

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل -

Université Mohammed Seddik Ben Yahia - JIJEL -

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Microbiologie Appliquée et

Sciences Alimentaires



كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم : ميكروبيولوجيا تطبيقية و علوم التغذية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme: **Master Académique en Biologie**

Option : Microorganismes et Pathogénicité

Thème

Caractérisation de quelques moisissures phytopathogènes et recherche des champignons antagonistes.

Membres du Jury :

Présidente : Mme. BOUSSOUF L.

Promoteur : Dr. AKROUM S.

Examineur : Dr. BOULDJEDRI M.

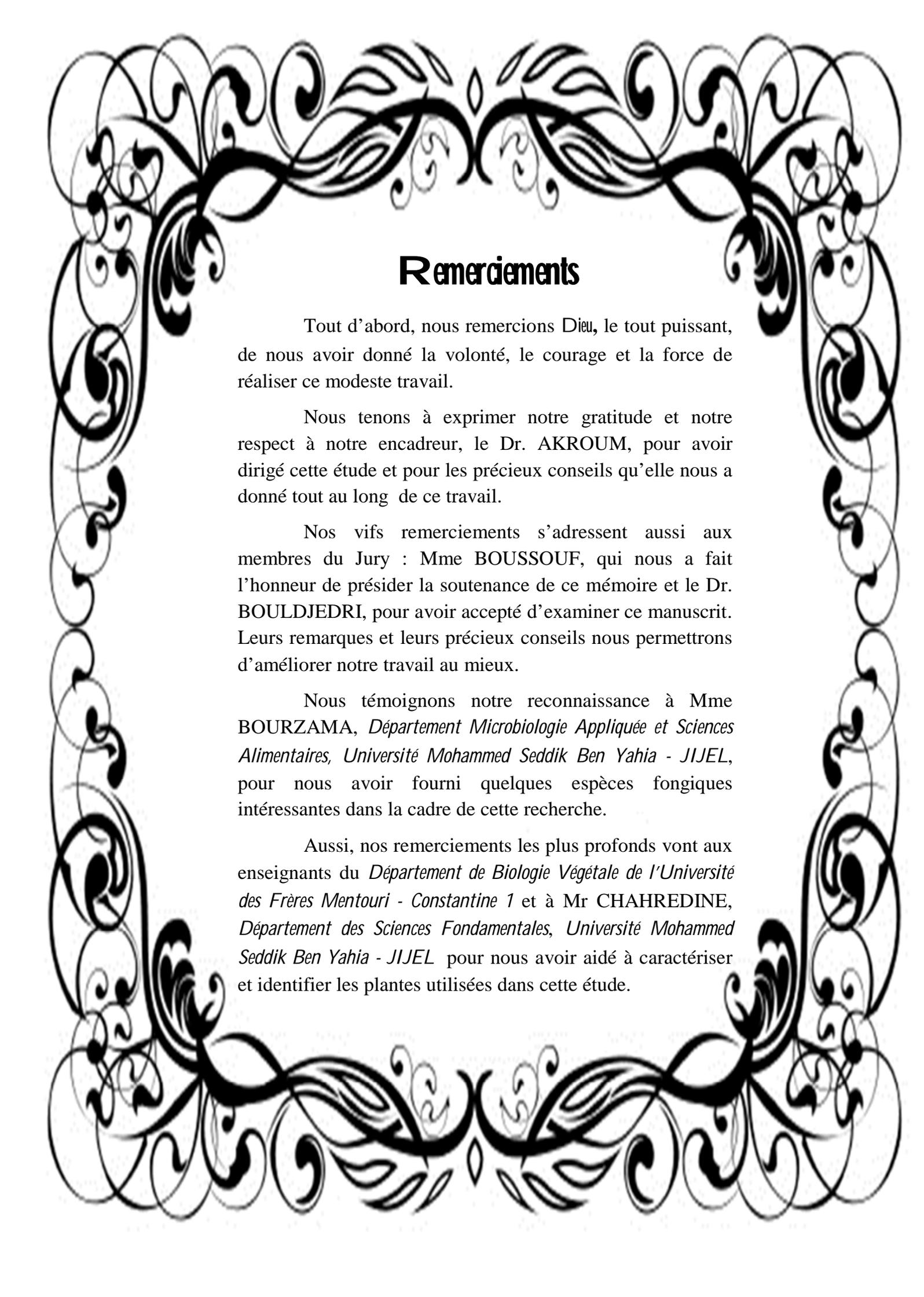
Présenté par :

M^{elle} BOUDIAB Halima

M^{elle} ZITOUNI Ratiba

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Année Universitaire 2016 - 2017

A decorative border with intricate black and white floral and scrollwork patterns surrounds the text.

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la volonté, le courage et la force de réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre gratitude et notre respect à notre encadreur, le Dr. AKROUM, pour avoir dirigé cette étude et pour les précieux conseils qu'elle nous a donné tout au long de ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi aux membres du Jury : Mme BOUSSOUF, qui nous a fait l'honneur de présider la soutenance de ce mémoire et le Dr. BOULDJEDRI, pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit. Leurs remarques et leurs précieux conseils nous permettront d'améliorer notre travail au mieux.

Nous témoignons notre reconnaissance à Mme BOURZAMA, *Département Microbiologie Appliquée et Sciences Alimentaires, Université Mohammed Seddik Ben Yahia - JIJEL*, pour nous avoir fourni quelques espèces fongiques intéressantes dans le cadre de cette recherche.

Aussi, nos remerciements les plus profonds vont aux enseignants du *Département de Biologie Végétale de l'Université des Frères Mentouri - Constantine 1* et à Mr CHAHREDINE, *Département des Sciences Fondamentales, Université Mohammed Seddik Ben Yahia - JIJEL* pour nous avoir aidé à caractériser et identifier les plantes utilisées dans cette étude.

A decorative border surrounds the text, featuring a vibrant red ribbon that forms a continuous, flowing frame. The ribbon is accented with clusters of flowers, including white roses, orange and red calla lilies, and smaller white and yellow blossoms. The background is a soft, light-colored floral pattern.

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à :
A ma famille que j'adore. Spécialement ma
mère et mon père, qu'ils trouvent ici toute
ma gratitude pour les encouragements, la
tendresse l'amour et leur soutien, tout au
long de mes études.
A mon unique et très chère frère Noureddine
et sa femme et mon neveu.*

*A mes charmantes sœurs ; Naima, Saida,
Farida, Rachida, Fairouze, Rima et Amina.*

*Ainsi qu'à mes chers amis ; Imane, Chahra,
Samira, Afafe et tous les
Étudiants de ma promotion.*

A tous ceux que j'aime.

Halima

A decorative border surrounds the text, featuring a vibrant red ribbon that forms a continuous, flowing frame. The ribbon is accented with clusters of flowers, including white roses, orange calla lilies, and red anemones. Small gold and silver tassels are also visible, adding a traditional touch to the design.

Dédicaces

*Nulle dédicace n'est susceptible
D'exprimer mon immense gratitude à
Mes parents pour m'avoir accordé toute leur
confiance, et pour leur soutien tout au long
de mes études*

*Puisse Dieu leur prêter bonne santé et
longue vie.*

Aussi, je dédie ce modeste travail :

A mes chers frères : Ali et Nouredine

*A mes chères sœurs : Nadjat, Lwiza,
Merieme, Wahiba, Razika, Hasina, Nadya
et son mari Amar.*

*A mes chères amies : Chahra, Fatima
et Assia*

A tous ceux qui me sont chers

RATIBA

Sommaire

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : Les champignons phyto-pathogènes 3

I-1. <i>Phytophthora infestans</i>	3
I-2. <i>Pythium debaryanum</i>	3
I-3. <i>Erysiphe necator</i>	4
I-4. <i>Venturia inaequalis</i>	4
I-5. <i>Mycosphaerella graminicola</i>	5
I-6. <i>Botrytis cinerea</i>	5
I-7. <i>Fusarium roseum</i>	6
I-8. <i>Colletotrichum coccodes</i>	7
I-9. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	7
I-10. <i>Penicillium expansum</i>	8
I-11. <i>Rhizoctonia solani</i>	8
I-12. <i>Penicillium digitatum</i>	9
I-13. <i>Penicillium italicum</i>	9
I-14. <i>Alternaria brassicicola</i>	10
I-15. <i>Alternaria alternata</i>	10

Chapitre II : les champignons utilisés en lutte biologique 12

II-1. Définition.....	12
II-2. Utilisation des champignons en lutte biologique	12
II-2-1. Utilisation contre les insectes.....	12
II-2-2. Utilisation contre les vers de terre.....	12
II-2-3. Utilisation contre les microorganismes phyto-pathogènes.....	13
II-3. Principe d'action des champignons contre les organismes néfastes	13
II-3-1. La compétition.....	13
II-3-2. Le parasitisme.....	13
II-3-3. Production de sidérophores.....	13
II-3-4. L'antibiose.....	14
II-3-5. Résistance.....	14
II-4. Les avantages et inconvénients de la lutte biologique.....	14
II-4-1. Avantages.....	14
II-4-2. Inconvénients.....	14

II-5. Les espèces utilisées en lutte biologique.....	15
II-5-1. <i>Trichoderma</i>	15
II-5-2. <i>Candida</i>	15
II-5-3. <i>Metschnikowia fructicola</i>	15
II-5-4. <i>Pythium oligandrum</i>	15
II-5-5. <i>Aureobasidium pullulans</i>	15
II-5-6. <i>Coniothyrium minitans</i>	16

Partie expérimentale

III- Matériel & Méthodes 17

III-1. Matériel 17

III-1-1. Instruments et appareillages.....	17
III-1-2. Colorants et solutions utilisées.....	18
III-1-3. Milieux de culture.....	18
III-1-4. Moisissures.....	18

III-2. Méthodes 18

III-2-1. Préparation de la gélose PDA (Potato Dextrose Agar).....	18
III-2-1-1. Constituants pour 1 litre.....	18
III-2-1-2. Préparation.....	18
III-2-2. Prélèvement à partir des plantes.....	19
III-2-3. Isolement et purification des moisissures.....	21
III-2-4. Identification des moisissures.....	21
III-2-4-1. Caractérisation macroscopique.....	21
III-2-4-2. Caractérisation microscopique.....	22
III-2-5. Confirmation de l'identité des moisissures fournies.....	22
III-2-6. Activité de l'antagonisme.....	22
III-2-6-1. Isolement et identification des moisissures utilisées pour l'antagonisme	22
III-2-6-2. Optimisation des espèces antagonistes.....	22
III-2-6-3. Test de l'antagonisme.....	23

IV- Résultats 24

IV-1. Mycéliums isolés à partir des plantes.....	24
IV-2. Identification des mycéliums isolés.....	24
IV-2-1. Mycélium 1.....	24
IV-2-2. Mycélium 2.....	25
IV-2-3. Mycélium 3.....	26
IV-2-4. Mycélium 4.....	26

IV-2-5. Mycélium 5.....	27
IV-2-6. Mycélium 6.....	27
IV-2-7. Mycélium 7.....	28
IV-2-8. Mycélium 8.....	29
IV-2-9. Mycélium 9.....	30
IV-3. Confirmation de l'identité des espèces fournies.....	31
IV-3-1. <i>Penicillium griseum</i>	31
IV-3-2. <i>Aspergillus ochraceus</i>	32
IV- 4. Résultats de l'antagonisme	33
IV-4-1. <i>Aspergillus sydowii</i>	33
IV-4-2. <i>Acremonium strictum</i>	34
IV-4-3. <i>Aspergillus ochraceus</i>	35
IV-4-4. <i>Fusarium oxysporum</i>	36
IV-4-5. <i>Acremonium sp.</i>	36
IV-4-6. <i>Alternaria alternata</i>	37
IV-4-7. <i>Drechslera dematiodea</i>	38
IV-4-8. <i>Aspergillus versicolor</i>	39
IV-4-9. <i>Drechslera graminea</i>	39
IV-4-10. <i>Penicillium griseum</i>	40
IV-4-11. <i>Penicillium digitatum</i>	40
V- Discussion	42
VI- Conclusion	44
Références bibliographiques	45

Liste des tableaux

Tableau 1: Les végétaux utilisés pour les prélèvements des moisissures phyto-pathogènes...19

Tableau 2: Les mycéliums isolés à partir des échantillons.....24

Liste des schémas

Schéma 1: Isolement et purification des mycéliums.....21

Schéma 3: Protocole de réalisation du test de l'activité antifongique..... 23

Liste des figures

Figure 1 : (a) L'espèce *Phytophthora infestans* observée sous microscope au grossissement (×40) Symptômes du mildiou (b) sur les fruits, (c) sur la tige, (d) sur les feuilles.....3

Figure 2 : (a) L'espèce *Pythium debaryanum* observée sous microscope au grossissement(×40) (b) Symptômes de la fonte de semis sur les graines.....4

Figure 3 : (a) L'espèce *Erysiphe necator* observée sous microscope au grossissement (×40) Symptômes de l'Oïdium (b) sur les fruits (c) sur les feuilles de tomate.....4

Figure 4 : (a) L'espèce *Venturia inaequalis* observée sous microscope au grossissement (×40) Symptômes de tavelure (b) sur la feuille (c) sur le fruit de la pomme.....5

Figure 5 : (a) L'espèce *Mycosphaerella graminicola* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de la septoriose sur les feuilles du blé.....5

Figure 6 : (a) L'espèce *Botrytis cinerea* observée sous microscope au grossissement (×40) Symptômes de la pourriture grise (b) sur la fraise (c) sur le raisin.....6

Figure 7 : (a) L'espèce *Fusarium roseum* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de la fusariose sur la tige.....6

Figure 8 : (a) L'espèce *Colletotrichum coccodes* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de l'Anthracnose sur la tomate.....7

Figure 9 :(a) L'espèce *Sclerotinia sclerotiorum* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de la pourriture blanche sur la carotte7

Figure 10 : (a) L'espèce *Penicillium expansum* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de la pourriture bleue sur la pomme8

Figure 11 : (a) L'espèce *Rhizoctonia solani expansum* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes du rhizoctone brun sur le chou.....8

Figure 12 : (a) L'espèce *Penicillium digitatum expansum* observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de la pourriture verte sur l'orange.....9

Figure 13 : (a) L'espèce <i>Penicillium italicum expansum</i> observée sous microscope au grossissement (×40)(b) Symptômes de la pourriture bleue sur le citron	9
Figure 14 : (a) L'espèce <i>Alternaria brassicicola expansum</i> observée sous microscope au grossissement (×40) (b) Symptômes de la tache noire sur le brocoli.....	10
Figure 15 : (a) L'espèce <i>Alternaria alternata expansum</i> observée sous microscope au grossissement (×40) Symptômes des taches foliaires (b) sur les feuilles (c) la tige.....	11
Figure 16 : Photos des feuilles infectées utilisées pour le prélèvement.....	20
Figure 17 : Photos du citron et des aubergines utilisées.....	20
Figure 18 : Culture de <i>Penicillium camemberti</i> dans le but de son optimisation.....	23
Figure 19 : Aspect macroscopique du mycélium 1.....	24
Figure 20 : Aspect microscopique du mycélium 1 (grossissement ×40).....	25
Figure 21 : Aspect microscopique du mycélium 2 (grossissement ×40).....	25
Figure 22 : Aspect macroscopique du mycélium 3.....	26
Figure 23 : Aspect microscopique du mycélium 3 (grossissement ×40).....	26
Figure 24 : Aspect microscopique du mycélium 4 (grossissement ×40).....	27
Figure 25 : Aspect microscopique du mycélium 5 (grossissement ×40).....	27
Figure 26 : Aspect macroscopique du mycélium 6.....	28
Figure 27 : Aspect microscopique du mycélium 6 (grossissement ×40).....	28
Figure 28 : Aspect macroscopique du mycélium 7.....	29
Figure 29 : Aspect microscopique du mycélium 7 (grossissement ×40.....	29
Figure 30 : Aspect macroscopique du mycélium 8.....	30
Figure 31 : Aspect microscopique du mycélium 8 (grossissement ×40)	30
Figure 32 : Aspect macroscopique du mycélium 9.....	31
Figure 33 : Aspect microscopique du mycélium 9(grossissement ×40).....	31
Figure 34 : Aspect microscopique de <i>Penicillium griseum</i> (grossissement ×40.....	32
Figure 35 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus ochrceus</i>	32
Figure 36 : Aspect microscopique d' <i>Aspergillus ochrceus</i> (grossissement ×40.....	33
Figure 37 : Affrontement entre <i>Aspergillus sydowii</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	33

Figure 38 : Affrontement entre <i>Aspergillus sydowii</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	33
Figure 39 : Affrontement entre <i>Aspergillus sydowii</i> et <i>Geotrichum candidum</i>	34
Figure 40 : Affrontement entre <i>Acremonium strictum</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	34
Figure 41 : Affrontement entre <i>Acremonium strictum</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	34
Figure 42 : Affrontement entre <i>Acremonium strictum</i> et <i>Geotrichum candidum</i>	35
Figure 43 : Affrontement entre <i>Aspergillus ochraceus</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	35
Figure 44 : Affrontement entre <i>Aspergillus ochraceus</i> et <i>Geotrichum candidum</i>	35
Figure 45 : Affrontement entre <i>Aspergillus ochraceus</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	35
Figure 46 : Affrontement entre <i>Fusarium oxysporum</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	36
Figure 47 : Affrontement entre <i>Fusarium oxysporum</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	36
Figure 48 : Affrontement entre <i>Acremonium sp.</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	37
Figure 49 : Affrontement entre <i>Acremonium sp.</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	37
Figure 50 : Affrontement entre <i>Acremonium sp.</i> et <i>Geotrichum candidum</i>	37
Figure 51 : Affrontement entre <i>Alternaria alternata</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	38
Figure 52 : Affrontement entre <i>Acremonium sp</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	38
Figure 53 : Affrontement entre <i>Drechslera dematioidea</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	38
Figure 54 : Affrontement entre <i>Drechslera dematioidea</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	38
Figure 55 : Affrontement entre <i>Drechslera dematioidea</i> et <i>Geotrichum candidu</i>	38
Figure 56 : Affrontement entre <i>Drechslera graminea</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	39
Figure 57 : Affrontement entre <i>Drechslera graminea</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	39
Figure 58 : Affrontement entre <i>Penecillium griseum</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	40
Figure 59 : Affrontement entre et <i>Penecillium griseum</i> et <i>Geotrichum candidum</i>	40
Figure 60 : Affrontement entre <i>Penicillium griseum</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	40
Figure 61 : Affrontement entre <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Penicillium camemberti</i>	41
Figure 62 : Affrontement entre <i>Penicillium digitatum</i> et <i>Penicillium roqueforti</i>	41

I ntroduction

Introduction

Les microorganismes phyto-pathogènes sont très nombreux et diversifiés. Néanmoins, plus de 90 % d'entre eux sont des champignons, le reste étant des bactéries et autres germes parasites. Parmi les champignons qui causent le plus de pathologies végétales, nous avons les espèces des genres *Phytophthora* qui cause la maladie du mildiou (Sun *et al.*, 2016), *Pythium* il cause une maladie dite fontes de semis (Galanina et Konova, 2000), *Erysiphe* responsable de maladie de l'oïdium (Toth *et al.*, 2016), *Venturia* il cause la tavelure (Ebrahimi *et al.*, 2016), *Mycosphaerella* il cause la septoriose foliaire (Allioui *et al.*, 2015), *Botrytis* il est responsable de la pourriture grise (Rupp *et al.*, 2017), *Fusarium* il cause la fusariose et la fonte de semis (Pitt *et al.*, 1994), *Colletotrichum* elle est responsable de l'antracnose ou de la pourriture racinaire ou maladie du charbon (Salman *et al.*, 2015), *Sclerotinia* il est responsable de la sclérotiniose (Clarkson *et al.*, 2017), *Penicillium* elle cause la pourriture bleue (Calvo *et al.*, 2017), et la pourriture verte (López-Pérez *et al.*, 2015), *Rhizoctonia* il est responsable de la maladie du rhizoctone brun (Foley *et al.*, 2016), *Alternaria* il est responsable de la maladie de tache noire ou black spot (Pedras *et al.*, 2016), et d'autres maladies souvent appelées alternarioses (Prendes *et al.*, 2017).

Ceci dit, les végétaux de manière générale (plantes, fleurs, légumes, fruits, graines, etc.) peuvent être infectés dans les champs, on parle alors de « flore de champs », ou une fois récoltés et conservés, on fait alors référence à la « flore de stockage » (Botton *et al.*, 1990).

Durant les dernières années l'utilisation des pesticides afin de protéger les plantes contre les divers parasites a énormément diminué et ce pour les effets néfastes qu'engendrent ces substances. En effet, les pesticides posent un sérieux problème de santé publique car ils sont à l'origine de différents types de cancers, de problèmes d'infertilité, de perturbations neurologiques ou encore de l'affaiblissement du système immunitaire (Inserm 2013 ; Chaudhary *et al.*, 2017).

De plus, l'émergence de la résistance aux pesticides devient de plus en plus importante, ce qui diminue l'efficacité de ces molécules et pousse les chercheurs à chercher de nouveaux moyens pour protéger leurs cultures (Corbel *et al.*, 2017). C'est alors que la lutte biologique apparaît et connaît un grand regain. Parmi les organismes utilisés dans la lutte biologique, les moisissures occupent la place la plus importante. En effet, elles sont utilisées pour bloquer la croissance des autres microorganismes, des insectes, des vers de terre, etc. (Pelosi *et al.* 2014 ; Manfrino *et al.* 2016 ; Benelli *et al.*, 2017).

Dans ce travail, nous sommes intéressées à l'utilisation des moisissures pour inhiber la croissance des autres moisissures phyto-pathogènes. Les espèces utilisées pour cette activité antagoniste ont été choisies parmi les champignons non pathogènes pour l'homme et pour les végétaux. A savoir, des moisissures utilisées pour la fabrication des fromages, donc couramment consommées par l'homme. L'objectif de cette étude étant de trouver un nouveau moyen de lutter contre les champignons phyto-pathogènes qui ont été isolées à partir de différents végétaux. Donc d'un premier lieu, nous avons isolé et identifié les champignons parasites des plantes (de champs) et des champignons de bio-détérioration (de stockage). Puis,

nous avons testé sur eux l'activité des moisissures antagonistes par un test d'affrontement entre les espèces.

Partie bibliographique

Partie Bibliographique

Chapitre I : Les champignons phyto-pathogènes

I-1. *Phytophthora infestans* : Ce champignon est un parasite obligatoire appartenant à la classe des Oomycètes et de famille Pythiaceae (Judelson *et al.*, 2012) (Figure 1). Il est responsable de la maladie du mildiou chez plusieurs espèces de la famille des solanacées, en particulier la pomme de terre, la tomate et certaines morelles (Sun *et al.*, 2016). La maladie se manifeste sur les feuilles, les tiges et même les tubercules de la plante. Elle peut provoquer le pourrissement partiel ou total, altérant ainsi la récolte en quantité et en qualité. *Phytophthora infestans* infecte les plantes quand la température est modérée (aux environs de 20°C) et l'humidité de l'air élevée (RH > de 90 %) (Kirk, 2003).

Les symptômes sur les feuilles se présentent par des taches brunes irrégulières assez larges. Sur les tiges, il s'agit de grandes taches brunes noires avec des éliminations nettes (Wang *et al.*, 2017) (a).

Les fruits sont attaqués lorsqu'ils sont encore en voie de croissance, ils montrent des taches de dimension irrégulières et de couleur grise pâle à brune qui s'étendent profondément dans la chair (Rubin *et al.*, 2001) (Figure 2).

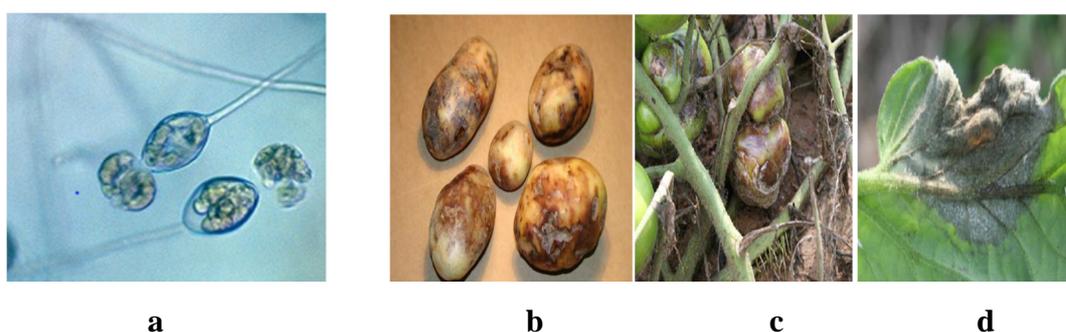


Figure 1 : (a) l'espèce *Phytophthora infestans*
Observée sous microscope au grossissement (×40)

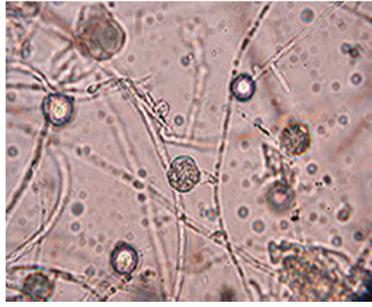
(Judelson *et al.*, 2012)

Symptômes du mildiou (b) sur les
fruits, (c) sur la tige, (d) sur

les feuilles

(Rubin *et al.*, 2001)

I-2. *Pythium debaryanum* : Ce microorganisme est un Oomycètes appartenant à la famille des Pythiacées. Il cause une maladie dite fontes de semis et est transmis par le sol, les graines ou les résidus de récoltes (Galanina et Konova ,2000) (Figure 3). La température optimale de la croissance de ce germe est comprise entre 22 et 30°C, le pH doit être compris entre 1,5 et 7 (Oliver *et al.*, 2009). Les plantes infectées par ce champignon se fanent, s'affaiblissent puis meurent. Parfois des lots entiers de jeunes plantes sont détruits, en particulier lorsqu'on a semé des graines non traitées et humides (Chun et Schneider, 1998) (Figure 4).



a



b

Figure 2 : (a) l'espèce *Pythium debaryanum*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Galanina et Konova ,2000)

(b) Symptômes de la fonte de semis
sur les graines
(Chun et Schneider, 1998)

I-3. *Erysiphe necator* : Cet Ascomycète appartient à la famille des Erysiphaceae (Gao *et al.*, 2016) (Figure 5). C'est un parasite biotrophe obligatoire qui cause la maladie de l'oïdium. Les oïdiums touchent de nombreuses plantes, parmi lesquelles les céréales, le pois, le fraisier, le pommier, le marronnier, le concombre, la tomate, le chêne et la vigne (Toth *et al.*, 2016).

L'agent de l'oïdium ne nécessite pas d'eau liquide pour germer, par contre sa température optimale se situe entre 20 et 25°C (Spera *et al.*, 2007). La pathologie se manifeste par une poudre blanche grisâtre à la surface des tissus infectés. Les feuilles malades prennent d'abord une coloration verte foncé terne par plages, puis deviennent déformées et rabougries (Weng *et al.*, 2014) (Figure 6).



a



b



c

Figure 3 : (a) l'espèce *Erysiphe necator*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Gao *et al.*, 2016)

Symptômes de l'Oïdium **(b)** sur
les fruits **(c)** sur les feuilles de tomate
(Babadoost, 2014)

I-4. *Venturia inaequalis* : C'est un champignon Ascomycète de la famille des Venturiaceae. Il cause la tavelure, principalement sur les pommiers et les poiriers (Ebrahimi *et al.*, 2016) (Figure 7). L'eau est un élément essentiel au développement de la tavelure et à sa propagation, de même que la température, l'optimum pour la projection des ascospores est de 20°C. L'intensité lumineuse est également l'un des facteurs favorisant la contamination des pommiers par *Venturia inaequalis*. Les longueurs d'ondes comprises entre 625 et 725 nm sont

celles qui stimulent la libération de spores (Gadoury *et al.*, 1998). Sur les feuilles les symptômes se présentent sous forme de taches circulaires brun olivâtres avec un aspect velouté. Le fruit atteint présente plutôt des taches noires légèrement feutrées, évoluant en croûtes liégeuses (Bastiaanse *et al.*, 2014) (Figure 8).



a

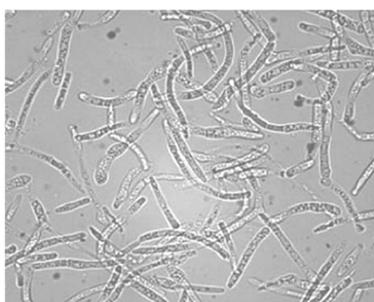
b

c

Figure 4 : (a) l'espèce *Venturia inaequalis* Observée sous microscope au grossissement (×40) (Ebrahimi *et al.*, 2016) Symptômes de tavelure (b) sur la feuille (c) sur le fruit de la pomme (Gessler *et al.*, 2006)

(Gessler *et al.*, 2006)

I-5. *Mycosphaerella graminicola* : est un champignon Ascomycète de la famille des Mycosphaerellaceae (Siah *et al.*, 2010) (Figure 9). Il cause la septoriose foliaire qui est aujourd'hui la principale maladie du blé cultivé (Allioui *et al.*, 2015). La germination des spores a lieu quand les conditions environnementales sont favorables, notamment en présence d'eau libre sur les feuilles, d'une température entre 10 et 25°C (avec un optimum aux alentours de 20°C) et d'une humidité relative à saturation de 15 à 20 heures (Jing *et al.*, 2008). Les symptômes provoqués apparaissent successivement sous forme de chloroses, c'est-à-dire des taches de couleur vert clair, avant d'évoluer en taches brunâtres appelées nécroses (Somai-Jemmali *et al.*, 2014) (Figure 10).



a



b

Figure 5 : (a) l'espèce *Mycosphaerella graminicola* Observée sous microscope au grossissement (×40) (Siah *et al.*, 2010) (b) Symptômes de la septoriose sur les feuilles du blé (Somai-Jemmali *et al.*, 2014)

(Siah *et al.*, 2010)

(Somai-Jemmali *et al.*, 2014)

I-6. *Botrytis cinerea* : C'est un Ascomycète de la famille des Sclerotiniaceae (viret *et al.*, 2010) (Figure 11). Il est l'agent responsable de la pourriture grise, *Botrytis cinerea* est un champignon polyphage capable d'attaquer plus de 230 espèces de plantes, comme exemples : le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise, le kiwi, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate et la courgette (Rupp *et al.*, 2017). Ce champignon préfère une humidité de 95% et une température située entre 17 à 23 °C (Ciliberti *et al.*, 2015).

Le parasite provoque une multitude de taches ponctiformes de couleur brun rougeâtre. Ces dernières évoluent assez rapidement, s'étendent circulairement et atteignent en moyenne 3 à 5mm de diamètre. Sur les tiges, les fleurs et les gousses, le champignon peut évoluer en nécroses brunâtres (pourriture brune) partielles ou totales (Guentzel *et al.*, 2010) (Figure 12).

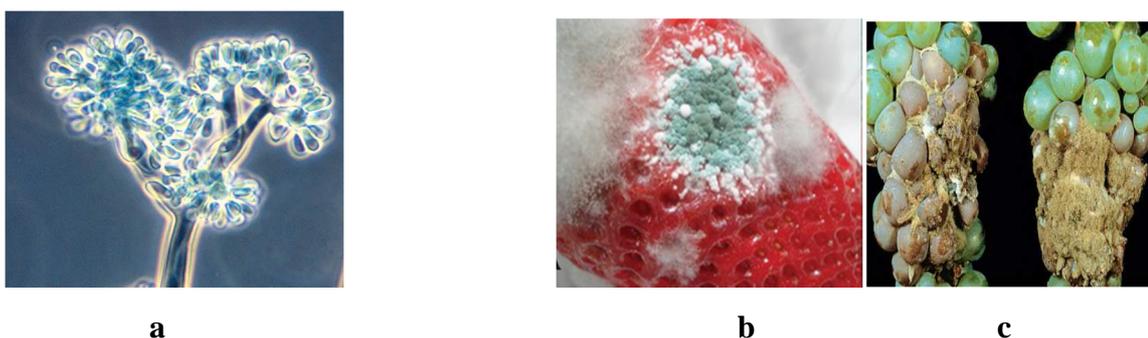


Figure 6 : (a) l'espèce *Botrytis cinerea*

Observée sous microscope au grossissement (×40)

(viret *et al.*, 2010)

Symptômes de la pourriture grise

(b) sur la fraise (c) sur le raisin

(Guentzel *et al.*, 2010)

I-7. *Fusarium roseum* : Ce Deutéromycète appartient à la famille des Nectriaceae. Il provient du sol, de l'eau et de l'air. Chez les végétaux, il cause la fusariose et la fonte de semis, comme sur le blé, l'orge, l'avoine, la tomate, le melon, le concombre, la courgette, le poivron, la pomme de terre, la patate douce, et la banane (Pitt *et al.*, 1994) (Figure 13).

Les *Fusarium* sont connus pour leur aptitude à synthétiser certaines mycotoxines sur la plante, surtout quand la température est de 28°C. Les fusarioses estivales se caractérisent par des taches circulaires, irrégulières qui s'étendent rapidement. La fonte des semis apparaît jaune et comporte de la pourriture brune ou brun-rouge (Blandino *et al.*, 2015) (Figure 14).

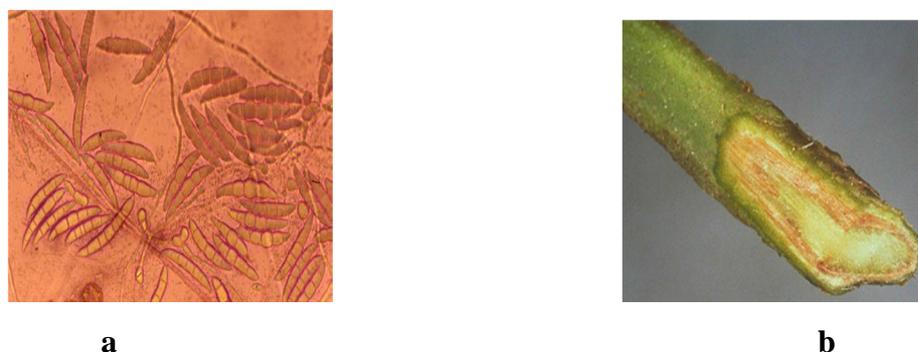


Figure 7 : (a) l'espèce *Fusarium roseum*

Observée sous microscope au grossissement (×40)

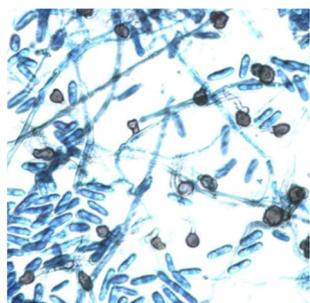
(Pitt *et al.*, 1994)

(b) Symptômes de la fusariose sur la tige

(Blandino *et al.*, 2015)

I-8. *Colletotrichum coccodes* : C'est un Ascomycète de la famille des Glomerellaceae, parasite très cosmopolite et polyphage. Ce champignon est responsable de l'antracnose ou de la pourriture racinaire ou maladie du charbon. Il occasionne des dégâts sur les racines, les feuilles, les tiges et les fruits (Salman *et al.*, 2015) (Figure 15). Ce champignon se développe par temps humide avec une température de 16 à 17°C (Tzortzakis, 2010).

Les symptômes de la maladie sont caractérisés par l'apparition de taches concaves, rondes ou allongées, bien délimitées, de couleur brun-noir avec des punctuations noires au centre. Les tissus infectés se dessèchent, flétrissent et finissent par mourir pendant la croissance (Alkan *et al.*, 2012) (Figure 16).



a



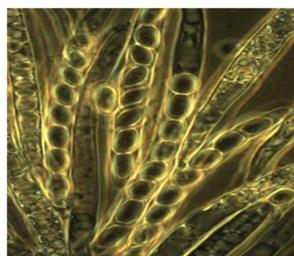
b

Figure 8 : (a) l'espèce *Colletotrichum coccodes*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Salman *et al.*, 2015)

(b) Symptômes de l'Antracnose
sur la tomate
(Alkan *et al.*, 2012)

I-9. *Sclerotinia sclerotiorum* : Ce champignon est un parasite polyphage qui appartient à la classe des Ascomycètes et à la famille des Sclerotiniaceae. Il est responsable de la sclérotiniose, dite aussi maladie de Pourriture du Collet ou Pourriture Blanche des plantes adultes (Clarkson *et al.*, 2017) (Figure 17). Il touche diverses plantes dont le colza, le tournesol, les haricots, les carottes, les tomates, la laitue etc. Des températures douces de 15 à 20°C, avec une forte humidité sont des terrains propices au développement de la sclérotiniose (Clarkson *et al.*, 2014).

La pathologie se manifeste par des taches jaunâtres ou noirâtres, le feuillage qui se flétrit, puis les fruits et la plante qui finissent par pourrir entièrement (Lee *et al.*, 2015) (Figure 18).



a



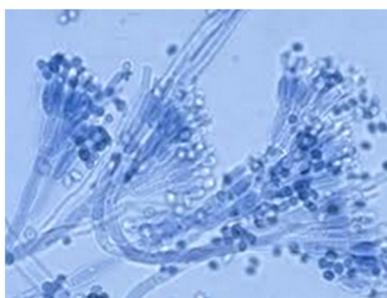
b

Figure 9 : (a) l'espèce *Sclerotinia sclerotiorum*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Clarkson *et al.*, 2017)

(b) Symptômes de la pourriture
blanche sur la carotte
(Lee *et al.*, 2015)

I-10. *Penicillium expansum* : *Penicillium expansum* appartient à la classe des Deutéromycète set à la famille des Trichocomaceae (Barad *et al.*, 2016) (Figure 19). Il est l'agent causal de la pourriture bleue notamment sur les pommes et les poires en conservation, Ces pourritures sont humides, de forme généralement circulaire et de couleur brune, Le tissu infecté devient mou et juteux, il peut être facilement détaché du tissu sain (Calvo *et al.*, 2017) (Figure 20).

Les dégâts les plus importants sont généralement observés pendant le stockage, le transport et la commercialisation des fruits (Tannous *et al.*, 2014).



a

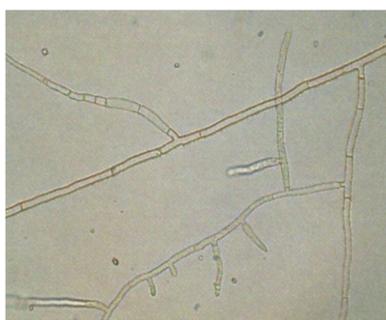
Figure 10 : (a) l'espèce *Penicillium expansum*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Barad *et al.*, 2016)



b

(b) Symptômes de la Pourriture
bleue sur la pomme
(Puel *et al.*, 2010)

I-11. *Rhizoctonia solani* : Ce Basidiomycète est de la famille des Ceratobasidiaceae (Figure 21). Il est responsable de la maladie du rhizoctone brun. Sur la betterave le blé, le riz, la pomme de terre et les légumineuses, ce dernier manifeste par une pourriture brun foncé de la racine et du collet, les symptômes de la maladie n'apparaissent très souvent qu'à la fin de l'été ou au début de l'automne (Foley *et al.*, 2016) (Figure 22).



a

Figure 11 : (a) l'espèce *Rhizoctonia solani*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Foley *et al.*, 2016)



b

(b) Symptômes du rhizoctone
brun sur le chou
(Foley *et al.*, 2016)

I-12. *Penicillium digitatum* : Ce champignon appartient à la classe des Deutéromycètes et à la famille des Trichocomaceae (Barad *et al.*, 2016) (Figure 23). Il infecte principalement les fruits d'agrumes et leur jus. La maladie due à *Penicillium digitatum* est dite la pourriture verte (López-Pérez *et al.*, 2015). Elle est caractérisée par des symptômes similaires à celles de la pourriture bleue causée par *Penicillium italicum*. Le site infecté se tache en surface et devient mou à une température aux environs de 25°C, Un mycélium blanc se développe par la suite et produit des spores de couleur vert-olive (Plaza *et al.*, 2004) (Figure 24).



a



b

Figure 12 : (a) l'espèce *Penicillium digitatum*

Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Barad *et al.*, 2016)

(b) Symptômes de la pourriture

verte sur l'orange
(Plaza *et al.*, 2004)

I-13. *Penicillium italicum* : Ce champignon est un Deutéromycète de la famille des Trichocomaceae. Il est responsable de la pourriture bleue des agrumes (Palou *et al.*, 2008)

(Figure 25). L'épiderme du fruit atteint s'éclaircit, devient mou, après quelques jours à une température de 24-25°C, un duvet mycélien blanc entourée par un halo, apparaît et se couvre rapidement de spores bleues. Le fruit, même partiellement atteint, devient inconsommable. La pourriture est plus molle, plus liquide et plus profonde que celle due au *Penicillium digitatum*.

Le développement de *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* dépend de plusieurs facteurs tels que la présence de blessures sur les fruits, le stade de maturité, la température et l'humidité (Plaza *et al.*, 2003) (Figure 26).



a



b

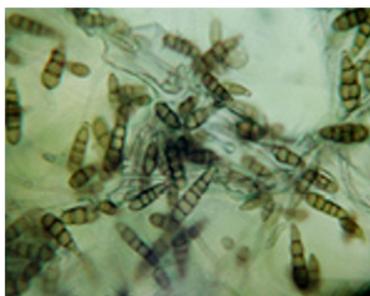
Figure 13 : (a) l'espèce *Penicillium italicum*

Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Palou *et al.*, 2008)

(b) Symptômes de la

Pourriture bleue sur le citron
(Plaza *et al.*, 2003)

I-14. *Alternaria brassicicola* : Ce champignon appartient à la classe des Deutéromycètes et à la famille des Brassicacées. Il est répandu dans les sols, la végétation, l'air ou les aliments, *Alternaria brassicicola* est responsable de la maladie de tache noire ou black spot des plantes, en particulier chez le chou, la moutarde ou le colza (Pedras *et al.*, 2016) (Figure 27). Ce champignon Phyto-pathogène, transmissible par les semences, est à l'origine d'importants dégâts sur les plantes hôtes cultivées. Il provoque en effet des pertes financières conséquentes pour les producteurs (Rezki *et al.*, 2016) (Figure 28).



a



b

Figure 14 : (a) l'espèce *Alternaria brassicicola*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Pedras *et al.*, 2016)

(b) Symptômes de la
Tache noire sur le brocoli
(Pedras *et al.*, 2016)

I-15. *Alternaria alternata* : Est un Deutéromycète de la famille des Pleosporaceae. Il l'agent de la maladie des taches foliaires et d'autres maladies souvent appelées alternarioses affectant de très nombreuses espèces végétales. *Alternaria alternata* est une espèce saprophyte et tonophile facultatif Requiert des conditions moyennes d'humidité Aw=0,95 Croissance optimale obtenue à la température de 25°C et à pH4, 4-5 (Prendes *et al.*, 2017) (Figure 29). Ce Phyto-pathogène opportuniste provoque divers symptômes, comme les taches noires, la pourriture, la rouille, etc. sur les différents organes de la plante (Wang, 2017)(b).

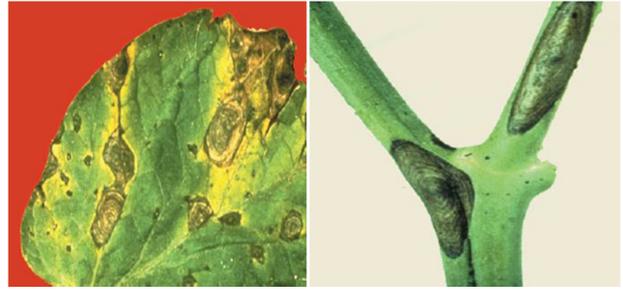
Les espèces infectées peuvent être des plantes ornementales pétunia, datura, physalis, industrielles tabac ou consommables tomates, piments, poivrons, aubergine, pomme de terre (Scott, 2001).

Les premiers symptômes de la maladie dans le champ se traduisent par l'apparition de petites lésions ovales et circulaires noires, Ces lésions ou chancres progressent lentement et occasionnent de larges lésions concaves (Tsai et Chung, 2014) (Figure 30).



a

Figure 15 : (a) l'espèce *Alternaria alternata*
Observée sous microscope au grossissement (×40)
(Scott, 2001)



b

c

Symptômes des taches foliaires
(b) sur les feuilles (c) sur la tige
(Hansen et al., 2009)

Chapitre II : les champignons utilisés en lutte biologique

II-1. Définition

La lutte biologique consiste en l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits pour empêcher les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles. Elle est basée sur l'exploitation par l'homme d'une relation naturelle entre deux êtres vivants (Ros *et al.*, 2017). Les cibles étant des organismes néfastes, tels que les ravageurs (insectes, nématodes, etc.), les germes (fongiques, bactériens, etc.) ou les mauvaises herbes. Beaucoup d'antagonistes existent certainement dans la nature et exercent un contrôle biologique plus ou moins efficace sur les pathogènes des plantes (Kooliyottil *et al.*, 2017).

II-2. Utilisation des champignons en lutte biologique

II-2-1. Utilisation contre les insectes

Les champignons peuvent être utilisés aussi pour inhiber les insectes nuisibles, comme la coccinelle dévoreuse de pucerons, les guêpes, les chenilles, les mites, les cochenilles et d'autres insectes attirés notamment par les plantes mellifères.

Les microorganismes qui peuvent être utilisés sont les bactéries, les virus et les champignons. Ils provoquent des maladies chez les insectes nuisibles et protègent ainsi les cultures. Les champignons utilisés pour lutter contre les insectes sont dits champignons entomopathogènes. Le principal genre utilisé étant *Beauveria*, particulièrement *Beauveria bassiana* qui est utilisé pour paralyser une grande variété d'insectes nuisibles, notamment les aleurodes, les thrips, les pucerons et les charançons (Sigsgaard *et al.*, 2017).

II-2-2. Utilisation contre les vers de terre

Les vers de terre sont souvent microscopiques et provoquent dans la terre des dégâts importants, notamment chez certaines cultures sensibles (pomme de terre, avoine, tabac, etc). Les racines sont les organes les plus attaqués, ils sont soit rongés en surface (comme par le genre *Pratylenchus*), soit envahis et couverts de gelles (genre *Meloidogyne*) (Pandit *et al.*, 2017).

Les vers les plus rencontrés dans la terre sont les nématodes, principalement : *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria*, *Meloidogyne incognita* et *Meloidogyne mayaguensis* (Baidoo *et al.*, 2016).

Plusieurs champignons peuvent stopper la croissance et la reproduction des nématodes. Ils sont même à la base des préparations mises en vente dans le commerce. Ces champignons hématophages peuvent être répartis en trois groupes en fonction de leur mode de prédation :

- Les champignons formant des organes de capture tels que : les boutons, les boucles anastomosées et les anneaux. Exemples *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactylla* et *Trichothecium*. L'espèce la plus utilisée étant *Arthrobotrys irregularis* (Singh *et al.*, 2013).
- Les champignons à spores collantes. Comme le genre *Hirsutellae* qui attaque *Ditylenchus dipsaci*, *Melioidogyne sp.* et *Aphelenchoides fragariae* (Oka, 2014).
- Les champignons ovicides qui ne parasitent pas les formes actives des nématodes mais les œufs. Principalement *Verticillium chlamydosporium* et *Paecilomyces esililacinus* (Wang *et al.*, 2010).

II-2-3. Utilisation contre les microorganismes phyto-pathogènes

Les champignons peuvent inhiber un grand nombre de microorganismes phyto-pathogènes ; ils servent de ce fait à protéger les diverses cultures. Comme exemple : *Trichoderma* qui permet de lutter contre *Phytophthora nicotianae* et *Sclerotinia sclerotiorum*. (Guilger *et al.*, 2017).

Candida oleophila qui est utilisé pour lutter contre *Penicillium digitatum* et *Penicillium italicum* (Lahlali *et al.*, 2005). *Metschnikowia fructicola* qui a une action importante contre les diverses espèces de *Penicillium* et *Botrytis* (HersHKovitz *et al.*, 2013). *Pythium oligandrum* qui est un champignon antagoniste de *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Fusarium oxysporum* (Skrzypczak, 2001).

II-3. Principe d'action des champignons contre les organismes néfastes

L'antagonisme se manifeste généralement par des mécanismes de contrôles des microorganismes au développement des maladies soit de l'antagonisme direct impliquant une interaction entre l'agent protecteur et l'agent pathogène soit d'un antagonisme indirect se manifestant à travers les réactions de défense de la plante. Parmi les interactions directes, il est habituel de distinguer : la compétition, l'antibiose, le parasitisme et la Résistance (Rahnamaeian, 2011).

II-3-1. La compétition : Elle représente la lutte de deux ou plusieurs espèces pour l'utilisation d'une même ressource. Elle peut concerner l'espace ou la nourriture. En d'autres termes, une population qui possède un avantage compétitif dans l'appropriation d'une ressource, s'assure du contrôle de cette ressource et élimine la population des autres espèces, par exemple : *Trichoderma* spp (Wu *et al.*, 2017).

II-3-2. Le parasitisme : Le parasitisme est une forme de relation dans laquelle un organisme (le parasite) tire de l'hôte des bénéfices en lui causant des effets néfastes. En effet, les parasites détournent à leur profit une partie des ressources normalement destinée à la croissance, la survie et la reproduction des hôtes, par exemple *Trichoderma* s'enroule autour de l'agent pathogène soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui « Injectant » des substances (enzymes) qui le détruisent (Vos *et al.*, 2015).

II-3-3. Production de sidérophores : Les sidérophores sont des molécules extracellulaires qui possèdent une grande affinité pour le fer ferrique (Fe^{+3}). Ce dernier est présent dans le sol à faible concentration sous forme de $Fe(OH)_3$. Le phénomène d'antagonisme peut se manifester aussi soit par une inhibition de la germination des spores des champignons, Ce phénomène est connu sous le nom de mycostase soit par une lyse du mycélium des champignons c'est la mycolyse (Haselwandter *et al.*, 2013).

II-3-4. L'antibiose : La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents Phyto-pathogènes. Il se signale par de magnifiques zones d'inhibition de l'agent pathogène à proximité de l'agent antagoniste. Il est très difficile de connaître quels sont les métabolites secondaires réellement produits et actifs *in situ*. Par exemple certaines souches de *Trichoderma* (Mendoza *et al.*, 2015).

II-3-5. Résistance : Ces mécanismes qui nécessitent une reconnaissance entre le microorganisme et la plante mettent en jeu le système immunitaire de la plante et différentes voies métaboliques. Ils aboutissent à la production de protéines de défense et de phytoalexines, molécules toxiques pour les microorganismes. Pratiquement tous les agents de lutte sont capables d'éliciter les mécanismes de défense de la plante. La mise en évidence de l'élicitation et/ou de la potentialisation des mécanismes de défense, nécessite la mise en œuvre d'outils biochimiques et moléculaires, car elle ne se manifeste pas par des modifications phénotypiques de la plante. Tous ces modes d'action sont plus ou moins partagés par les agents de lutte biologique, ils contribuent seuls ou en association à protéger la plante contre les agressions pathogènes. Par exemple *Pythium oligandrum* (Horner *et al.*, 2012).

II-4. Les avantages et inconvénients de la lutte biologique

La lutte biologique offre plusieurs avantages. Elle est actuellement fortement favorisée et dans tous les domaines. Néanmoins, certains inconvénients peuvent être observés notamment en ce qui concerne son efficacité (Stear *et al.*, 2007).

II-4-1. Avantages : Parmi eux, nous pouvons citer :

- permet la suppression des inconvénients de la lutte chimique
- permet d'éliminer l'utilisation de pesticides chimiques
- diminue la toxicité
- peut être utilisée en serre
- permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques
- permet une plus grande spécificité de l'action
- offre faible coût
- améliore la qualité de vie et de santé des travailleurs agricoles en les exposant moins aux produits chimiques
- amoindrit la contamination des produits par les résidus chimiques

- diminue les risques de pollution (Peisley *et al.*, 2016).

II-4-2. Inconvénients : Les principaux effets néfastes de la lutte biologique sont :

- l'efficacité qui est souvent faible lorsqu'elle est curative
- l'efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre (Brunetto *et al.*, 2016).
- l'action moins drastique que les pesticides, nécessitant souvent plus d'applications
- l'efficacité est relative aux conditions climatiques (Li *et al.*, 2015).

II-5. Les espèces utilisées en lutte biologique

II-5-1. *Trichoderma* : Ces champignons appartiennent à la classe des Deutéromycètes et à la famille des Hypocreaceae. Les *Trichoderma* permettent la lutte contre *Botrytis cinerea* avec différents mode d'action : l'antibiose, la compétition, etc....Mais ils sont aussi utilisés dans la protection des maladies racinaires, notamment celles causées par *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* et *Phytophthora* (Yang *et al.*, 2016).

Le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons imparfaits saprophytes qui se retrouvent couramment dans le sol, sur le bois mort, les débris végétaux et les organes aériens des plants. L'effet du *Trichoderma* sur la croissance des végétaux et son aptitude à lutter contre le *Rhizoctonia solani* et le *Pythium ultimum* a largement été étudié L'espèce la plus utilisée en lutte biologique est *Trichoderma viride* (Eslaminejad Parizi *et al.*, 2012).

II-5-2. *Candida* : Ce sont des levures Ascomycètes appartenant à la famille des *Candidaceae*. Elles luttent contres *Botrytis cinerea* et *Penicillium expansum*. Les *Candida* agissent principalement par compétition pour les nutriments avec les champignons, et ce après colonisation de la surface des fruits traité. Cependant, un effet d'antagonisme est suspecté et est actuellement en cours d'étude. Il existe trois produits commerciaux de ces levures : *Candida oleophila*, *Candida saitoana* et *Candida sake* (Sui *et al.*, 2012).

II-5-3. *Metschnikowia fructicola* : Ce champignon appartient à la classe des Ascomycètes et à la famille des *Metschnikowiaceae*. Il lutte contre *Penicillium expansum* et est notamment utilisé contre les maladies de stockage de la patate douce et de la carotte (Kurtzman *et al.*, 2001).

II-5-4. *Pythium oligandrum* : Cet Oomycète appartient à la famille des Pythiaceae. Il est l'agent antagoniste utilisé pour lutter contre *Fusarium roseum*, *Alternaria alternata*, *Gaeumannomyces*, *Ophiostoma*, *Phoma*, *Pseudocercospora*, *Pythium*, *Sclerotinia* et *Sclerotium* (Horner *et al.*, 2012).

Pythium oligandrum agit comme un hyperparasite pour attaquer l'agent pathogène et stimule les mécanismes naturels de défense des plantes avec la production de l'hormone oligandrine qui aide les plantes à résister aux maladies sans nuire à sa croissance (Picard *et al.*, 2000).

II-5-5. *Aureobasidium pullulans* : C'est une pseudo-levure de la famille des Dothioraceae.

Ce saprophyte cosmopolite est communément isolé à partir des débris des plantes, du sol, des fruits et des céréales *Aureobasidium pullulans* est connue dans le domaine de l'industrie pour la sécrétion de la pullulane qui est un polysaccharide biodégradable, utilisé dans l'emballage des médicaments et en alimentation (Banani *et al.*, 2014).

Ce champignon permet de lutter contre *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*, *Rhizopus tolonifer* et *Aspergillus niger*.

Plusieurs mécanismes ont été rapportés comme impliqués dans l'activité antagoniste d'*Aureobasidium pullulans*, comme la compétition pour la nutrition et l'espace, le mycoparasitisme et l'induction de la résistance de l'hôte (Wachowska *et al.*, 2016).

II-5-6. *Coniothyrium minitans* : Ce champignon Ascomycète appartient à la famille des Leptosphaeriaceae. Il parasite *Sclerotinia sclerotiorum* par la production des enzymes dégradant les parois cellulaires de l'agent pathogène, telles que des chitinases ou des β -1-3-glucanases (Wei *et al.*, 2013).

Matériel et méthodes

III- Matériel & Méthodes

III-1. Matériel

III-1-1. Instruments et appareillages

- Bec bunsen
- Boîtes de Pétri
- Tubes à essais
- Flacons pour gélose
- Anse de platine
- Lames
- Lamelles
- Spatule
- Pince
- Pipettes Pasteur
- Pipettes graduées
- Pipetteur
- Erlenmeyer
- Verres à montre
- Entonnoirs
- Portoirs
- Compresses stériles
- Scotch (ruban adhésif)
- Sachets stériles
- Bistouri
- Bain-marie
- Etuve
- PH mètre
- Balance
- Autoclave
- Plaque chauffante
- Agitateur

- Microscope optique
- Agitateur magnétique (barreau magnétique)
- Agar
- Glucose

III-1-2. Colorants et solutions utilisés

- Eau physiologique stérile
- Eau distillée
- Alcool
- Fuchsine
- Bleu de méthylène

III-1-3. Milieux de culture

- Gélose PDA (Potato Dextrose Agar) préparée au laboratoire.

III-1-4. Moisissures

En plus des moisissures isolées à partir des plantes contaminées, d'autres espèces ont été récupérées de chez Mme Bourzama G, Département de Microbiologie Appliquée et Sciences alimentaires, Université Mohamed Seddik Ben Yahia. Ces moisissures étaient *Penicillium griseum*, *Aspergillus ochraceus*.

III-2. Méthodes

III-2-1. Préparation de la gélose PDA (Potato Dextrose Agar)

III-2-1-1. Constituants pour 1 litre

- 200 g de pomme de terre.
- 20 g d'agar.
- 20 g de glucose.

III-2-1-2. Préparation

Laver et couper en petits cubes 200 g de pommes de terre non pelées, les mettre dans un litre d'eau distillée et porter à ébullition pendant 30 minutes sur une plaque chauffante.

Ecraser la pomme de terre puis filtrer dans un bécber à l'aide d'une compresse stérile. Ajouter de l'eau distillée au filtrat jusqu'à l'obtention d'un volume final d'un litre. Puis, mettre le tout sur une plaque chauffante avec faible agitation et ajouter graduellement 20 g de glucose et 20

g d'agar. Le pH du milieu était ajusté à 6,5 et la stérilisation effectuée à 120°C pendant 20 minutes (Botton *et al.*, 1990).

III-2-2. Prélèvement à partir des plantes

Nous avons pris dans ce travail l'exemple de quelques plantes infectées localisées au sein de l'université de Jijel et quelques végétaux infectés après la récolte. L'objectif étant d'avoir des moisissures de champs et des moisissures de stockage.

L'identité des plantes utilisées a été établie au département des Sciences Végétales de l'université des Frères Mentouri, Constantine 1 (Tableau 1).

A partir des plantes contaminées, nous avons prélevé dans des conditions aseptiques (près du bec-bunsen) quelques feuilles infectées à l'aide d'un bistouri stérile, puis nous les avons transportées au laboratoire dans des sachets stériles.

Les échantillons ont ensuite été nettoyés avec de l'alcool puis rincés avec de l'eau physiologie stérile. Une fois secs, le prélèvement s'est fait avec une pince stérile en découpant de petits morceaux des parties végétales infectées (Figure 1). L'ensemencement était effectué dans une boîte de Pétri contenant le milieu de culture PDA. L'incubation s'est faite à 25°C pendant trois jours (72 heures) (Takahara *et al.*, 2011).

Nous avons aussi prélevé deux échantillons à partir des citrons et des aubergines infectées après la récolte. Ces échantillons ont été ramenés de chez des marchands de fruits et légumes dans des sachets stériles (Figure 2). Une fois au laboratoire, les prélèvements à partir des endroits infectés ont été effectués avec une anse de platine puis déposés par touche dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Comme pour les prélèvements à partir des plantes, l'incubation s'est faite à 25°C pendant trois jours (Takahara *et al.*, 2011).

Tableau 1 : Les végétaux utilisés pour les prélèvements des moisissures phyto-pathogènes.

Plante (Nom commun)	Nom scientifique	Organe utilisé
Rose de Chine	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i>	Feuilles
Figuier	<i>Ficus carica</i>	Feuilles
Rosier rose	<i>Rosa centifolia</i>	Feuilles
Rosier blanc	<i>Rosa annapurna</i>	Feuilles
Citronnier	<i>Citrus limon</i>	Fruit (le citron)
Aubergine	<i>Solanum melongena</i>	Fruit (l'aubergine)



a : Rose de chine



b : Figuier



c : Rosier rose (face supérieur)



d : Rosier rose (face inférieur)



e : Rosier blanc

Figure 16 : Photos des feuilles infectées utilisées pour le prélèvement.



a : Aubergine

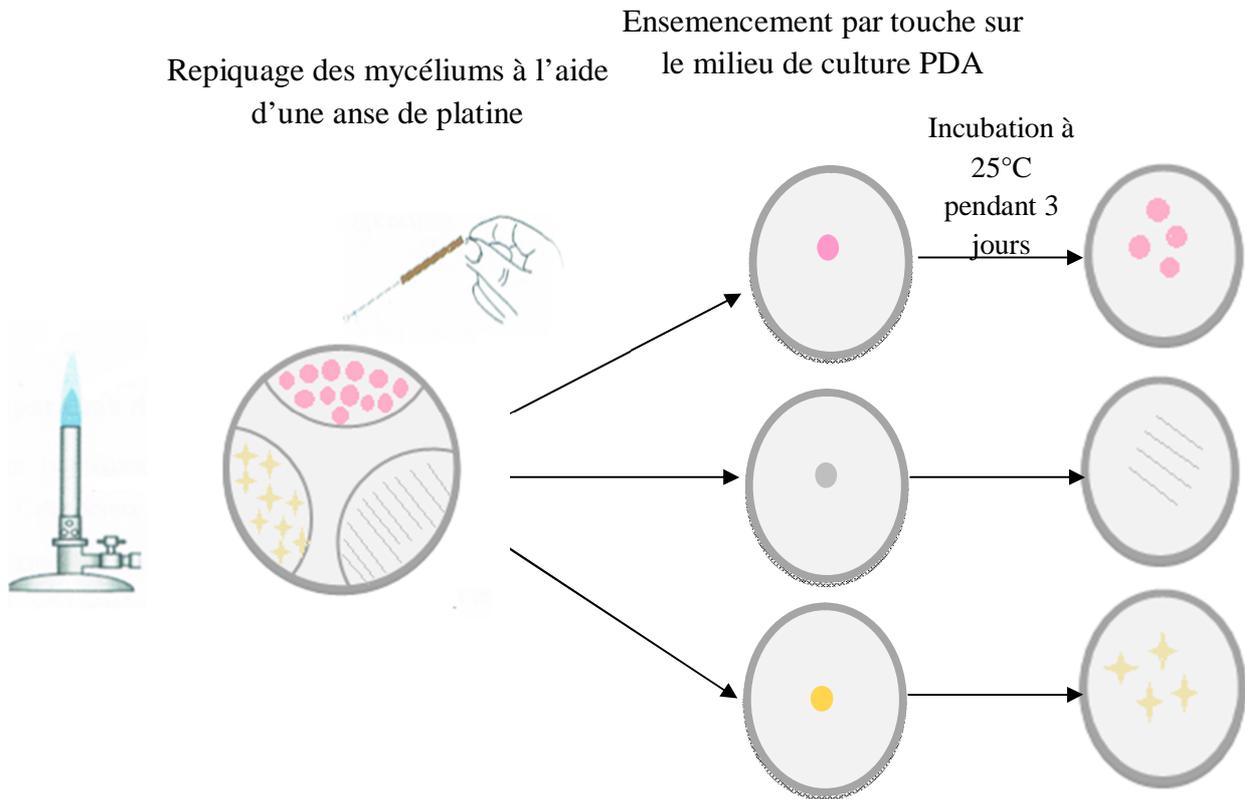


b : Citronnier

Figure 17 : Photos du citron et des aubergines utilisées.

III-2-3. Isolement et purification des moisissures

Les mycéliums obtenus à partir des échantillons ont été isolés en effectuant plusieurs repiquages sur le milieu PDA. L'ensemencement s'est fait par touche à l'aide d'une anse de platine, à la surface des géloses. Puis les boîtes ont été incubées à 25°C pendant trois jours (Bouchet *et al.*, 2005) (Schéma 1).



Schémas 1 : Isolement et purifications des mycéliums.

III-2-4. Identification des moisissures

Les espèces fongiques isolées et purifiées ont été identifiées en se basant sur leurs caractères macroscopiques (caractères culturaux) et microscopiques.

III-2-4-1. Caractérisation macroscopique

Elle consistait à observer et caractériser les mycéliums sur les boîtes de Pétri durant une période d'incubation allant de trois à vingt et un jours, selon les espèces. Les principaux points relevés étant la vitesse de croissance, la couleur au recto et au verso des boîtes, le relief et la texture des mycéliums, la présence d'exsudats, des pigments et des sclérotés (Botton, 1990 ; Akroum, 2012).

III-2-4-2. Caractérisation microscopique

L'examen microscopique des moisissures s'est fait en déposant un morceau du mycélium sur une lame contenant une goutte d'eau physiologique. Après un léger étalement, la lamelle est déposée délicatement. Pour les thalles cassants, le prélèvement pouvait être effectué à l'aide d'un morceau de ruban adhésif.

L'observation des structures caractéristiques des moisissures s'est fait aux grossissements $\times 10$ puis $\times 40$. Dans le cas des mycéliums hyalins ou difficilement observables, une goutte de fuchsine ou de bleu de méthylène est ajoutée au liquide de montage (Botton *et al.*, 1990).

L'objectif de cette étape étant de caractériser les moisissures isolées et de déterminer leurs structures spécifiques (leurs clés d'identification) (Botton *et al.*, 1990 ; Akroum, 2012).

III-2-5. Confirmation de l'identité des moisissures fournies

Pour les moisissures qui nous ont été fournies, nous avons vérifié leur identité avant de tester l'activité de l'antagonisme entre les espèces.

Cette vérification s'est faite en repiquant les moisissures sur gélose PDA, en caractérisant l'aspect des mycéliums, puis en effectuant une observation microscopique aux grossissements $\times 10$ puis $\times 40$; exactement comme ça a été fait pour l'identification des espèces (Botton *et al.*, 1990).

III-2-6. Activité de l'antagonisme

III-2-6-1. Isolement et identification des moisissures utilisées pour l'antagonisme

Les moisissures utilisées comme antagonistes des espèces phyto-pathogènes étaient *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum*. Elles provenaient des deux types de fromages : le camembert et le roquefort. En effet, ces espèces ont été prélevées à partir des deux fromages à l'aide d'une anse de platine et ensemencées sur milieu PDA. Puis l'incubation était effectuée à 25°C pendant une semaine (Císarová *et al.*, 2012).

L'identité des moisissures a été confirmée par caractérisation macroscopique et microscopique des thalles aux grossissements $\times 10$ et $\times 40$ (Botton *et al.*, 1990).

III-2-6-2. Optimisation des espèces antagonistes

Les espèces *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* ont été ensemencées sur gélose PDA dans des erlenmeyers fermés hermétiquement, puis incubées chacune à sa température optimale de croissance (25°C) pendant 72 heures. Ceci afin d'obtenir des espèces en phase exponentielle (optimum de croissance) (Botton *et al.*, 1990) (Figure 33).

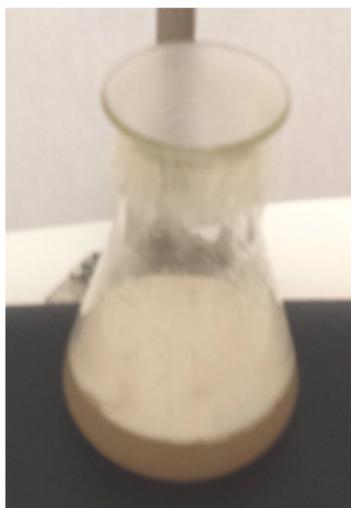


Figure 18 : Culture de *Penicillium camemberti* dans le but de son optimisation.

III-6-3. Test de l'antagonisme

Le teste de l'antagonisme a été réalisé par affrontements des espèces sur gélose. C'est-à-dire, sur la surface de la gélose PDA, la moisissure phyto-pathogène et la moisissure antagoniste étaient respectivement déposées à l'aide d'un emporte pièces aux deux extrémités des boîtes. L'incubation était effectuée à 25°C et le suivi de la culture était fait jusqu'à l'apparition d'une espèce dominante ou l'absence d'activité des deux espèces (Sempere et Santamarina, 2010) (Schéma 2).

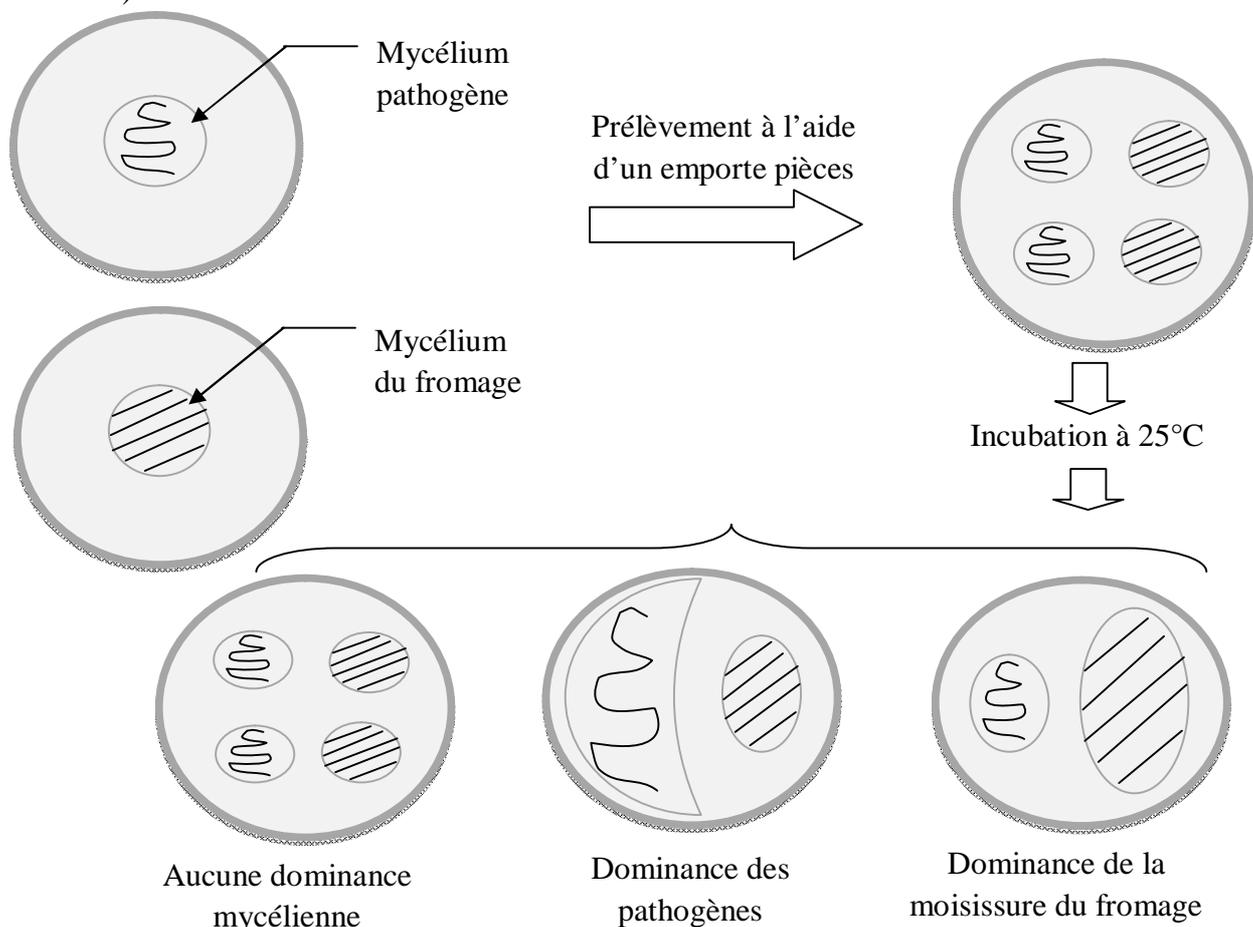


Schéma 2 : Protocole de réalisation du test de l'activité antifongique.

Résultats

IV- Résultats

IV-1. Mycéliums isolés à partir des plantes

Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA ont toutes montré une croissance mycélienne, ce qui montrait que tous les échantillons étaient contaminés par des moisissures. Au total, nous avons isolé 9 mycéliums bien distincts.

L'échantillon qui a donné le plus de moisissures était celui du Figuier. En effet, ce dernier a permis l'isolement de trois mycéliums : 3, 9 et 5 (Tableau 2).

Tableau 2 : Les mycéliums isolés à partir des échantillons.

Echantillon	Mycéliums isolés
Rose de Chine	Mycélium 1, mycélium 2
Figuier	Mycélium 3, mycélium 9, mycélium 5
Rosier rose	Mycélium 6
Rosier blanc	Mycélium 7
Citronnier	Mycélium 8
Aubergine	Mycélium 4

IV-2. Identification des mycéliums isolés

Après observation des moisissures sur boîtes de Pétri (caractérisation macroscopique) et au microscope (observation microscopique), nous avons obtenu ce qui suit :

IV-2-1. Mycélium 1

- **Observation macroscopique :** Le thalle était de couleur blanche puis jaune-orange. Il avait un aspect aplati, légèrement poudreux et le centre était surélevé et granuleux. Le revers était jaune allant jusqu'à l'orange avec un centre rouge foncé (Figure 34).



a : Recto de la boîte de Pétri **b :** Verso de la boîte de Pétri

Figure 19 : Aspect macroscopique du mycélium 1.

- **Observation microscopique** : Le thalle était septé et avait des têtes aspergillaires bisériées, de forme sub-cylindrique. La couleur était vert-jaune plus ou moins foncée. Les conidies étaient disposées en chaînettes, ornementées de formes irrégulières mais généralement ovoïdes (Figure 35).

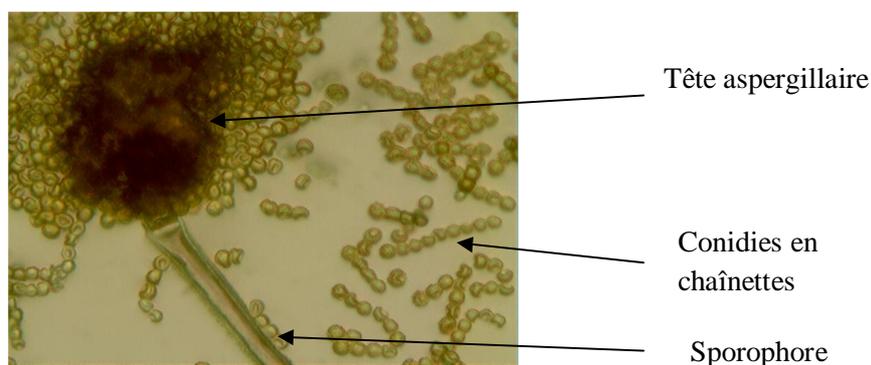


Figure 20 : Aspect microscopique du mycélium 1 (grossissement $\times 40$).

D'après ces caractéristiques, l'espèce a été identifiée comme étant *Aspergillus versicolor*.

IV-2-2. Mycélium 2

- **Observation macroscopique** : Le thalle était de couleur marron et entouré d'une marge blanche. Il avait un aspect aplati et des bords irréguliers. Le revers était marron.

- **Observation microscopique** : Sous microscope, le mycélium était septé et hyalin, de couleur verte. Il n'était pas très ramifié mais formait beaucoup de conidies. Ces dernières étaient cylindriques ou pointues à une extrémité, mais rarement sub-globuleuses (Figure 36).

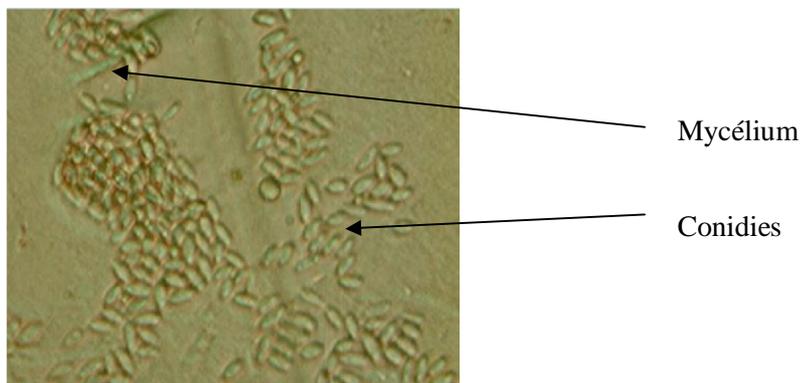


Figure 21 : Aspect microscopique du mycélium 2 coloré au bleu de méthylène (grossissement $\times 40$).

D'après ces caractéristiques l'espèce était identifiée comme étant *Acremonium sp.*

IV-2-3. Mycélium 3

- **Observation macroscopique** : Le thalle était rose allant jusqu'au violet, avec un contour vert. Il produisait des gouttes d'exsudat. Les bords étaient de forme irrégulière, il avait un centre lévuroïde et un contour mycélien. Le revers était de couleur crevette, avec un centre noir et un contour vert (Figure 37).



a : Recto de la boîte de Pétri **b** : Verso de la boîte de Pétri

Figure 22 : Aspect macroscopique du mycélium 3.

- **Observation microscopique** : Le mycélium était cloisonné, de couleur jaune. Il était très ramifié et enchevêtré. Des macro-conidies étaient présentes. Elles étaient brunes, à paroi épaisse, larges à la base et fines à l'extrémité supérieure (Figure 38).

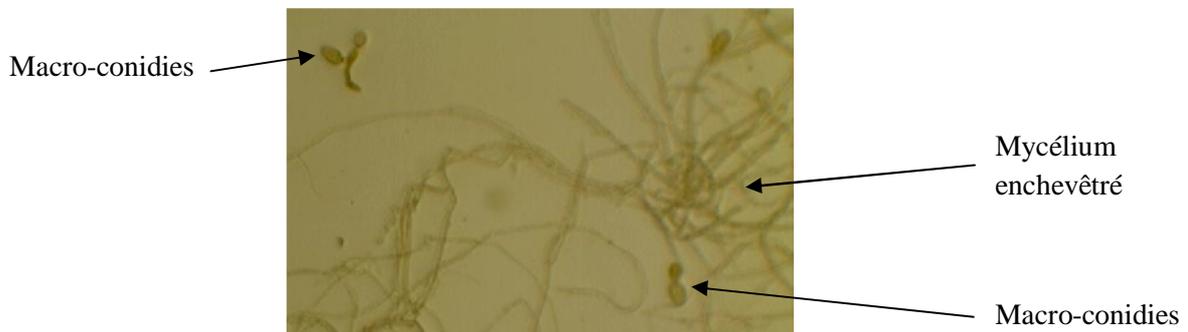


Figure 23 : Aspect microscopique du mycélium 3 coloré au bleu de méthylène (grossissement×10).

Les caractéristiques de ce mycélium visaient l'espèce *Drechslera graminea*.

IV-2-4. Mycélium 4

- **Observation macroscopique** : Le thalle était velouté et aplati. Il était blanc, avec un centre noir et avait une bordure irrégulière. Le revers était jaune à centre noir.

- **Observation microscopique** : Le mycélium était marron, cloisonné et peu ramifié. Il portait des dictyospores de forme irrégulière. Elles avaient des cloisonnements transversaux et longitudinaux et étaient munies d'un petit allongement à l'extrémité dit le rostre (Figure 39).

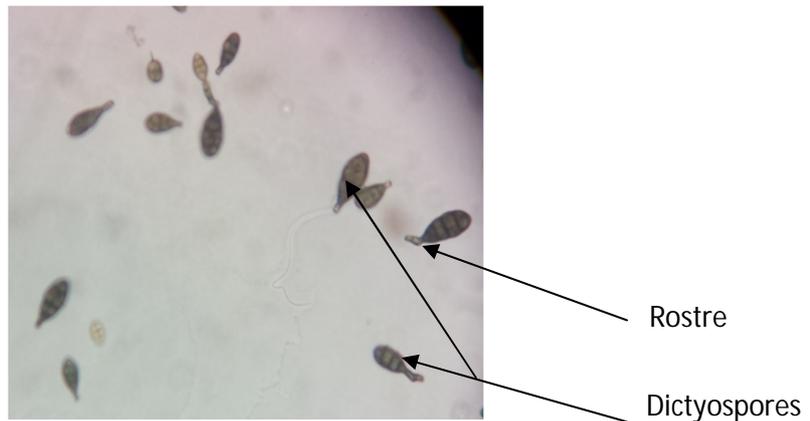


Figure 24 : Aspect microscopique du mycélium 4 (grossissement×10).

Le mycélium 4 correspondait donc à *Alternaria alternata*.

IV-2-5. Mycélium 5

- **Observation macroscopique :** Le thalle était de couleur blanche virant au rose pâle, de forme irrégulière et au centre surélevé. La texture paraissait cotonneuse. Au revers de la boîte, la couleur du thalle était beige.

- **Observation microscopique :** Le mycélium était septé, ramifié et fin. Les conidies étaient de forme cylindrique ou elliptique et avaient une couleur beige. Elles se regroupaient en amas au-dessus des sporophores donnant l'aspect d'un sporocyste (Figure 40).



Figure 25 : Aspect microscopique du mycélium 5 coloré au bleu de méthylène (grossissement×40).

D'après ces caractéristiques l'espèce était identifiée comme étant *Acremonium strictum*.

IV-2-6. Mycélium 6

- **Observation macroscopique :** Le thalle était de couleur blanche parsemé de points verts. Il avait des bords irréguliers. Il était poudreux et peu dense (Figure 41). Le revers était beige.

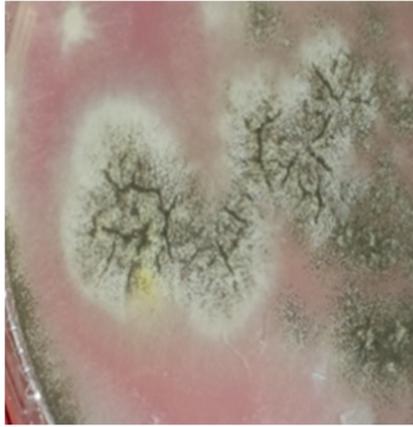


Figure 26 : Aspect macroscopique du mycélium 6.

- **Observation microscopique :** Le mycélium était septé et portait des têtes aspergillaires petites, bisériées, de couleur verte allant jusqu'au marron. Le sporophore était tortueux et septé (Figure 42).

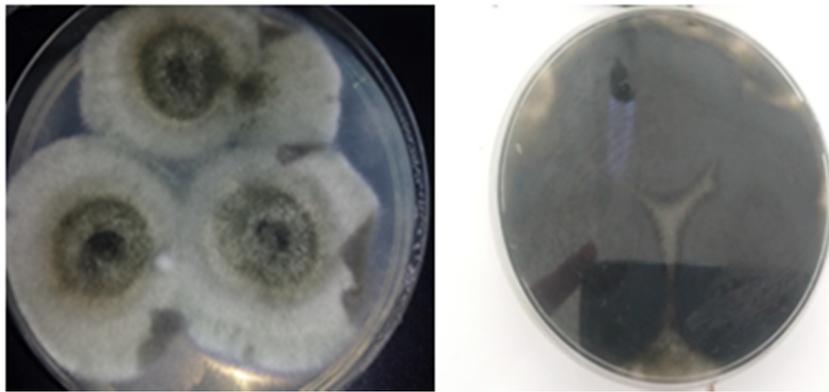


Figure 27 : Aspect microscopique du mycélium 6 coloré à la fuchsine (grossissement×10).

Les caractéristiques de ce mycélium étaient à celles d'*Aspergillus sydowii*.

IV-2-7. Mycélium 7

- **Observation macroscopique :** Le thalle était de couleur blanche, mais le centre était gris foncé. Il avait un aspect cotonneux et au revers donnait une couleur noire (Figure 43).



a : Recto de la boîte de Pétri **b** : Verso de la boîte de Pétri

Figure 28 : Aspect macroscopique du mycélium 7.

- **Observation microscopique** : Le mycélium était de vert à marron clair, septé et ornementé. Il produisait des macro-conidies de couleur un peu plus foncée. Elles étaient fortement ornementées et étaient cloisonnées transversalement (Figure 44).

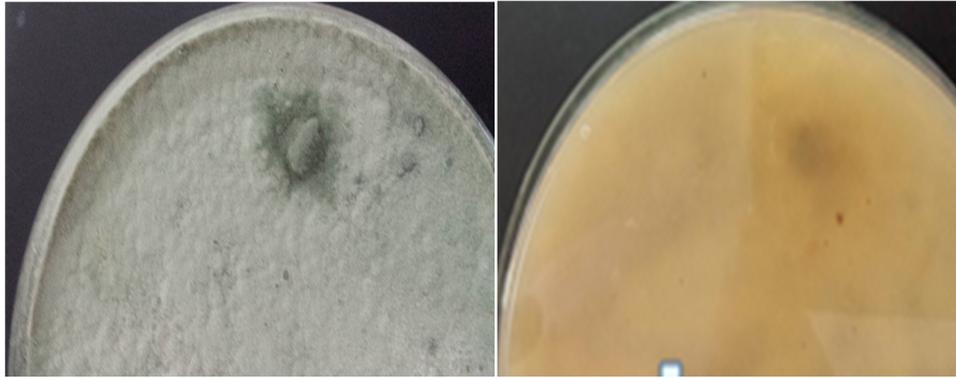


Figure 29 : Aspect microscopique du mycélium 7 (grossissement×40).

Les aspects macroscopique et microscopique permettaient d'identifier l'espèce comme étant *Drechslera dematioidea*.

IV-2-8. Mycélium 8

- **Observation macroscopique** : Le thalle était de croissance rapide ; au bout d'une semaine, il avait entièrement recouvert la boîte de Pétri (Figure 45). Il était de couleur blanche à verdâtre et avait un aspect velouté et très dense. Le revers était jaune.



a : Recto de la boîte de Pétri

b : Verso de la boîte de Pétri

Figure 30 : Aspect macroscopique du mycélium 8.

- **Observation microscopique** : Le mycélium était verdâtre et septé. Les pénicilles étaient très différents, généralement tri-verticillés. Les conidies étaient rondes, lisses et disposés en chainettes assez longues (Figure 46).

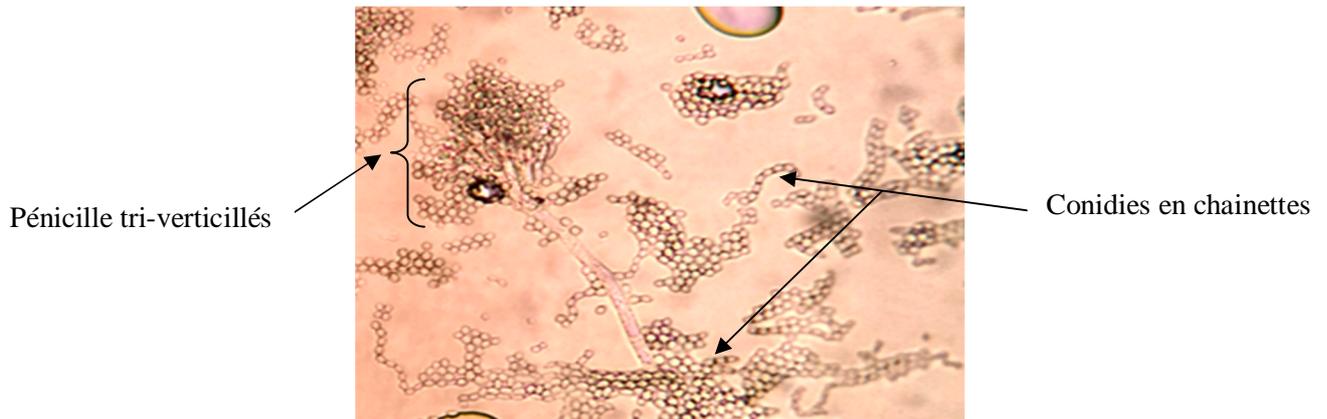
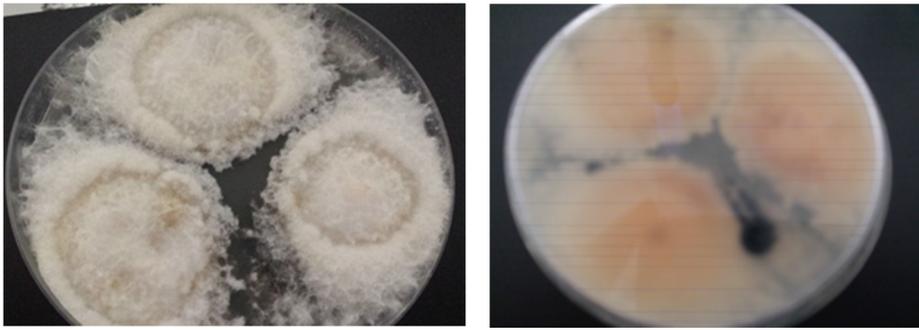


Figure 31 : Aspect microscopique du mycélium 8 coloré à la fuchsine (grossissement×40).

Ces caractéristiques indiquaient que cette espèce était *Penicillium digitatum*.

IV-2-9. Mycélium 9

- **Observation macroscopique** : La moisissure avait une vitesse de croissance importante sur la gélose PDA. Elle était cotonneuse, blanche et surélevée au centre. Elle formait des gouttes d'exsudat, mais pas de pigments. Le revers était beige-rose (Figure 47).



a : Recto de la boîte de Pétri

b : Verso de la boîte de Pétri

Figure 32 : Aspect macroscopique du mycélium 9.

- **Observation microscopique** : Le mycélium était septé, très ramifié et blanc. Le sporophore était fin et siphonné. Des conidies fusiformes étaient présentes en grand nombre. Elles étaient filiformes et très longues avec 3 à 4 septes (Figure 48).

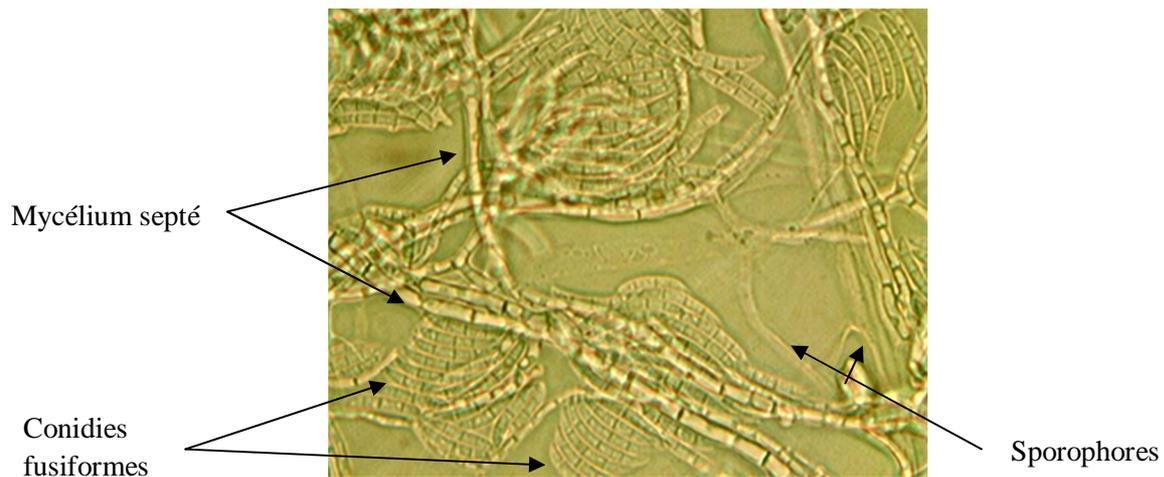


Figure 33 : Aspect microscopique du mycélium 9 (grossissement×40).

D'après ces caractéristiques, l'espèce était identifiée comme étant *Fusarium oxysporum*.

IV-3. Confirmation de l'identité des espèces apportées

IV-3-1. *Penicillium griseum*

- **Observation macroscopique** : Le mycélium était de couleur vert-gris à gris pâle. Il était plat et poudreux. Le revers était jaune à brun.

- **Observation microscopique** : Le thalle était septé et ramifié. Les pénicilles étaient ornementés et faiblement ramifiés. Ils donnaient des conidies rondes, lisses et disposées (Figure 49).

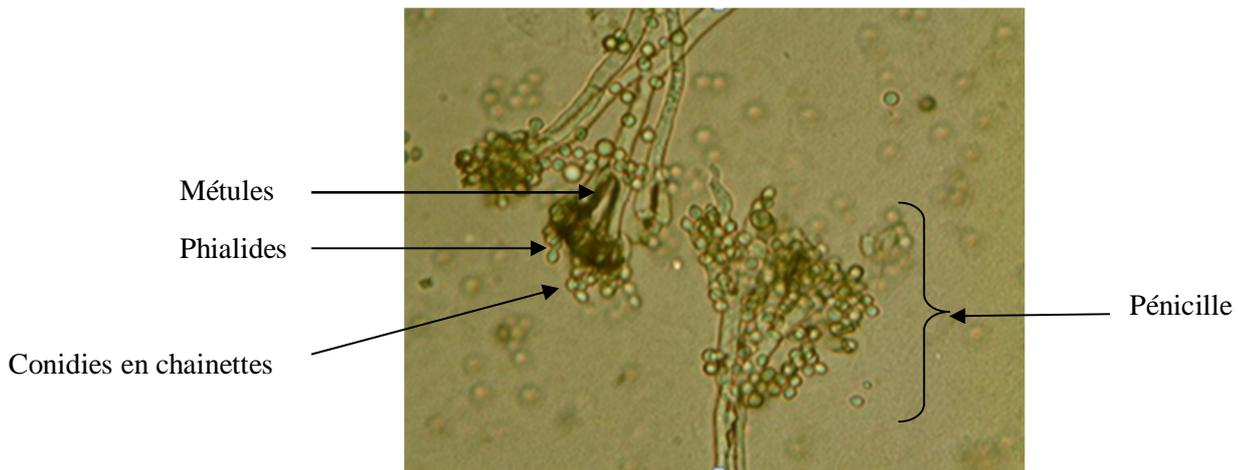


Figure 34 : Aspect microscopique de *Penicillium griseum* (grossissement×40).

Ces caractéristiques confirmaient que l'espèce était *Penicillium griseum*.

IV-3-2. *Aspergillus ochraceus*

- **Observation macroscopique :** Le mycélium était de couleur verte, de forme irrégulière et poudreuse. Il avait un grand pouvoir de dissémination sur la boîte de Pétri. Le revers était jaune (Figure 50).



a : Recto de la boîte de Pétri



b : Verso de la boîte de Pétri

Figure 35 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus ochraceus*.

- **Observation microscopique :** Le mycélium était septé et donnait des têtes conidiennes globuleuses et grandes. La couleur allait du jaune à marron. Les conidiophores étaient rugueux, jaunes à brun-pâle (Figure 51).

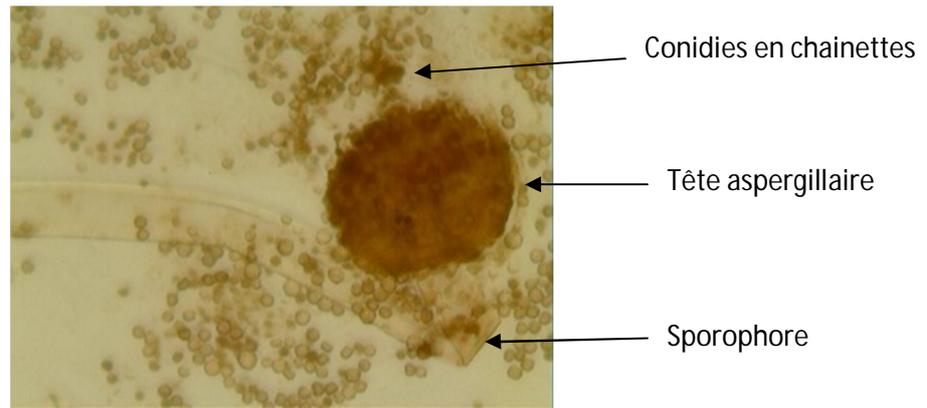


Figure 36 : Aspect microscopique d'*Aspergillus ochraceus* (grossissement $\times 40$).

D'après ces caractéristiques l'espèce était effectivement *Aspergillus ochraceus*.

IV-4. Résultats de l'antagonisme

IV-4-1. *Aspergillus sydowii*

Cette espèce a donné une forte croissance face à *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum*. En effet, *Aspergillus sydowii* a entièrement inhibé la croissance de *Penicillium roqueforti* (Figure 52), mais face aux deux autres espèces antagonistes, elle a permis l'apparition d'un faible mycélium qu'elle a commencé à recouvrir en croissant par-dessus (Figure 53 et 54).

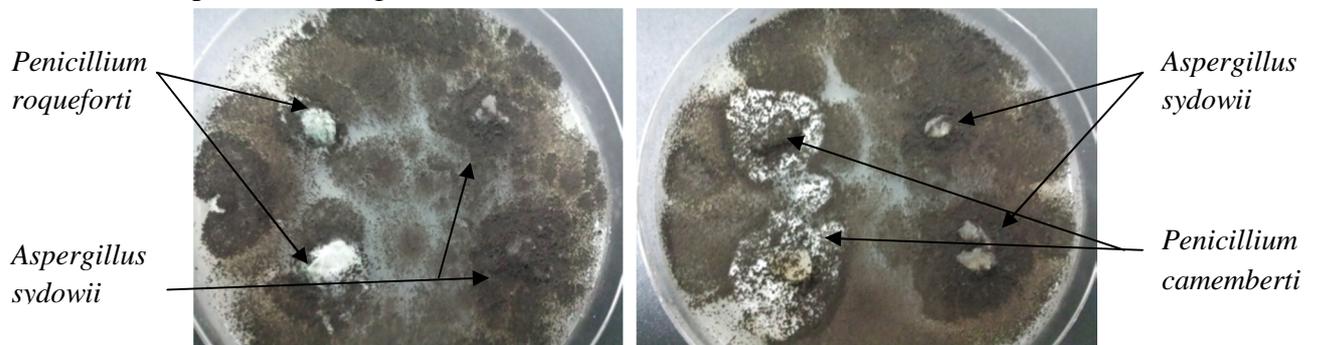


Figure 37 : Affrontement entre *Aspergillus sydowii* et *Penicillium roqueforti*.

Penicillium roqueforti n'a donné aucune croissance face à *Aspergillus sydowii*.

Figure 38 : Affrontement entre *Aspergillus sydowii* et *Penicillium camemberti*.

Aspergillus sydowii a limité la croissance de *Penicillium camemberti* et a commencé à recouvrir son mycélium.

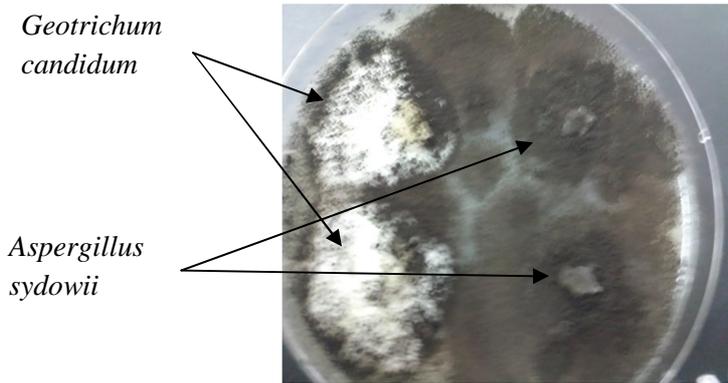


Figure 39 : Affrontement entre *Aspergillus sydowii* et *Geotrichum candidum*.

Aspergillus sydowii a limité *Geotrichum candidum* en entourant son mycélium et en croissant par-dessus.

IV-4-2. *Acremonium strictum*

Acremonium strictum était sensible à *Penicillium roqueforti*. En effet, cette dernière avait une dominance mycélienne sur la boîte de Pétri face à la moisissure phyto-pathogène (Figure 55). *Penicillium camemberti* avait une bonne croissance mais un peu plus faible que celle d'*Acremonium strictum* (Figure 56). Par contre, *Geotrichum candidum* avait le même pouvoir de croissance qu'*Acremonium strictum*. L'affrontement a donc donné une croissance égale des mycéliums sur la boîte (Figure 57).

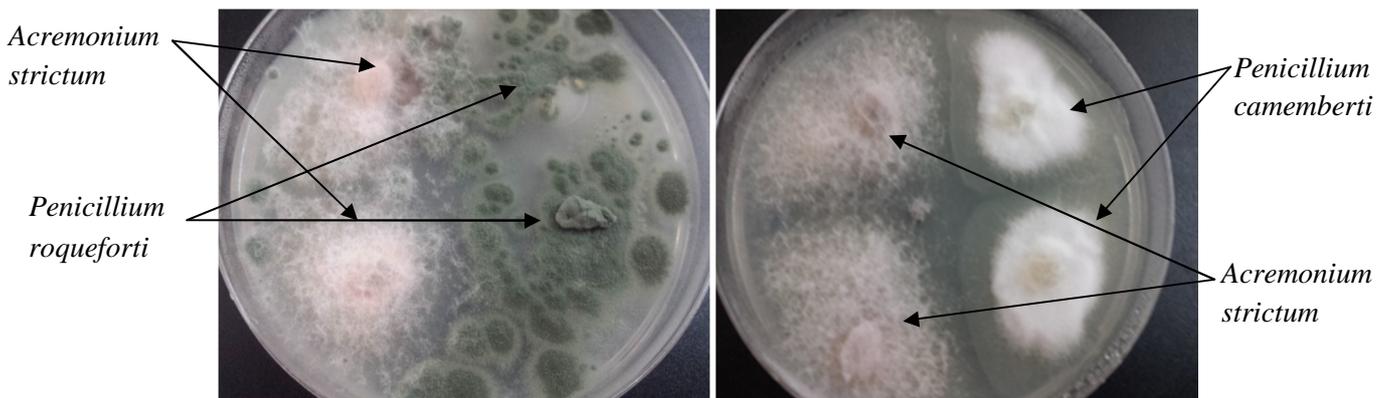


Figure 40 : Affrontement entre *Acremonium strictum* et *Penicillium roqueforti*.

Dominance mycélienne de *Penicillium roqueforti*.

Figure 41 : Affrontement entre *Acremonium strictum* et *Penicillium camemberti*

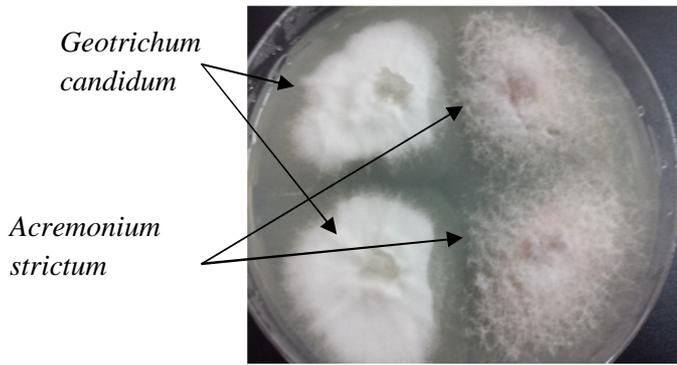


Figure 42 : Affrontement entre *Acremonium strictum* et *Geotrichum candidum*.

IV-4-3. Aspergillus ochraceus

Aspergillus ochraceus a donné une forte croissance face à *Penicillium roqueforti*. Le phytopathogène a bloqué la croissance de *Penicillium roqueforti* avec une dominance mycélienne visible sur la boîte (Figure 58).

D'un autre côté, *Geotrichum candidum* avait une bonne croissance contre ce phytopathogène : elle a stoppé sa croissance en augmentant son pouvoir de dissémination (Figure 59). Quant à *Penicillium camemberti*, elle a donné une croissance égale face à *Aspergillus ochraceus*. Aucune dominance mycélienne n'a été donc observée (Figure 60).

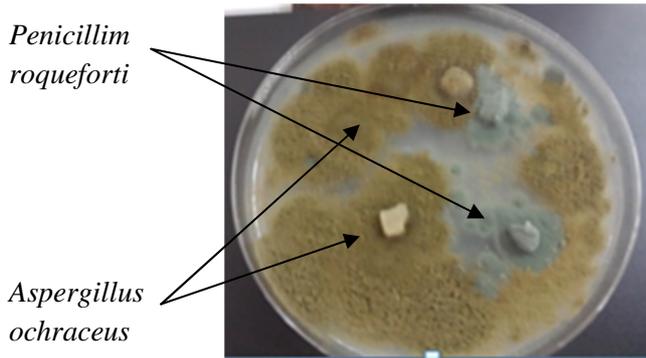


Figure 43 : Affrontement entre *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium roqueforti*.
Dominance mycélienne de *Penicillium roqueforti*.

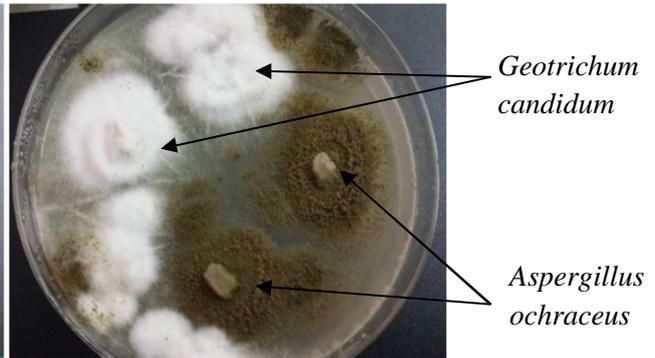


Figure 44 : Affrontement entre *Aspergillus ochraceus* et *Geotrichum candidum*.
Dominance mycélienne de *Geotrichum candidum*.

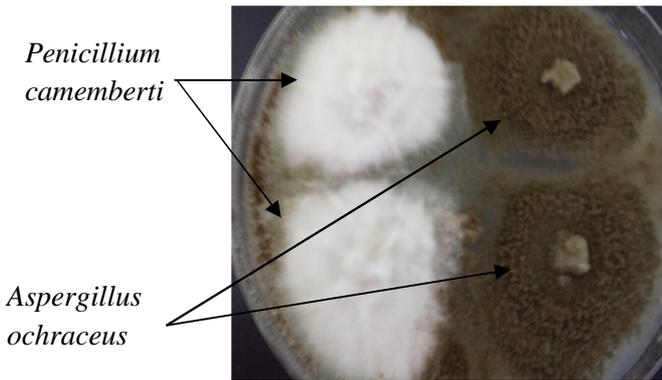


Figure 45 : Affrontement entre *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium camemberti*.

IV-4-4. *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum a donné une forte croissance face à *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum*. Nous avons remarqué qu'aucune de ces trois espèces n'a pu ralentir ou stopper sa croissance. Face à *Penicillium camemberti*, le pathogène a donné une croissance sur toute la boîte entourant ainsi le mycélium antagoniste (Figure 61). Contre *Penicillium roqueforti*, *Fusarium oxysporum* a carrément recouvert le mycélium vert en croissant par-dessus (Figures 62). *Geotrichum candidum*, par contre a complètement été inhibée par ce phyto-pathogène. Aucune croissance mycélienne n'a été observée en présence de ce dernier.

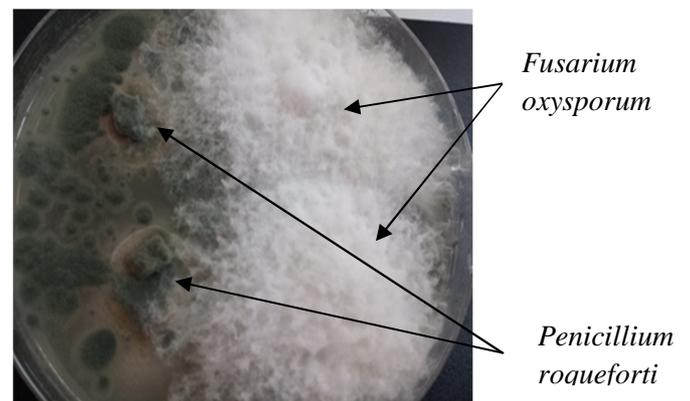
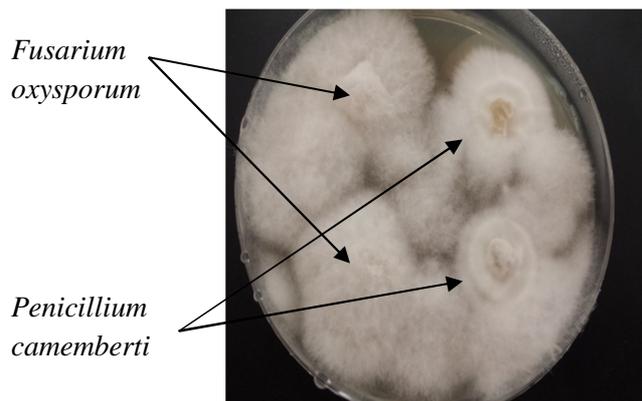


Figure 46 : Affrontement entre *Fusarium oxysporum* et *Penicillium camemberti*.

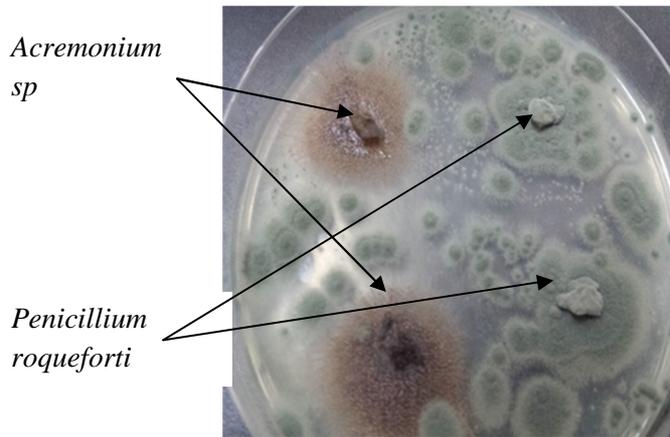
Dominance mycélienne de *Fusarium oxysporum*.

Figure 47 : Affrontement entre *Fusarium oxysporum* et *Penicillium roqueforti*.

Croissance de *Fusarium oxysporum* par-dessus *Penicillium roqueforti*.

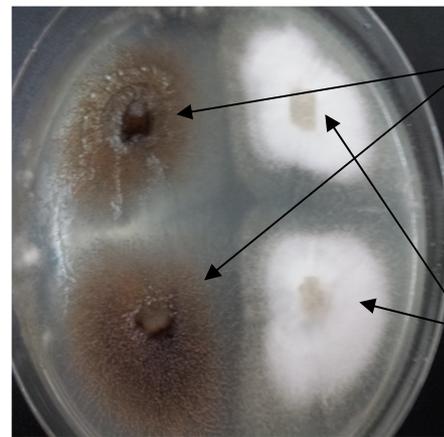
IV-4-5. *Acremonium sp.*

Cette espèce a été fortement inhibée par *Penicillium roqueforti* qui s'est propagée sur toute la boîte de Pétri (Figure 63). Par contre, *Penicillium camemberti* avait le même pouvoir de croissance qu'*Acremonium sp.* L'affrontement a donné une croissance égale des deux mycéliums sur la boîte (Figure 64). Quant à *Geotrichum candidum*, elle a été entièrement inhibée par la présence de la moisissure pathogène, aucun développement mycélien n'a été observé sur la boîte (Figure 65).



Acremonium sp

Penicillium roqueforti

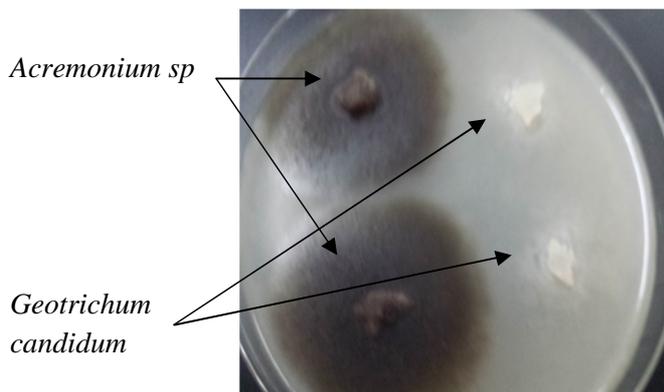


Acremonium sp

Penicillium camemberti

Figure 48 : Affrontement entre *Acremonium sp.* Et *Penicillium roqueforti*.
Dominance mycélienne de *Penicillium roqueforti*.

Figure 49 : Affrontement entre *Acremonium sp.* Et *Penicillium camemberti*.



Acremonium sp

Geotrichum candidum

Figure 50 : Affrontement entre *Acremonium sp.* Et *Geotrichum candidum*

IV-4-6. Alternaria alternata

Elle était sensible à *Penicillium roqueforti*. En effet, cette dernière avait une dominance mycélienne sur la boîte de Pétri (Figure 66). Mais face à *Penicillium camemberti*, nous avons remarqué que les deux espèces avaient la même pouvoir de croissance. Aucun mycélium n'a dominé l'autre (Figure 67). La même observation a été faite avec *Geotrichum candidum*.

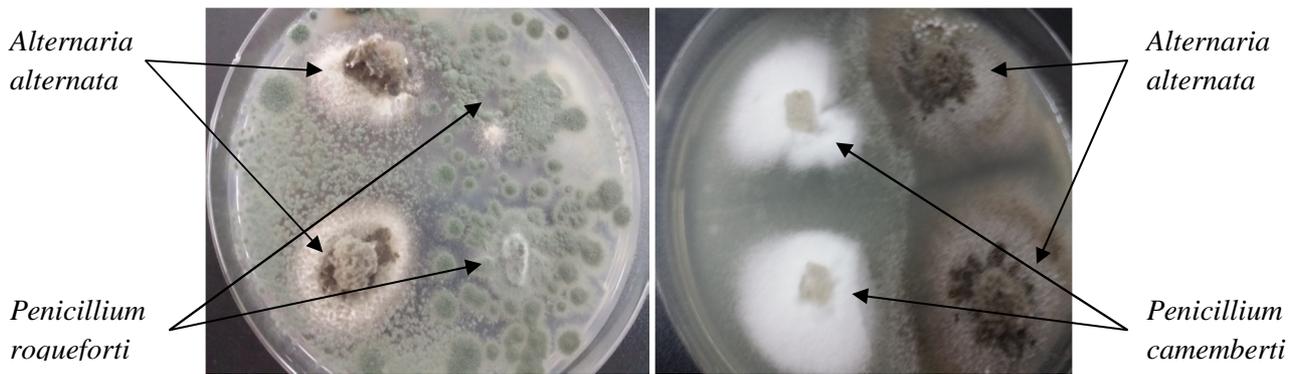


Figure 51 : Affrontement entre *Alternaria alternata* et *Penicillium roqueforti*.
 Dominance mycélienne de *Penicillium roqueforti*.

Figure 52 : Affrontement entre *Alternaria alternata* et *Penicillium camemberti*.

IV-4-7. *Drechslera dematioidea*

Face à *Penicillium roqueforti* et *Penicillium camemberti*, *Drechslera dematioidea* avait un pouvoir de croissance un peu plus important. L'affrontement a donc donné une croissance un peu supérieure pour pathogène (Figure 68 et 69).

Par contre, *Geotrichum candidum* n'a montré aucune croissance en présence de *Drechslera dematioidea*. En effet, cette dernière avait une dominance mycélienne sur toute la boîte (Figure 70).

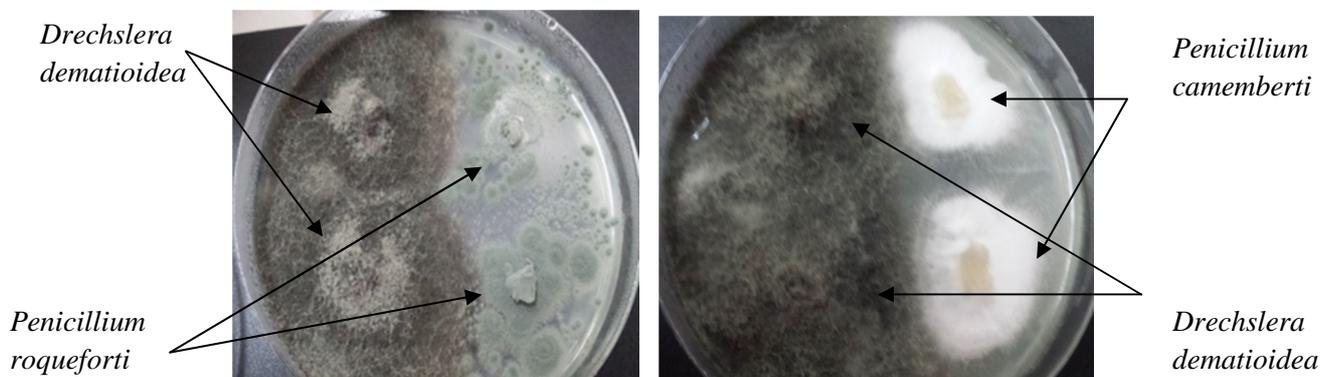


Figure 53 : Affrontement entre *Drechslera dematioidea* et *Penicillium roqueforti*.

Figure 54 : Affrontement entre *Drechslera dematioidea* et *Penicillium camemberti*.

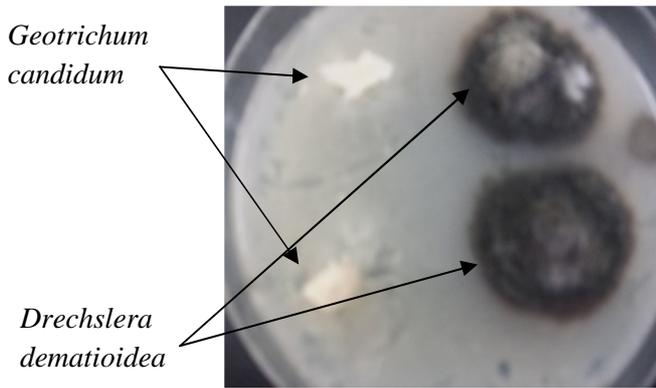


Figure 55 : Affrontement entre *Drechslera dematioidea* et *Geotrichum candidum*.

IV-4-8. *Aspergillus versicolor*

Cette espèce phyto-pathogène adonné le même pouvoir de croissance que les trois espèces antagonistes qui sont *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum*. C'est à-dire, aucune dominance mycélienne n'étée observée du côté de la moisissure du fromage.

IV-4-9. *Drechslera graminea*

Cette espèce adonné le même pouvoir de croissance que *Penicillium roqueforti*. Nous avons donc eu une croissance égale sur la boite (Figure 71). D'un autre côté, *Penicillium camemberti* avait une croissance plus faible que l'espèce phyto-pathogène. Cette dernière avait une dominance mycélienne sur la boite de Pétri (Figure 72). *Geotrichum candidum* n'a donné aucune activité contre *Drechslera graminea* qui l'a totalement inhibée (Figure 73).

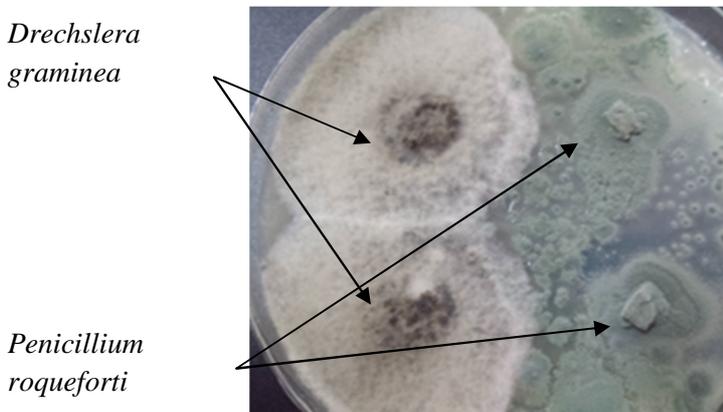


Figure 56 : Affrontement entre *Drechslera graminea* et *Penicillium roqueforti*.

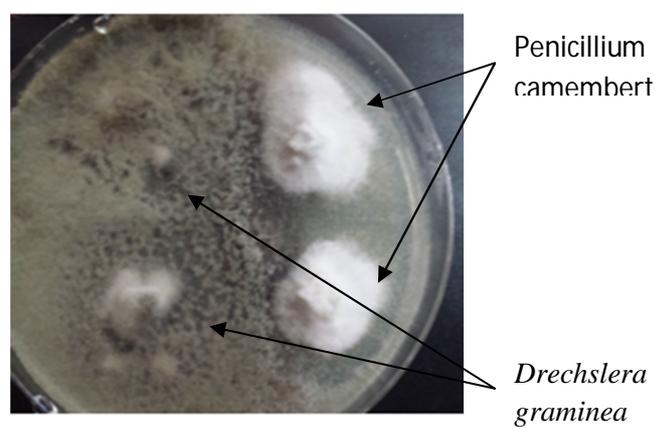


Figure 57 : Affrontement entre *Drechslera graminea* et *Penicillium camemberti*.
Dominance mycélienne de *Drechslera graminea*.

IV-4-10. *Penicillium griseum*

Elle a donné une forte croissance face à *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum*. Cette moisissure phyto-pathogène a entièrement inhibé la croissance de *Penicillium roqueforti* et *Geotrichum candidum* (Figures 74 et 75 respectivement). Mais face à *Penicillium camemberti*, l'inhibition était moins radicale (Figure 76)

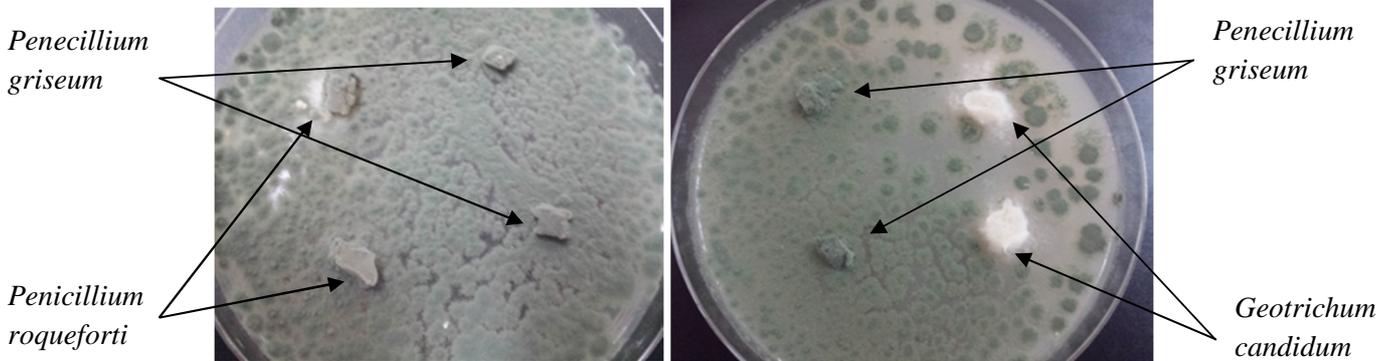


Figure 58 : Affrontement entre *Penicillium griseum* et *Penicillium roqueforti*.

Dominance mycélienne de *Penicillium griseum*.

Figure 59 : Affrontement entre *Penicillium griseum* et *Geotrichum candidum*.

Dominance mycélienne de *Penicillium griseum*.

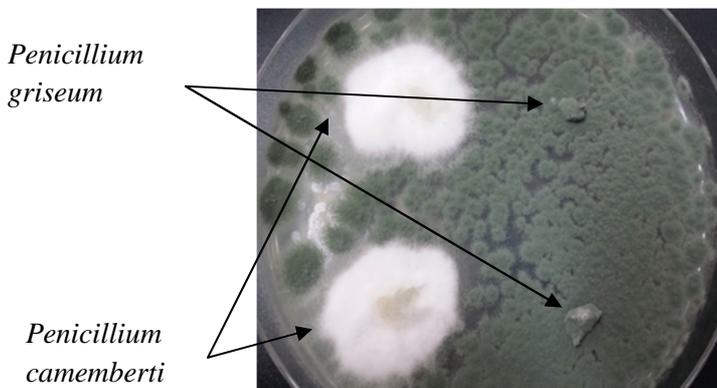
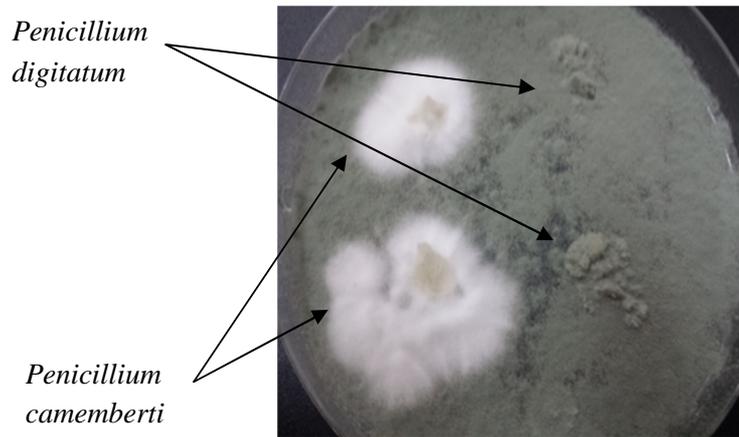


Figure 60 : Affrontement entre *Penicillium griseum* et *Penicillium camemberti*.

Dominance mycélienne de *Penicillium griseum*.

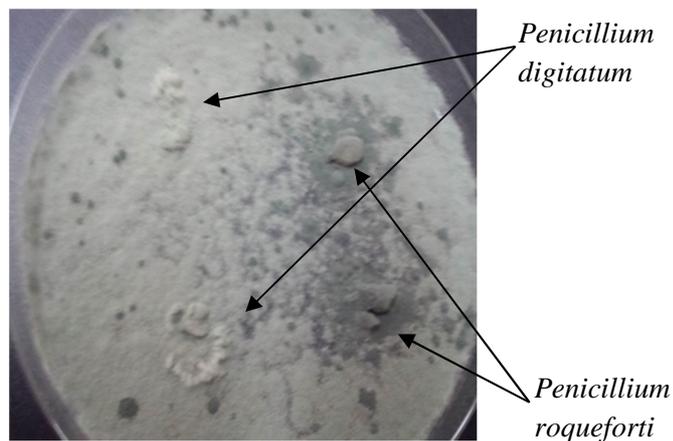
IV-4-11. *Penicillium digitatum*

La moisissure a donné une forte croissance face à *Penicillium roqueforti* et *Penicillium camemberti*. Face aux deux espèces, nous avons observé que le phyto-pathogène s'accaparait la quasi-totalité de la boîte en encerclant les moisissures du fromage (Figure 77et 78).



Penicillium digitatum

Penicillium camemberti



Penicillium digitatum

Penicillium roqueforti

Figure 61 : Affrontement entre *Penicillium digitatum* et *Penicillium camemberti*.
Dominance mycélienne de *Penicillium digitatum*.

Figure 62 : Affrontement entre *Penicillium digitatum* et *Penicillium roqueforti*.
Dominance mycélienne de *Penicillium digitatum*.

Discussion

V- Discussion

L'isolement à partir du citron a permis d'affirmer que ce fruit était infecté par *Penicillium digitatum*. Les travaux d'Olmedo *et al.*, (2017) ont affirmé que cette moisissure est un pathogène commun du citron.

De même, pour *Alternaria alternata* qui était isolée à partir de l'aubergine, nous avons trouvé que certains autres chercheurs étaient arrivés au mêmes résultats, à savoir que ce légume était couramment contaminé par *Alternaria alternata* une fois cueilli et conservé (Hassan *et al.*, 2013).

Notre étude a aussi montré que le figuier étaient infecté par *Drechslera graminea* et *Acremonium strictum*. Aucun autre travail antérieur n'a donné ces résultats. D'après les investigations précédentes, *Drechslera graminea* était principalement responsable de l'infection de l'orge et *Acremonium strictum* beaucoup plus isolée d'autres plantes comme le mil sorgho (Zida *et al.*, 2008 ; Bulqarelli *et al.*, 2010).

Fusarium oxysporum a aussi été isolée à partir des feuilles du la rose de Chine. D'autres travaux ont démontré que cette espèce était courante dans les infections végétales, principalement les tomates qui y sont particulièrement sensibles (Silva *et al.*, 2017).

La rose de chine était contaminée par *Acremonium sp.* D'après Rodriquez et ses collaborateurs (2014), cette espèce était très répandue dans les débris végétaux et le sol. De ce fait, elles engendraient beaucoup d'infections végétales.

Aspergillus versicolor a été isolé de la même plante. Certaines investigations ont démontré que cette moisissures étaient capable de produire une grande quantité de toxines, ce qui lui permettait d'infecter diverses plantes et de résister aux autres microorganismes antagonistes (Bennett et Klich, 2003 ; Piontek *et al.*, 2016).

Le rosier rose était infecté par *Aspergillus sydowii* et le rosier blanc par *Drechslera dematioidea*. Les investigations de Von (1986) indiquaient que ces phyto-pathogènes étaient couramment isolé à partir des fleurs, des herbes du gazon et du blé. En effet, ces espèces pouvaient parasiter un grand nombre de végétaux (Von, 1986 ; Soler-Hurtado *et al.*, 2016).

Pour l'affrontement entre les espèces, nous avons obtenus des résultats très diversifiés, allant d'une très bonne activité où la moisissure du fromage arrivait à stopper la croissance du pathogène, à une activité très faible où ce dernier affichait une dominance mycélienne non contestable sur la boîte de Pétri.

D'après les résultats de l'affrontement, *Alternaria alternata* était sensible à *Penicillium roqueforti* et non à *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum*. Aucun autre travail n'a été trouvé sur les moisissures que nous avons utilisées, par contre Sempere et Santamarina (2010) ont démontré que *Penicillium oxalicum* était capable d'arrêter la croissance d'*Alternaria alternata* en détruisant ses conidiophores et ses dictyospores.

Aspergillus ochraceus était sensible à *Penicillium roqueforti* et *Geotrichum candidum* et résistante à *Penicillium camemberti*. Aucun autre travail n'a été trouvé sur l'affrontement des moisissures néfastes à *Penicillium roqueforti*, *Geotrichum candidum* et *Penicillium camemberti*, mais certaines études ont démontré que l'activité de *Geotrichum candidum*

Conduſion

VI- Conclusion

L'isolement que nous avons effectué a permis de montrer que les infections des plantes pouvaient être causées par une ou plusieurs moisissures à la fois.

Les échantillons de la rose de Chine et du figuier étaient les plus riches en moisissures qui pouvant être donné plusieurs mycélium. Par contre, les échantillons du Rosier rose, du Rosier blanc, du citronnier et de l'aubergine ont donné chacun un seul mycélium sur le milieu de culture PDA.

Après l'identification des agents pathogènes qui s'est faite par examens macroscopique et microscopique, nous avons identifié neuf moisissures phyto-pathogènes: *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium digitatum*, *Alternaria alternata*, *Acremonium sp.*, *Acremonium strictum*, *Aspergillus versicolor*, *Drechslera graminea* et *Drechslera dematioidea*.

L'activité antifongique des moisissures isolées du fromage (*Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti* et *Geotrichum candidum*) sur ces pathogène a donné des résultats très différents.

Les moisissures les plus résistantes étaient *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium griseum* et *Penicillium digitatum*. En effet, ces Champignons n'ont montré aucune difficulté de croissance en présence des espèces antagonistes. Et dans certains cas, elles ont inhibé elles-mêmes les espèces isolées du fromage.

D'un autre côté, les moisissures les plus sensibles aux espèces antagonistes étaient *Alternaria alternata*, *Acremonium strictum* et *Acremonium sp.* Nos résultats ont montré que la plus grande sensibilité était vis-à-vis de *Penicillium roqueforti*.

Drechslera graminea et *Drechslera dematioidea* ont donné la même activité que les espèces antagonistes. Sur les boîtes de Pétri, aucune dominance mycélienne n'a été observé d'un côté ou d'un autre.

Tous ces points indiquaient que *Penicillium roqueforti* pouvait être utilisée pour inhiber la croissance de certains phyto-pathogènes, dans notre cas notamment contre : *Alternaria alternata*, *Acremonium strictum* et *Acremonium sp.*

Par contre, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* avaient une faible activité antifongique et ne pouvaient donc pas être recommandés pour une éventuelle utilisation comme agents de lutte biologique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

A :

- Alkan N, Fluhr R, Prusky D.** Ammonium secretion during *Colletotrichum coccodes* infection modulates salicylic and jasmonic acid pathways of ripe and unripe tomato fruit. *Mol Plant Microbe Interact* 2012, 25: 85-96.
- Allioui N, Siah A, Randoux B, Brinis L, Reignault P, Halama P.** genetic characterization of an algerian population of *mycosphaerella graminicola* with microsatellite markers. *Commun Agric Appl Biol Sci* 2015, 80: 583-587.
- Akroum S.** Isolement des moisissures du sol capables de dégrader les tannins condensés et mesure de l'activité de la tannase. *Arch Sci* 2012, 65: 28-33.

B :

- Babadoost M.** Powdery mildew of tomato. Report on plant disease. Univof Il linois 2014, page : 2.
- Baidoo R, Joseph S, Mengistu TM, Brito JA, Mcorley R, Stamps RH, Crow WT.** Mitochondrial Haplotype-based Identification of Root-knot Nematodes *Meloidogyne spp.* On Cut Foliage Crops in Florida. *J Nematol* 2016, 48: 193-202.
- Banani H, Spadaro D, Zhang D, Matic S, Garibaldi A, Gullino ML.** Biocontrol activity of an alkaline serine protease from *Aureobasidium pullulans* expressed in *Pichia pastoris* against four postharvest pathogens on apple. *Int J Food Microbiol* 2014, 182: 1-8.
- Barad S, Sela N, Kumar D, Kumar-Dubey A, Glam-Matana N, Sherman A, prusky D.** Fungal and host transcriptomeanalysis of ph regulatedgenesduringcolonization of apple fruits by *Penicillium expansum*. *BMC Genomics* 2016, 17: page: 330.
- Bastiaanse H, Muhovski Y, Parisi O, Paris R, Mingeot D, Lateur M.** Gene expression profiling by cdna AFLP reveals potential candidate genes for partial resistance of Président Roulin against *Venturia inaequalis*. *BMC Genomics* 2014, 15: page: 1043.
- Benelli G, Buttazzoni L, Canale A, D'Andrea A, Del Serrone P, Delrio G, Foxi C, Mariani S, Savini G, Vadivalagan C, Murugan K, Toniolo C, Nicoletti M, Serafini M.** Bluetongue outbreaks: Looking for effective control strategies against Culicoides vectors. *Res Vet Sci* 2017, 115: 263-270.
- Bennett JW, Klich M.** Mycotoxins. *Clin Microbiol Rev* 2003, 16: 497-516.
- Blandino M, Scarpino V, Vanara F, Sulyok M, Krska R, Reyneri A.** Role of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* on contamination of maize with 13 *Fusarium* mycotoxins. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* 2015, 32: 533-543.

Bouchet P, Guignard JL, Pouchus YF. Les champignons: Mycologie fondamentale et appliquée. Editions Masson 2005, Pages : 3-70.

Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy Ph, Larpent JP, Reymond P, Sanglier

JJ, Vayssier Y, Veau P. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2^e Edition Masson 1990, Pages : 16-400.

Brunetto G, Bastos de Melo GW, Terzano R, Del Buono D, Astolfi S, Tomasi N, Pii Y, Mimmo T, Cesco S. Copper accumulation in vineyard soils: Rhizosphere processes and agronomic practices to limit its toxicity. *Chemosphere* 2016, 162: 293-307.

Bulgarelli D, Biselli C, Collins NC, Consonni G, Stanca AM, SchulzeLefert P, Valè G. The CCNBLRRtype Rdg2a resistance gene confers immunity to the seed borne barley leafstripe pathogen in the absence of hyper sensitive cell death 2010, 5. pii: E12599.

C:

Calvo H, Marco P, Blanco D, Oria R, venturinime. Potential of a new strain of *Bacillus amyloliquefaciens* BUZ-14 as a biocontrol agent of postharvest fruit diseases. *Food Microbiol* 2017, 63: 101.

Chaudhary S, Kanwar RK, Sehgal A, Cahill DM, Barrow CJ, Sehgal R, Kanwar JR. Progress on Azadirachta indica Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Front Plant Sci* 2017, 8: page: 610.

Chun SC, Schneider RW. Sites of infection by *pythium species* in rice seedlings and effects of plant age and water depth on disease development. *Phytopath* 1998, 88: 1255-1261.

Ciliberti N, Fermaud M, Roudet J, Rossi V. Environmental Conditions Affect *Botrytis cinerea* Infection of Mature Grape Berries More Than the Strain or Transposon Genotype. *Phytopath* 2015, 105: 1090-1096.

Cíсарová M, Tančinová D, Barboráková Z, Mašková Z, Felšöciová S, Kučerková V. Potential production of cyclopiazonic acid by *Penicillium camemberti* strains isolated from camembert type cheese. *Journal Microbio Biotechno Food Sci* 2012, 2: 434-445.

Clarkson JP, Fawcett L, Anthony SG, Young C. A model for *Sclerotinia sclerotiorum* infection and disease development in lettuce, based on the effects of temperature, relative humidity and ascospore density. *Plos One* 2014, 9: E94049.

Clarkson JP, Warmington RJ, Walley PG, Denton-Giles M, Barbetti MJ, Brodal G, Nordskog B. Population Structure of *Sclerotinia subarctica* and *Sclerotinia sclerotiorum* in Engl and, Scotland and Norway. *Front Microbiol* 2017, 8: 490.

Corbel V, Fonseca DM, Weetman D, Pinto J, Achee NL, Chandre F, Coulibaly MB, Dusfour I, Grieco J, Juntarajumnong W, Lenhart A, Martins AJ, Moyes C, Ng LC, Raghavendra K, Vatandoost H, Vontas J, Muller P, Kasai S, Fouque F, Velayudhan R, Durot C, David JP. International workshop on insecticide resistance in vectors of arboviruses, Rio de Janeiro, Brazil. *Parasit Vectors* 2017,10: 278.

D:

De Cal A, Melgarejo P. Repeated applications of *Penicillium oxalicum* prolongs biocontrol of *Fusarium* wilt of tomato plants. *Eur. Journal Plant Pathology* 2001, 107: page 805811.

Dieuleveux V, Lemarinier S, and Guéguen M. Antimicrobials pectrum and target Site of d-3-phenyllactic acid. *Int J Food Microbiol* 1998, 40 : 177-183.

E:

Ebrahimi L, Fotuhifar KB, Javan Nikkhah M, Naghavi MR, Baisakh N. Population Genetic Structure of Apple Scab *Venturia inaequalis* Cooke G. Winter in Iran. *Plos One* 2016, 11: E0160737.

Eslaminejad Parizi T, Ansaria M, Elaminejad T. Evaluation of the potential of *Trichoderma viride* in the control of fungal pathogens of Roselle *Hibiscus sabdariffa* L. *In vitro. Microb Pathog* 2012, 52: 201-205.

F:

Frei P. *Phoma* der Sonnenblume: Kannnach Temperatur schwellen behandelt werden *Agrar forschung Schweiz* 2010, 1: 346-349.

Foley RC, Kidd BN, Hane JK, Anderson JP, Singh KB. Reactive oxygen species play a Role in the Infection of the *necrotrophic fungi, Rhizoctoniasolani* in Wheat. *Plos One* 2016, 11: E0152548.

G:

Gadoury DM, Stensvand A, Seem RC. Influence of Light, Relative Humidity, and Maturity of Populations on Discharge of Ascospores of *Venturia inaequalis*. *Phytopatho* 1998, 88: 902-909.

Galanina LA, Konova IV. Effect of exogenous sterols on the growth and fatty acid composition of the oomycete *Pythium debaryanum*. *Mikrobiol* 2000, 69: 636-641.

Gao YR, Han YT, Zhao FL, Li YJ, Cheng Y, Ding Q, Wang YJ, Wen YQ. Identification and utilization of a new *Erysiphe necator* isolate NAFU1 to quickly evaluate powdery mildew resistance in wild Chinese grapevine species using detached leaves. *Plant Physiol Biochem* 2016, 98: 12-24.

Gessler C, Patocchi A, Sansavini S, Tartarini S, Gianfranceschi L. *Venturia inaequalis* resistance in apple. *CRC Critical Reviews in Plant Sci* 2006: 473-503.

Guentzel JL, Lam KL, Callan MA, Emmons SA, Dunham VL. Post harvest management of gray mold and brown rot on surface of peaches and grapes using electrolyzed oxidizing water. *Int J Food Microbiol* 2010, 143: 54-60.

Guilger M, Pasquoto-Stigliani T, Bilesky-Jose N, Grillo R, Abhilash PC, Fraceto LF, Lima R. Biogenic silver nanoparticles based on *Trichoderma harzianum*. synthesis, characterization, toxicity evaluation and biological activity. *Sci Rep* 2017, 7: page: 44421.

H:

Hansen MA. Early Blight of Tomatoes Virginia Polytechnic Institute and State University 2009: 450-708.

Haselwandter K, Häninger G, Ganzera M, Haas H, Nicholson G, Winkelmann G. Linear fusigen as the major hydroxamate siderophore of the ectomycorrhizal Basidiomycota *Laccaria laccata* and *Laccaria bicolor*. *Biometals* 2013, 26: 969-979.

Hassan NM, AbuDoubara MI, Waly MA, Nemat Alla MM. Efficacy of a pyrimidine derivative to control spot disease on *Solanum melongena* caused by *Alternaria alternata* 2013, 4: 393401.

HersHKovitz V, Sela N, Taha-Salaime L, Liu J, Rafael G, Kessler C, Aly R, Levy M, Wisniewski M, Droby S. De-novo assembly and characterization of the transcriptome of *Metschnikowia fructicola* reveals differences in gene expression following interaction with *Penicillium digitatum* and grape fruit peel *BMC Genomics* 2013, 14: page: 168.

Horner NR, Grenville-Briggs LJ, Van West P. The oomycete *Pythium oligandrum* expresses putative effectors during mycoparasitism of *Phytophthora infestans* and is amenable to transformation. *Fungal Biol* 2012, 116: 24-41.

I:

Inserm Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale Pesticides : Effets sur la santé. Editions Institut Thématiques, Paris 2013, Pages : 1-4.

J:

Jing HC, Lovell D, Gutteridge R, Jenk D, Korniyukhin D, Mitrofanova OP, Kema GH, Hammond-Kosack KE. Phenotypic and genetic analysis of the *Triticum monococcum*-*Mycosphaerella graminicola* interaction. *New Phytol* 2008, 179: 1121-1132.

Judelson HS, Shrivastava J, Manson J. Decay of genes encoding the oomycete flagellar proteome in the downy mildew *Hyaloperonospora arabidopsidis*. *Plos One* 2012, 7: E47624.

K:

Kirk WW. Tolerance of Mycelium of Different Genotypes of *Phytophthora infestans* to Freezing Temperatures for Extended Periods. *Phytopathol* 2003, 93: 1400-1406.

Kooliyottil R, Dandurand LM, Knudsen GR. Prospecting fungal parasites of the potato cyst nematode *Globodera pallida* using a rapid screening technique. *J Basic Microbiol* 2017, 57: 386-392.

Kurtzman CP, Droby S. *Metschnikowia fructicola*, a new ascosporic yeast with potential for biocontrol of postharvest fruit rots. *Syst Appl Microbiol* 2001, 24: 395-399.

L:

Lahlali R, Serrhini MN, Jijakli MH. Development of a biological control method against *postharvest diseases* of citrus fruits. *Commun Agric Appl Biol Sci* 2005, 70: 47-58.

Lee JH, Kwon YH, Kwack YB, Kwak YS. Report of *postharvest rot* of kiwifruit in Korea caused by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Int J Food Microbiol* 2015, 206: 81-83.

Li YJ, Kong WJ, Hu YC, Zhao LH, Yang SH, Yang MH. Application prospect and expectation of fungistatic agents of plants in preservation of Chinese herbal medicines. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 2015, 40: 3729-3736.

Lisa Vallone, Alberto Giardini, Gabriella Soncini. Secondary Metabolites from *Penicillium roqueforti*, A Starter for the Production of Gorgonzola Cheese 2014, 3(3): page: 2118.

López-Pérez M, Ballester AR, González-Candelas L. Identification and functional analysis of *Penicillium digitatum* genes putatively involved in virulence towards citrus fruit. *Mol Plant Pathol* 2015, 16: 262-275.

M:

Manfrino RG, Gutierrez AC, Rueda Páramo ME, Salto CE, López Lastra CC. Prevalence of *entomophthoralean* Fungi Entomophthoromycota of aphids in relation to development all stages. *Pesticides Manag Sci* 2016, 72: 1566-1571.

Mendoza JL, Pérez MI, Prieto JM, Velásquez JD, Olivares JG, Langarica HR. Antibiosis of *Trichoderma spp* strains native to northeastern Mexico against the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina*. *Braz J Microbiol* 2015, 46: 1093-1101.

O:

Oliver JP, Castro A, Gaggero C, Cascón T, Schmelz EA, Castresana C, Ponce de León I. *Pythium* infection activates conserved plant defense responses in mosses *Planta* 2009, 230: 569-579.

Olmedo GM, Cerioni L, González MM, Cabrerizo FM, Rapisarda VA, Volentini SI. Citrus limon : Antifungal activity of β carboline on *Penicillium digitatum* and *Botrytis cinerea* 2017, 62: 914.

Oka Y. Nematicidal activity of fluensulfone against some migratory nematodes under laboratory conditions. Pest Manag Sci 2014, 70: 1850-1858.

P:

Palou L, Smilanick , JL, Droby , S. Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and bluemoulds. Stewart Postharvest Review 2008, 4: 1-16.

Pandit R, Patel R, Patel N, Bhatt V, Joshi C, Singh PK, Kunjadia A. RNA-Seq reveals the molecular mechanism of trapping and killing of root-knot nematodes by nematode-trapping fungi. World J Microbiol Biotechnol 2017, 33: page: 65.

Pedras MS, Park MR. The biosynthesis of *brassicicolin A* in the phytopathogen *Alternariabrassicicola*. Phytochem 2016, 132: page: 26.

Peisley RK, Saunders ME, Luck GW. Cost-benefit trade-offs of bird activity in apple orchards. Peerj 2016, 4: E2179.

Pelosi C, Barot S, Capowiez Y, Hedde M, Vandenbulcke F. Pesticides and *earthworms*. A review. Agron Sustain Dev 2014, 34: 199-228.

Picard K, Tirill Y, Benhamou N. Cytological effects of cellulases in the parasitism of *Phytophthora parasitica* by *Pythium oligandrum*. Appl Environ Microbiol 2000, 66: 4305-4314.

Piontek M, Luszczynsha K, Lechow H. Occurrence of the toxin producing *Aspergillus versicolor* Tiraboschi in residential buildings. International Journal of Environment Research and Public Health 2016, 13: pii: E862.

Pitt JI, Hocking AD, Bhudhasamai K, Miscamble BF, Wheeler KA, Tanboon-Ek P. The normal mycoflora of commodities from Thailand. 2. Beans, rice, smallgrains and other commodities. Int J Food Microbiol 1994, 23: 35-43.

Plaza P, Usall J, Smilanick JL, Lamarca N, Viñas I. Combining *Pantoea agglomerans* (CPA-2) and curing treatments to control established infections of *Penicillium digitatum* on lemons. J Food Pro 2004, 67: 781-786.

Plaza P, Usall J, Teixidó N, Viñas I. Effect of water activity and temperature on germination and growth of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* and *Geotrichum candidum*. J. Appl. Microbiol 2003, 94 : 549-554.

Prendes LP, Zchetti VG, Pereyra A, Morata de Ambrosini VI, Ramirez ML. J appl microbiol 2017, 122: 481-492.

Puel O, Galtier P, Oswald IP. Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins* (Basel) 2010, 2: 613-631.

R:

Rahnamaeian M. Antimicrobial peptides modes of mechanism, modulation of defense responses. *Plant Signal Behav* 2011, 6: 1325-1332.

Rezki S, Campion C, Iacomi-Vasilescu B, Preveaux A, Toualbia Y, Bonneau S, Briand M, Laurent E, Hunault G, Simoneau P, Jacques MA, Barret M. Peerj differences in stability of seed-associated microbial assemblages in response to invasion by phytopatho microorg 2016, 4: E1923.

Rodríguez ZC, Ramos MG. *Acremonium species* associated fungemia: a novel pathogen in the immunosuppressed patient. *Bol Asociated Med PR* 2014, 106: 2931.

Ros M, Raut I, Santísima-Trinidad AB, Pascual JA. Relationship of microbial communities and suppressiveness of *Trichoderma fortified* composts for pepper seedlings infected by *Phytophthora nicotianae*. *Plos One* 2017, 12: E0174069.

Rubin E, Baider A, Cohen Y. *Phytophthora infestans* Produces Oospores in Fruits and Seeds of Tomato. *Phytopatho* 2001, 91: 1074-1080.

Rupp S, Plesken C, Rumsey S, Dowling M, Schnabel G, Weber RWS, Hahn M. *Botrytis fragariae*, a New Species Causing Gray Mold on Strawberries, Shows High Frequencies of Specific and Efflux-Based Fungicide Resistance. *Appl Environ Microbiol* 2017, 83: Pii: E00269-17.

S:

Salman A, Shufan E, Lapidot I, Tsrer L, Moreh R, Mordechai S, Huleihel M. Assignment of *Colletotrichum coccodes* isolates into vegetative compatibility groups using infrared spectroscopy: a step towards practical application. *Analyst* 2015, 140: 3098-3106.

Scott PM. Analysis of agricultural commodities and foods for *Alternaria mycotoxins*. *J AOAC Int* 2001, 84: 1809-1817.

Sempere F, Santamarina MP. Study of the interactions between *Penicillium oxalicum* Currie et Thom and *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. *Brazi J Microbiol* 2010, 41: 700-706.

Siah A, Tisserant B, El Chartouni L, Duyme F, Deweer C, Roisin-Fichter C, Sanssené J, Durand R, Reignault P, Halama P. Mating type idiomorphs from a French population of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* widespread equal distribution and low but distinct levels of molecular polymorphism. *Fungal Biol* 2010, 114: 980-990.

Sigsgaard L, Herz A, Korsgaard M, Wührer B. Mass release of *Trichogramma evanescens* and *Trichogramma cacoeciae* can reduce damage by the apple codling moth *Cydia*

pomonella in organic orchards under pheromone disruption. *Insects* 2017, 8: Pii: E41.

Silva TD, Almeida CMA, Malafaia CB1, Oliveira LMS, Silva MV, Correia MTS.

Analysis of protein profile of tomato root infected with *Fusarium oxysporum f. splycopersici* 2017, 16: 4238.

Singh UB, Sahu A, Sahu N, Singh RK, Renu S, Singh DP, Manna MC, Sarma BK, Singh HB, Singh KP. *Arthrobotrys oligospora*-mediated biological control of diseases of tomato *Lycopersicon esculentum* Mill. Caused by *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani*. *J Appl Microbiol* 2013, 114: 196-208.

Skrzypczak C. *Pythium oligandrum* in the control of *Fusarium rot* on some bulbous plants. *Meded Rijksuniv Gent Fak Land bouwkd Toegep Biol Wet* 2001, 66: 179-182.

Soler-Hurtado MM, Sandoval-Sierra JV, Machordom A, Dieguez-Uribeondo J. *Aspergillus sydowii* and Other Potential Fungal Pathogens in *Gorgonian Octocorals* of the Ecuadorian Pacific. *Plos One* 2016, 11: E0165992.

Somai-Jemmali L, Randoux B, Siah A, Ors M, Halama P, Reignault P, Hamada W. Efficacy and modes of action of resistance inducers on two wheat species against *mycosphaerella graminicola*. *Commun Agric Appl Biol Sci* 2014, 79: 397-402.

Spera G, La Torre A, Gianferro M, Bugliosi R. Rationalization of pesticide treatments against powdery mildew of grape. *Commun Agric Appl Biol Sci* 2007, 72: 315-319.

Stear MJ, Doligalska M, Donskow-Schmelter K. Alternatives to anthelmintics for the control of nematodes in livestock. *Parasito* 2007, 134: 139-151.

Sui Y, Liu J, Wisniewski M, Droby S, Norelli J, Hershkovitz V. Pretreatment of the yeast antagonist, *Candida oleophila*, with glycine betaine increases oxidative stress tolerance in the microenvironment of apple wounds. *Int J Food Microbiol* 2012, 157: 45-51.

Sun K, Wolters AM, Loonen AE, Huibers RP, Vander vlugt R, Goverse A, Jacobsen E, Visser RG, Bai Y. Down regulation of Arabidopsis DND1 orthologs in potato and tomato leads to broad-spectrum resistance to late blight and powdery mildew. *Transgenic Res* 2016, 25: 123-138.

T:

Takahara H, Endl E, O'Connell R. Isolation of fungal infection structures from plant tissue by flow cytometry for cell-specific transcriptome analysis. *Methods Mol Biol* 2011, 729: 3-13.

Tannous J, El Khoury R, Snini SP, Lippi Y, El Khoury A, Atoui A, Lteif R, Oswald IP, Puel O . Sequencing, physical organization and kinetic expression of the patulin

biosynthetic gene cluster from *Penicillium expansum*. Int J Food Microbiol 2014, 189: 51-60.

Toth Z, Winterhagen P, Kalapos B, Su Y, Kovacs L, Kiss E. Expression of a Grapevine NAC Transcription Factor Gene Is Induced in Response to Powdery Mildew Colonization in Salicylic Acid-Independent Manner. Sci Rep 2016, 6: 30825.

Tsai HC1, Chung KR2. Calcineurin phosphatase and phospholipase C are required for developmental and pathological functions in the citrus fungal pathogen *Alternaria alternata*. Microbiol 2014, 160: 1453-1465.

Tzortzakis NG. Ethanol, vinegar and Origanum vulgare oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. Int J Food Microbiol 2010, 142: 14-18.

V:

Viret O, Bloesch B, Dubuis PH, Gindro k. epidemiologie de *botrytis cinerea* et stratégies de lutte. Revue suisse viticulture, arboriculture, horticulture 2010, 42: 162-167.

Von Broembsen SL. Blight of pincushions *Leucospermum spp* caused by *Drechslera dematioidea*, Plant disease 1986, 70: 3336.

Vos CM, De Cremer K, Cammue BP, De Coninck B. The toolbox of *Trichoderma spp*. In the biocontrol of *Botrytis cinerea* disease. Mol Plant Pathol 2015, 16: 400-412.

W:

Wachowska U, Tańska M, Konopka I. Variations in grain lipophilic phytochemicals, proteins and resistance to *Fusarium spp*. Growth during grain storage as affected by biological plant protection with *Aureobasidium pullulans* de Bary. Int J Food Microbiol 2016, 227: 34-40.

Wang H, Lin J, Chang Y, Jiang CZ. (a) Comparative transcriptomic analysis reveals That Ethylene H₂O₂-Mediated hypersensitive response and Programmed celldeath determine the Compatible Interaction of Sand Pear and *Alternaria alternata*. Front Plant Sci 2017, 8: page: 195.

Wang H, Ren Y, Zhou J, Du J, Hou J, Jiang R, Wang H, Tian Z, Xie C. (b) The Cell Death Triggered by the Nuclear Localized rxlr Effector PITG22798 from *Phytophthora infestans* Is Suppressed by the Effector AVR3b. Int J Mol Sci 2017, 18: Pii: E409.

Wang J, Wang J, Liu F, Pan C. Enhancing the virulence of *Paecilomyces lilacinus* against *Meloidogyne incognita* eggs by over expression of a serine protease. Biotechnol Lett 2010, 32: 1159-1166.

Weng K, Li ZQ, Liu RQ, Wang L, Wang YJ, Xu Y. Transcriptome of *Erysiphe necator* infected *Vitis pseudoreticulata* leaves provides insight into grapevine resistance to powdery mildew. Hortic Res 2014, 1: page: 14049.

Wei W, Zhu W, Cheng J, Xie J, Li B, Jiang D, Li G, Yi X, Fu Y. Cmpex6, a gene involved in *peroxisome biogenesis*, is essential for parasitism and conidiation by the sclerotial parasite *Coniothyrium minitans*. *Appl Environ Microbiol* 2013, 79: 3658-3666.

Wu Q, Zhang L, Xia H, Yu C, Dou K, Li Y, Chen J. Omics for understanding synergistic action of *validamycin A* and *Trichoderma asperellum* GDFS1009 against *maize sheath* blight pathogen. *Sci Rep* 2017, 7: page: 40140.

Y:

Yang J, Li B, Liu SW, Biswas MK, Liu S, Wei YR, Zuo CW, Deng GM, Kuang RB, Hu CH, Yi GJ, Li CY. Fermentation of Foc TR4-infected bananas and *Trichoderma spp.* *Genet Mol Res* 2016, 15: page: 4238.

Z:

Zida PE, Sérémé P, Leth V, Sankara P, Somda I, Néya A. Importance of seed-borne fungi of sorghum and pearl millet in Burkina Faso and their control using plant extracts. *Pak J Biol Sci* 2008, 11: 321-331.

Titre : Caractérisation de quelques moisissures phyto-pathogènes et recherche des champignons antagonistes.

Résumé

Les maladies infectieuses des plantes peuvent être causées par plusieurs champignons. De plus, ces derniers sont devenus de plus en plus résistants aux pesticides et aux moyens de lutte traditionnels. Dans ce travail, nous avons isolé et identifié les moisissures pathogènes de quelques plantes, puis nous les avons soumises à un test d'affrontement contre des espèces connues pour être non pathogènes pour les plantes et consommables par l'homme ; à savoir *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* isolées à partir du roquefort et du camembert.

Les résultats ont montré que les espèces isolées étaient *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium digitatum*, *Alternaria alternata*, *Acremonium strictum*, *Acremonium sp.*, *Aspergillus versicolor*, *Drechslera graminea* et *Drechslera dematioidea*. *Penicillium roqueforti* avait une bonne action inhibitrice contre quelques moisissures phyto-pathogènes. Par contre, *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* avaient une activité beaucoup plus faible.

La conclusion de ce travail était que *Penicillium roqueforti* pouvait être envisagée pour une éventuelle utilisation comme agent de lutte biologique contre certaines moisissures phyto-pathogènes, notamment *Alternaria alternata*, *Acremonium strictum* et *Acremonium sp.*

Mots clés : Plantes, moisissures, phyto-pathogènes, isolement, identification, antagonisme, affrontement entre espèces.

Abstract

Plants infectious diseases can be caused by several kinds of fungi. Also the last become very resistant to pesticides and traditional means of control. In this work, we isolated and identified the pathogenic molds of some plants; then we confronted them to species known to be non-pathogenic for plants and consumable by humans: *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum*. These molds were isolated from Roquefort and Camembert cheeses.

The results showed that the species isolated from plants were *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus sydowii*, *Penicillium digitatum*, *Alternaria alternata*, *Acremonium strictum*, *Acremonium sp.*, *Aspergillus versicolor*, *Drechslera graminea* and *Drechslera dematioidea*. *Penicillium roqueforti* had a good inhibitory action against some phyto-pathogenic fungi. But *Penicillium camemberti* and *Geotrichum candidum* had much lower activities. The conclusion of this work was that *Penicillium roqueforti* could be considered for a possible use as biological control agent against certain phyto-pathogenic molds, particularly against *Alternaria alternata*, *Acremonium strictum* and *Acremonium sp.*

Keywords: Plants, molds, phyto-pathogens, isolation, identification, antagonism, confrontation between species.

المخلص

الأمراض التي تصيب النباتات يمكن أن يكون سببها العديد من الفطريات وأصبحت هذه الأخيرة مقاومة جدا للمبيدات و طرق مكافحة التقليدية. في هذا العمل قمنا بعزل و تعريف الفطريات الممرضة لبعض النباتات بعد ذلك أخضعت لاختبار المواجهة ضد بعض الأنواع المعروف عنها غير ممرضة للنبات و مستهلكة من قبل البشر و هي البيينيسيليوم كامومبيرتي البيينيسيليوم الروكفورتى و الجيوثيريكوم كونديدوم التي تم عزلها من الروكفور و الكامومبير.

أظهرت النتائج أن الأنواع المعزولة كانت اسبارجيلوس سيدوي البيينيسيليوم ديجيثاوم الثر ناريا الثارناتا اكريمونيوم اسبي. اكريمونيوم سثريكتوم اسبارجيلوس فارسيكولور دريشليرا غرامينيا دريشليرا ديماتويدا الفوزاريوم اوكسيسبوريم.

البيينيسيليوم الروكفورتى أعطي عمل مثبط جيد ضد بعض الفطريات الممرضة للنبات علي عكس هي البيينيسيليوم كامومبيرتي و الجيوثيريكوم كونديدوم. في خلاصة هذا العمل يمكن اعتبار البيينيسيليوم الروكفورتى كعامل للمكافحة البيولوجية ضد بعض الفطريات الممرضة للنبات خاصة الثر ناريا الثارناتا اكريمونيوم سثريكتوم اكريمونيوم اسبي.

الكلمات المفتاحية : النباتات والفطريات- أمراض النبات - العزل- التعرف- نشاط المواجهة بين الأنواع الأعداء.