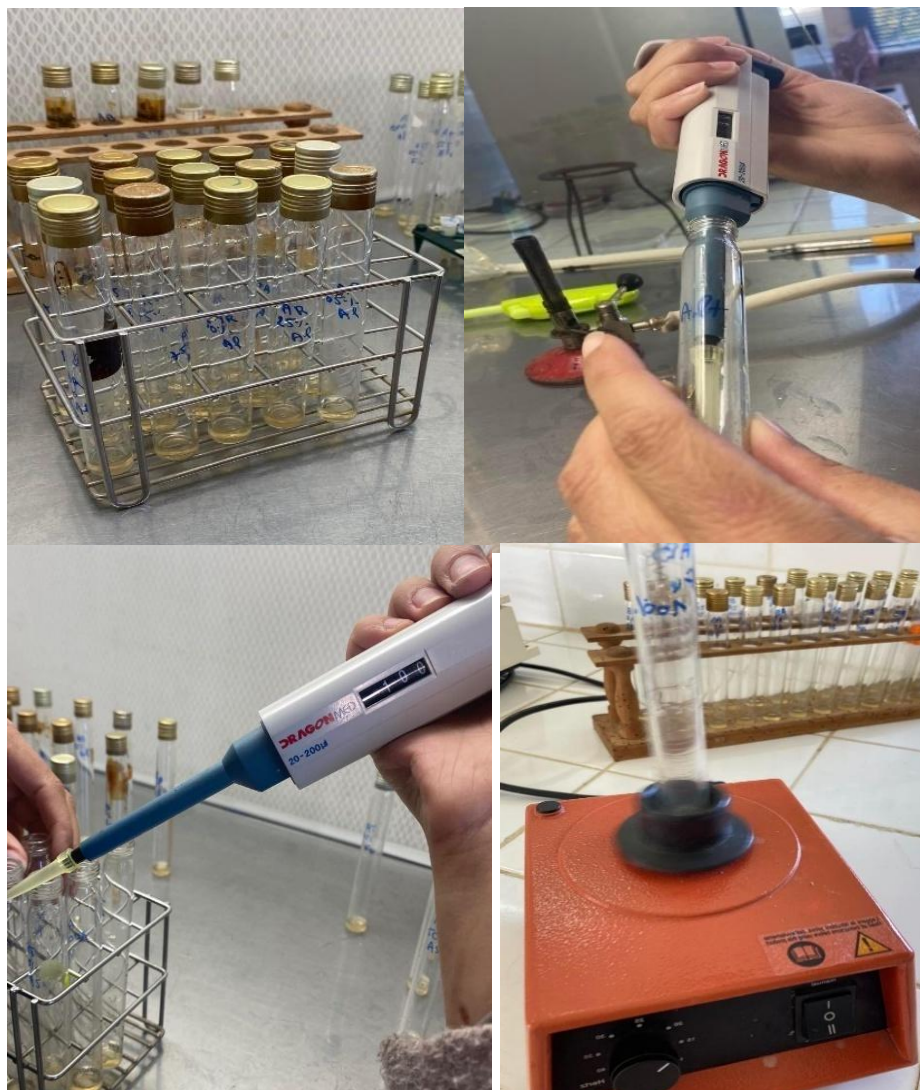


Figure 22. a): milieu PGA liquide, b): suspension sporale, c: ajouter l'extrait brut, d): agitation
Après incubation, on repère les tubes dans lesquels on ne note aucune croissance de moisissures. la CMI : c'est la concentration minimale pour laquelle on ne note aucune croissance des moisissures).

4.6.3 Détermination des concentration minimale fongicide (CMF) et CFS (concentrations fongistatiques)

Après avoir repéré les tubes dans lesquels aucune croissance n'est constatée, on poursuit l'expérimentation dans de nouveaux tubes identifiés. Dans chaque tube, on introduit 95µl de milieu PDA sans agar liquide stérile d'un essai déterminé ayant présenté une inhibition totale. On fait de même dans les tubes témoins. Les tubes ainsi préparés sont incubés à 27° C.
Après 7jours d'incubation, on note les subcultures dans lesquelles il n'y a aucune reprise de croissance : on détermine ainsi les concentrations minimales fongicides (CMF). On note les concentrations des extraits des subcultures pour lesquelles il y a croissance comme étant les concentrations fongistatiques (CFS).

Résultats & Discussion

5 Résultats et Discussion

5.1 Identification des moisissures

5.1.1 Aspect macroscopique

L'aspect des colonies de moisissures isolées sont représentés dans la figure ci-dessous:

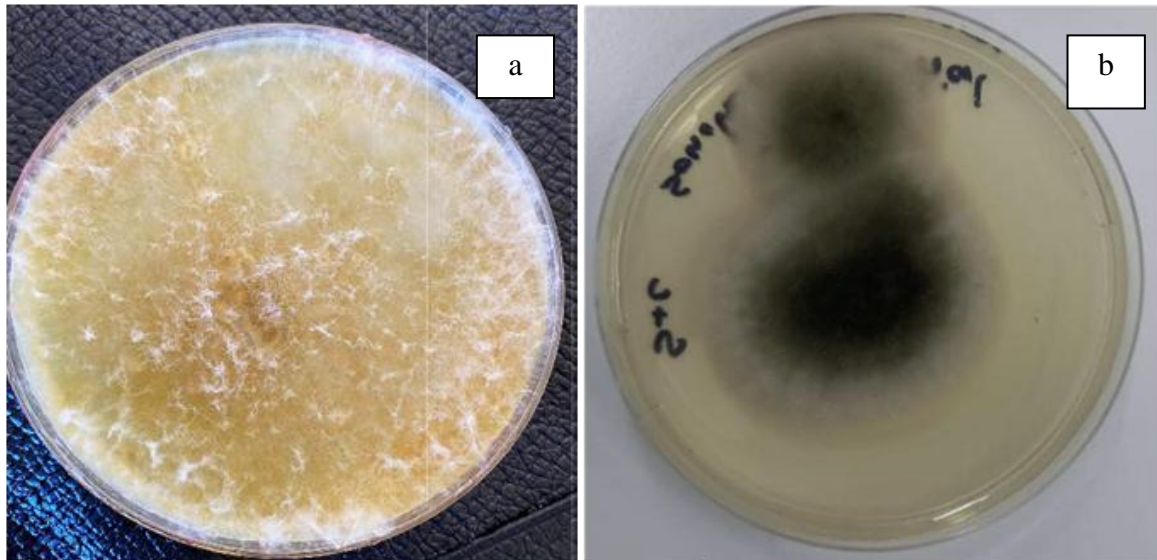


Figure 23.Aspect macroscopique des colonies de moisissures

Après cinq (07) jours d'incubation à 25°C la colonie de *Fusarium sp.* sur milieu PDA est blanche au recto et jaune à fauve au verso (**Figure 23a**).

Après cinq (05) jours d'incubation à 25°C, la colonie d'*Alternaria sp.* avait un centre de couleur vert olive, entourée par une zone blanchâtre de 5 mm d'épaisseur (**Figure 23b**).

5.1.2 Aspect microscopique

L'observation microscopique à l'objectif $\times 40$ à montrée la présence des macro conidies fusiformes, incurvées dans leur face ventrale avec une extrémité terminale pointue pour l'espèce *Fusarium sp.* (**Figure 24a**) et des conidies ovale, divisés pour l'espèce *Alternaria sp* (**Figure 24b**).

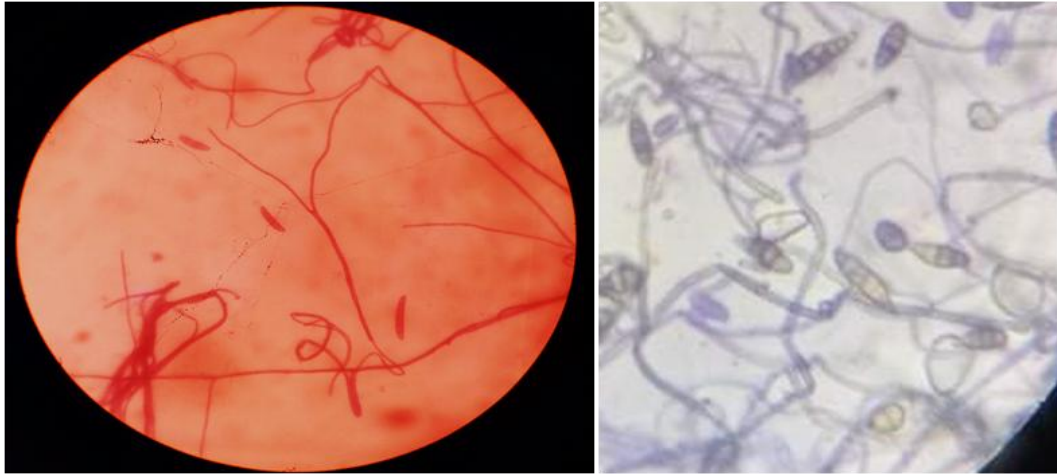


Figure 24.Aspect microscopique des colonies de moisissures

Les espèces du genre *Fusarium* font partie des champignons phytopathogènes et mycotoxinogènes (O'Donnell et al., 2013). Ils réduisent le rendement des cultures céréalières et provoquent de graves pertes économiques dans le monde (Kelly and Ward, 2018). Les espèces du genre *Fusarium* causent des maladies dans les cultures de maïs, le blé, le riz, les pommes de terre, les tomates, les haricots, le sorgho, la banane, la canne à sucre, les mangues et d'autres cultures (Summerell et al., 2011).

Elles produisent aussi des composés allergènes et des mycotoxines, ces dernières contaminent les denrées alimentaires lors du stockage après la récolte. Ces espèces produisent des métabolites secondaires comme le déoxynivalénol, le nivalénol, le diacétoxyscirpénol, la zéaralénone, l'acide fusarique et les fumonisines (Voss et al., 1998; Desjardin, 2006). La contamination alimentaire par les mycotoxines est un problème de sécurité alimentaire (Garcia et al., 2012; . Eskola et al., 2020). La consommation des produits alimentaires contaminés par des mycotoxines est associée à des risques pour la santé tels que le cancer de l'œsophage, la carcinogenèse, la mutagénicité et les anomalies neurologiques (Marasas et al., 1981; Reddy et al., 2010).

Les mycotoxines d'*Alternaria* ont été fréquemment isolées et signalées dans les fruits et légumes comme les tomates, les agrumes, les carottes, orge, avoine, melons, poivrons, pommes, framboises, lentilles, blé et autres céréales (Patriarca et al., 2007; Logrieco et al., 2009; Andersen et al., 2015; Woudenberg et al., 2015; Meena et al., 2016a,b). L'accumulation de mycotoxines dans les fruits et légumes peut se produire au champ, pendant la récolte, en post-récolte et pendant le stockage (Patriarca et Pinto, 2018).

5.1.3 Résultat de l'activité antifongique de l'ail blanc et rouge

5.1.3.1 *Fusarium sp.*

Le *Fusarium* été sensible à l'action des deux variétés blanche et rouge du jus brut de l'*Allium* (Figure 25) dans toutes les dilutions réalisées.

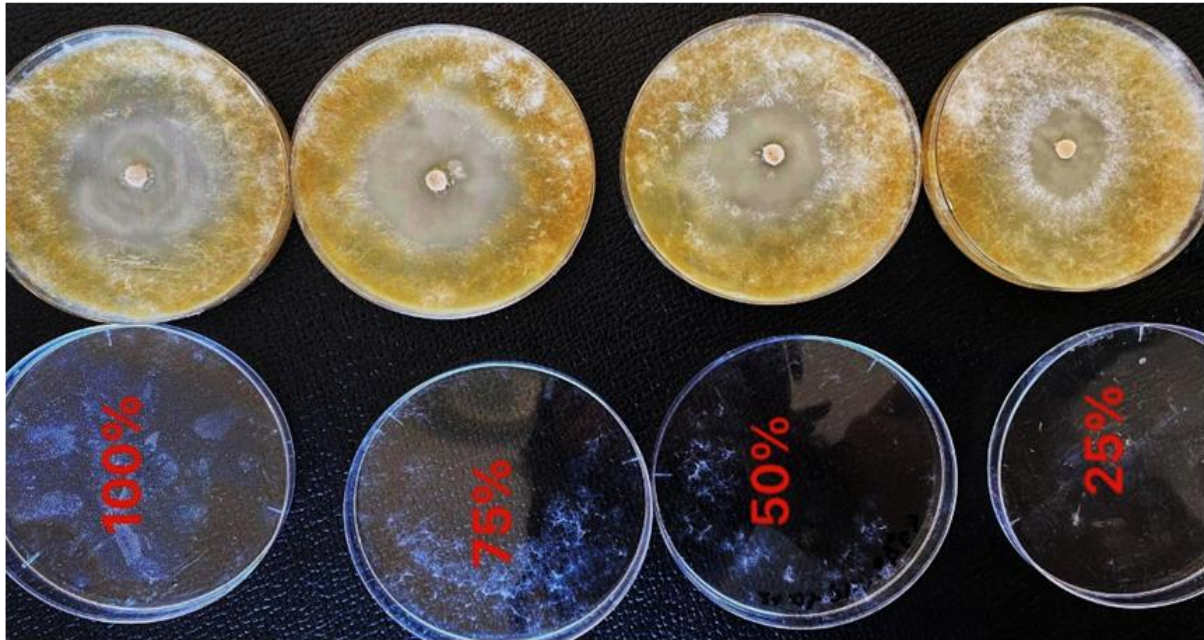


Figure 25. Le test de l'activité antifongique de *Fusarium sp.*

Les moyennes des diamètres obtenus après incubation (Figure 26) sont respectivement dans l'ordre suivant: 38, 66 mm, 36.33 mm, 33 mm, 22.66 mm

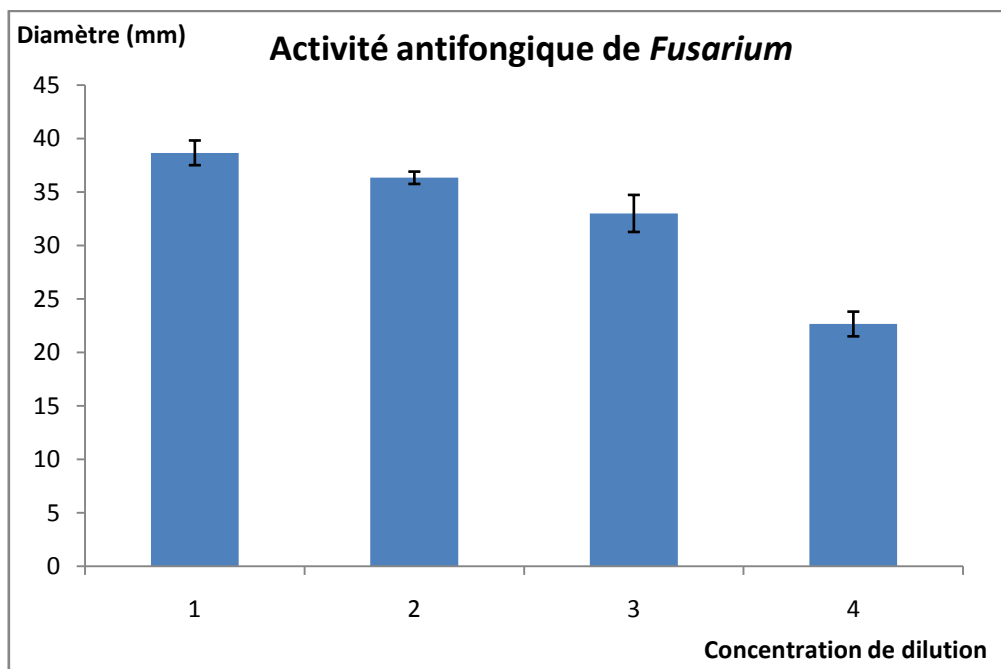


Figure 26. Les diamètres des zones d'inhibition de *Fusarium sp.* avec la variété blanche

Ces diamètres sont supérieurs à ceux obtenus avec l'ail rouge. Les diamètres obtenus pour les différentes dilutions (100%, 75%, 50% 25%) sont respectivement les suivants: 30.33mm, 28.33mm, 26.66mm et 16mm (**Figure 27**).

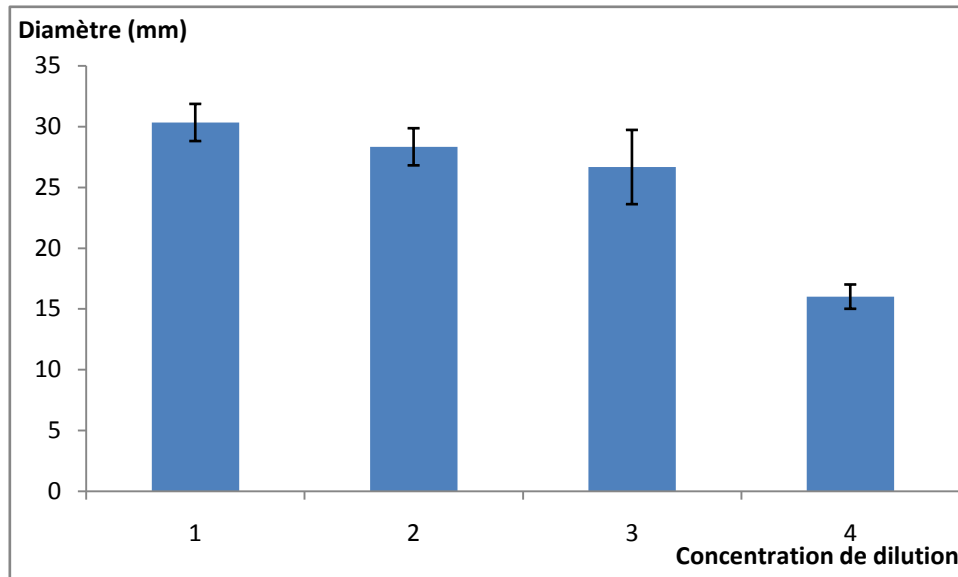


Figure 27. Les diamètres des zones d'inhibition de *Fusarium* avec la variété rouge

5.1.3.2 *Alternaria sp*

La même chose a été constatée pour l'*Alternaria sp.*, ce champignon été également sensible à l'action des jus bruts des deux espèces d'ail testées.

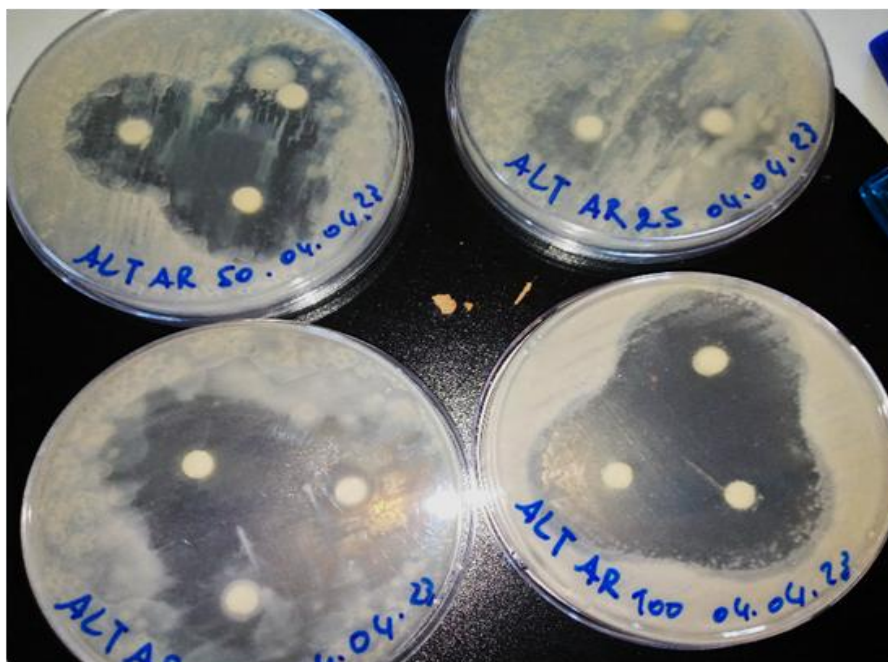


Figure 28. Le test de l'activité antifongique d'*Alternaria sp.*

Les résultats obtenus sont les suivants: 31mm, 30.66mm, 21.66mm, 25mm. Ces moyennes montre que l'*Alternaria* aussi est bien sensible à l'action du jus brut de l'ail blanc.

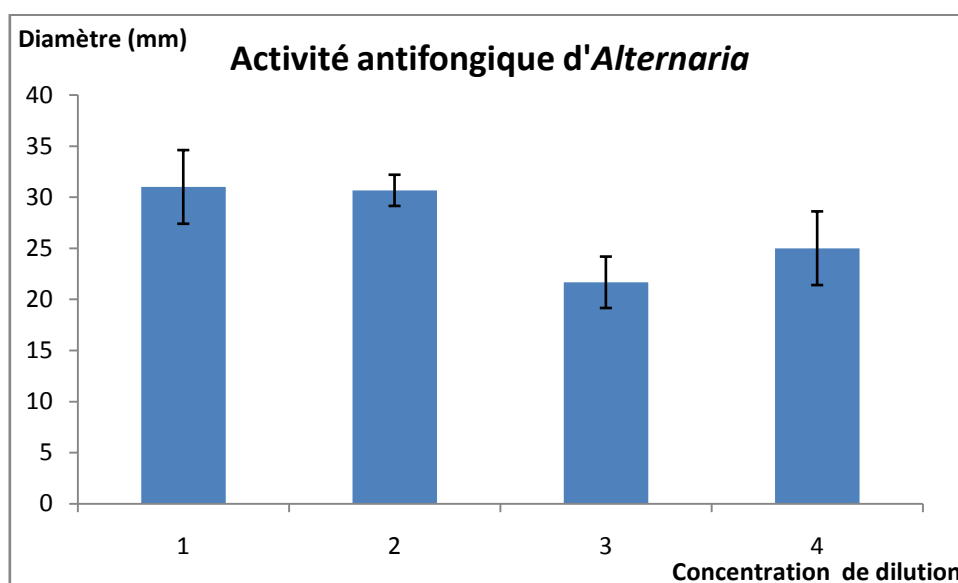


Figure 29. Les diamètres des zones d'inhibition d'*Alternaria* sp. variété blanche

Alternaria sp. est plus sensible à l'action de la variété rouge par rapport à la variété blanche. Cette moisissure a affiché les diamètres suivants 32.66mm, 30.66mm, 32mm et 26.66mm (Figure).

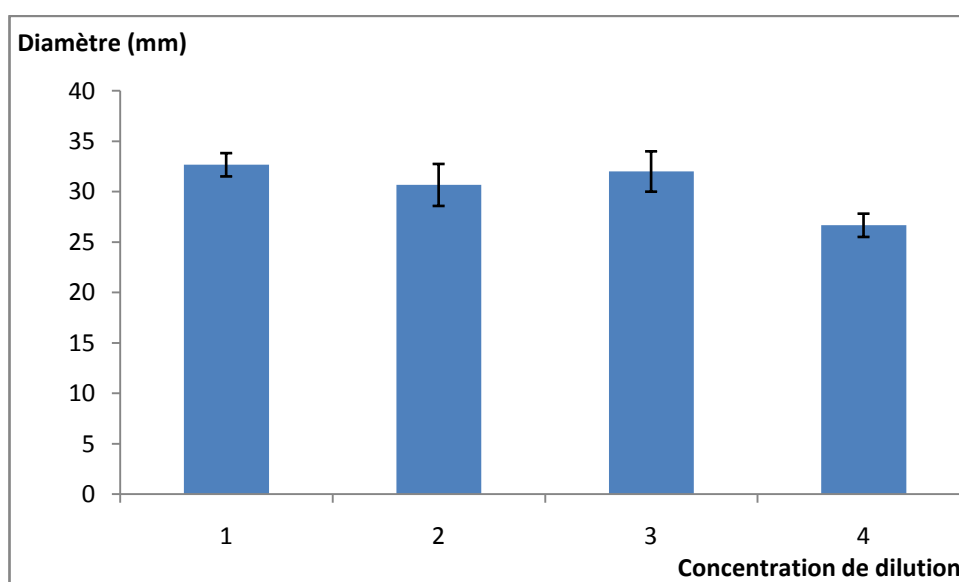


Figure 30. Les diamètres des zones d'inhibition d'*Alternaria* sp. variété rouge

La concentration minimale inhibitrice (CMI) enregistré pour *Fusarium sp.* est la concentration 25% qui correspond à 250ug/ml d'eau distillée stérile pour les deux variétés de l'ail, la variété blanche et la variété rouge.

La CMI qui correspond à la souche d'*Alternaria sp.* est la concentration 50% de jus brute d'ail blanc, elle est donc de 500ug/ml d'eau distillée, et c'est la concentration 75% (750ug/ml d'eau distillé stérile) pour l'extrait d'ail rouge.

La concentration minimale fongicide (CMF) déterminée avec l'extrait de jus brut d'ail blanc pour *Fusarium sp.* est de 25% (250 ug/ml) ; par contre, pour les deux autres souches fongiques testées elle est de 50%, ce qui correspond à 500ug/ml.

La CMF déterminée avec l'extrait de jus brut d'ail rouge pour *Alternaria sp.* est de 75% (750ug/ml) ; par contre, pour les deux autres souches fongiques testées elle est de 25%, ce qui correspond à 250ug/ml.

Globalement tous les résultats obtenus ont montrés que l'ail possède une activité fongicide contre ces champignons pathogènes étudiés. L'ail possède l'allicine qui joue un rôle contre la flore indésirable comme les entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, les levures et les moisissures (Do et al., 1977; González, 2002 ; Christison et al., 2008).

Conclusion

Conclusion

Fusarium sp et *Alternaria sp.* sont des moisissures mycotoxinogènes dangereuses pour la santé humaine. Afin d'assurer la sécurité alimentaire du consommateur une alternative naturelle à la lutte chimique par les pesticides comme l'ail à été testée contre ces moisissures. les tests d'antifongogrammes des jus bruts de deux variétés (blanche et rouge) de l'ail à des concentrations de: 100%, 75%, 50% et 25% ont été réalisés. Les diamètres obtenus après incubation sont respectivement les suivants pour le *Fusarium sp.*: 38, 66mm, 36.33mm, 33mm, 22.66mm et 30.33mm, 28.33mm, 26.66mm et 16mm et pour l'*Alternaria sp.* les diamètres suivants; 31mm, 30.66mm, 21.66mm, 25mm et 32.66mm, 30.66mm, 32mm et 26.66mm. Les 2 variétés (blanche et rouge) de l'ail ont une concentration minimale inhibitrice et fongicide de 25% contre *Fusarium sp.* La CMI et la CMF de l'ail blanc est de 50% contre *Alternaria sp.* par contre l'ail rouge à une CMI et une CMF de 75% contre *Alternaria sp.* En perspective, il serait intéressant:

- d'étudier l'activité antifongique contre d'autres variétés de champignons d'altération alimentaire et mycotoxinogènes.
- d'identifier et d'isoler les composés bioactifs responsable de l' activité antifongique chez le genre *Allium*.

Références bibliographiques

- [01]. **Aoki T., O'Donnell K. and Geiser D. M. (2014).** Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *J Gen Plant Pathol* 80:189–201.
- [02]. **Askun T. (2018).** Introductory Chapter: *Fusarium* - Pathogenicity, Infections, Diseases, Mycotoxins and Management. P 01-06.
- Babadoost M. (2018).** *Fusarium*: historical and continued importance. p14-17.
- [03]. **Bailey K.L., Couture L., Gossen B.D., Gugel R.K. et Morrall R.A.A. (2004).** Maladies des grandes cultures au Canada. Société canadienne de phytopathologie, University Extension Press, Saskatoon. 318 pp.
- [04]. **Bauer A. (1972).** The incidence of ergot in spring wheat varieties supplied with several fertilizer nitrogen rates. *N.D. Res. Rep.* 39 : 3-12.
- [05]. **Boldt T.S et Jacobsen C.S. (2006).** Different toxic effect of the sulfonylurea herbicides metolachlor, chlorsulfuron and thifensulfuron-methyl on fluorescent *Pseudomonas* isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiology Letters.* 161(1) :29-35.
- [06]. **Boivin G. (2001).** Parasitoïdes et lutte biologique : Paradigme ou panacée. Centre de Recherche et de développement en horticulture, agriculture et agroalimentaire. Canada.
- [07]. **Capkin E., Altinok I et Karahan S. (2006).** Water quality and fish size affect toxicity of endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere.* 64: 1793-1800.
- [08]. **Caron D. (1993).** Les fusarioses. In: Maladies des blés et orges. Éd. ITCF. p30- 39.
- [09]. **CEE-ONU., 2014-** Guide de la CEE-ONU sur les maladies, parasites et défauts des plants de pomme de terre.
- [10]. **Chabasse D., Bouchara JP., De Gentile L., Brun S., Cimon B. et Penn P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical, cahier de formation en biologie médicale n°25. P, 78-84.
- [11]. **Champion R. (1997).** Identifier les Champignons Transmis par les Semences. Paris, France : INRA.
- [12]. **Corbaz R. (1990).** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Press polytechniques et universitaires.

- [13]. **Cuppen J.G.M., Den Brink P.J., Uil K.F., Camps E et Brock T.C.M. (2000).** Impact of the fungicide carbendazim in fresh water microcosms. I Water quality, breakdown of particulate organic matter and responses of macro-invertebrates. *Aquatic Toxicology*.48: 233-250.
- [14]. **Dallaire R. G., Mukle F., Rouget P., Kadhel H., Bataille L., Guldner S., Seurin V., Chajes C., Monfort O., Boucher J. P., Thome S., Jacobsen W., Multigner L et**
- [15]. **Cordier S. (2012).** Cognitive, visual, and motor development of month-old Guadeloupe infant exposed to chlordécone. *Environmental Research*. 118: 79:85.
- [16]. **Deravel, J., Krier, F., Jacques, P. (2013).** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). (Fichier PDF) <http://www.pressesagro.be/base/text/v18n2/220>.
- [17]. **Dora. (2020).** What is biofungicides. Dora Agri-Tech.
- [18]. **Do T.L. (1977).** Plantes médicinales, médicaments traditionnels. NXB KHKT-HN. 1977, 1274.
- [19]. **El-Mansouri, K. (2013).** Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales. Thèse : Faculté de médecine et de pharmacie. Marrakech : Université Cadi Ayyad. 107p
- [20]. **Fauvergue X., Rusch A., Barret M., Bardin M., Jacquin-Joly E., Malausa T., Lannou C.(2020).** Biocontrôle : Éléments pour une protection agroécologique des cultures.
- [21]. **Fernandez-Acero F., Carbu M., Garrido C., Vallejo I., and Cantoral J. (2007).** Proteomic advances in phyto pathogenic fungi. *Current proteomics*. Vol 4 . P 79-88 .
- [22]. **Gallotti S. and Fremy J. M. (2006).** Évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa). P31-43-51.
- [23]. **Gonzalez B.; Diez V. (2002).** The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of "chorizo" a Spanish dry cured sausage. *Meat Science*. vol. 60, 295-298.
- [24]. **Grison P. (1991).** Chronique historique de la zoologie agricole française. INRA. Paris.
- [25]. **Guevara-Gonzalez R G. et Feregrino-Perez A A. (2018).** Fusarium mycotoxins and Metabolites that modulate their production. p23-24.

- [26]. **Haddouchi F., H. A. Lazouni et al. (2009).** "Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut." *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie* 5.
- [27]. **Jacquin D., Digalou L., Noroy C., Reboud X. (2010).** Modélisation de *Claviceps purpurea*: Mise en phase avec les graminées et facteurs de risque – AFPP, 21ème Conférence de Columa, Journées internationales sur la lutte contre les mauvaises herbes.
- [28]. **Jeunot B. (2005).** Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d'exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.
- [29]. **Jimenez-Garcia S N., Garcia-Mier L., Garcia-Trejo J F., Ramirez-Gomez X S., Guevara-Gonzalez R G. et Feregrino-Perez A. (2018).** Fusarium mycotoxins and Metabolites that modulate their production. p23-24.
- [30]. **Jimenez-Garcia S N., Garcia-Mier L., Garcia-Trejo J F., Ramirez-Gomez X. S., Leslie, J.F. and Summerell B.A. (2006).** *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames, IA: Blackwell Publishing
- [31]. **Kouassi M. (2001).** La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides *Vertigo*. 2 (2): 4000-4101.
- [32]. **Labiod R. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat : Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba, p48.
- [33]. **Lambert L. (2015).** Moisissure grise. Agronome MAPAQ Ste-Martine
- [34]. **Lee H.B, Patriarca A, Magan N. (2015).** Alternaria in Food: Ecophysiology, Mycotoxin Production and Toxicology. *Mycobiology*, 43, 2015, pp. 93-106. DOI: <https://doi.org/10.5941/MYCO.2015.43.2.93>
- [35]. **Lefort F. (2010).** Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Haute Ecole de Paysage d'ingénierie et d'architecture. Genève
- [36]. **Leslie J.F. and Summerell B.A. (2006).** *The Fusarium Laboratory Manual*. Ames, IA: Blackwell Publishing.

- [37]. **Leroux P. (2004).** Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides. 195-222. In *Botrytis: biology, pathology and control*. Elad Y., Williamson B., Tudzynski P et Delen N. Edition, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands.
- [38]. **Lhoste J. (1960).** Les fongicides. Office de la recherche scientifique et technique. OUTRE-MER.
- [39]. **Nasraoui B. (2008).** Principales maladies fongiques des Céréales et des légumineuses en Tunisie. Collection M/Science de l'ingénieur. Centre de publication universitaire Tunisie, p 121.
- [40]. **Nelson P E., Toussoun T A. and Cook R J. (1981).** *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. University Park, Pennsylvania, USA: Pennsylvania State University Press; 1981. 457
- [41]. **Papoutsis K., Mathioudakis M. M., Hasperué J. H., & Ziogas V. (2019).** Non-chemical treatments for preventing the post harvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (bluemold). In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 86, pp. 479–491). Elsevier Ltd.
- [42]. **Pitt JI. and Hocking AD. (2009).** *Fungi and food spoilage*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. Third edition. P 89-122.
- [43]. **Rapilly F. (1968).** Études sur l'ergot du blé : *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. *Ann. Epiphyt.* 19 : 305-329.
- [44]. **Rocher F. (2004).** Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : Evaluation du système phloémien de nouvelles molécules à l'effet fongicide et d'activateurs de réactions de défense. Thèse de Doctorat. Sciences fondamentales et appliquées. Université de Poitiers.
- [45]. **Sadiq F.A., Yan B., Tian F., Zhao J., Zhang H., Chen W. (2019).** Lactic Acid Bacteria as Antifungal and Anti-Mycotoxigenic Agents: A Comprehensive Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18, pp. 1403-1436. DOI: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12481>.
- [46]. **Salas M.L, Mounier J., Valence F, Coton M, Thierry A, Coton E. (2018).** Antifungal microbial agents for food biopreservation- A review. *Microorganisms*, 5, article 37. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms5030037>. <https://www.mdpi.com/2076-2607/5/3/37>

- [47]. **Stępień L., Lalak-Kańczugowska J., Witaszak N., et Urbaniak M. (2019).** Fusarium secondary metabolism biosynthetic Pathways: so close but So Far Away. J.-M.Mérillon, K. G. Ramawat (eds.), Co-Evolution of SecondaryMetabolites.01-04
- [48]. **Stukenbrock E.H et McDonald B. A. (2008).** The origins of plant pathogens in agro ecosystems. Annual Review of Phytopathology. 46: 75-100.
- [49]. **Tsuge T., Harimoto Y., Akimitsu K., Ohtani K., Kodama M., Akagi Y., Egusa M., Yamamoto M., Otani H. (2013).** Host-selective toxins produced by the plant pathogenic fungus *Alternaria Alternata*. FEMS Microbiology Reviews, 37, 2013, pp. 44-66. DOI:<https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2012.00350.x>