

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et
De la Recherche Scientifique

M/ p.G.A. 02/12

Université de Jijel

جامعة جيجل

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie كلية العلوم الدقيقة وعلوم الطبيعة و الحياة
Département de biologie animale et végétale قسم البيولوجيا الحيوانية و النباتية



01
01

Mémoire de fin d'études

*En vue de l'obtention du diplôme Master en phytopharmacie et gestion
des agrosystèmes*

Thème :

*L'étude comparative entre l'effet inhibiteur des
agents de lutte biologique et un fongicide sur la
croissance mycélienne de quelques champignons*

Membres de jury :

- ☆ *Président : Mr. ROUIBAH M.*
- ☆ *Examineur: Mr. AZIL A.*
- ☆ *Encadreur : Mme. BOUZIANE Z.*



Présenté par :

ALLALI Fatiha.
KOUIRA Madina.

Numéro d'ordre : ---

Session : juin 2012



L'année Universitaire : 2011/2012.

Remerciements

Avant tout, nous remercions le bon Dieu tout puissant qui nous a donné la force

Et le foie de nous avoir permis d'arriver à ce stade là. Comme nous tenons à remercier Toute personne ayant participé à l'élaboration de ce présent mémoire.

Notre première pensée va tout naturellement à notre encadreur Mme BOUZIANE Zahira qui suit fidèlement notre travail. Nous tenons à le remercier pour l'encadrement et le soutien.

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce modeste travail à savoir le Mr ROUIBAH M et Mr AZIL A.

Nous tenons particulièrement à remercier tous les membres de laboratoire de biologie Plus particulièrement ZIAD et ASMA.

Très nombreux les gens qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce travail. Tout en nous excusant auprès de ceux de ne pas les citer, nous leur exprimons notre vive reconnaissance.

Fatiha et Madina

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes chers parents MASSOUDA et ABDLALI

ربي يحفظهم و يخليهم ديما تاج فوق راسي و يقدرني على إرضائهما

A mes belles sœurs : Souha, Alima, Mouna et Karima.

A mes adorables frères: Sifou, Boubakeur, Hamza et son fiancée Miyada,

A ma grande mère : Zinab, mes cousins et mes cousines.

Mes amies et amis de primaires jusqu'à aujourd'hui : Chafia, Lamia,

Sara, Firouz, Rokia1, et Rokia2, Malika bzf, Samia, Itab, Miry

Mahbouba, Dounia, Chadia, Fateh, Said, Idriss, Bilal.....

A mes collègues de la phytopharmacie promotion 2012

Chacun à son nom ...

A mon ami proche ' Mohamed Challi ' pour le soutien

et la patience, merci beaucoup.

Sans oublier ma chère binôme Madina.

A tous ceux que j'aime.

Fatiha

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*À mon père, qui grâce à son soutien j'ai pu arriver à
réaliser ce succès ;*

*À la bougie qui a éclairé mon chemin de puis ma
naissance, à celle dont j'ai prononcé le premier mot,
source de ma vie ma mère.*

*À mon frère Ilyass, Ridha et mes sœurs Nahla, Aicha,
Radia, Sabrina et son marie Nadjib, à ma grande
mère les très chers Pour moi.*

*À toute l'équipe Ammi, Fateh, Samir, Saïd, Soufiane,
Idriss, Marwen, Bilal et Bilal, Miry, Mahbouba.*

*À mes collègues de l'option de phytopharmacie et
gestion des agrosystèmes promotion 2012,*

*À mon ami proche Abd-razek pour le soutien et la
patience*

*Sans oublier ma chère binôme Fatiha, à tous ceux que
j'aime.*

Madina.

Sommaire

Introduction	1
--------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la lutte biologique

1. Définition de la lutte biologique	2
2. Les agents de lutte biologique	2
2.1-Les bactéries	2
2.2-Les virus	2
2.3-Les protozoaires (Grégarines, Microsporidies et Amibes)	3
2.4-Les nématodes	3
2.5- Les champignons	3
☆ <i>Pythium sp</i>	4
a) Définition de genre <i>Pythium sp</i>	4
b) Morphologie	4
c) Cycle de vie	5
d) Taxonomie du <i>Pythium sp.</i>	6
e) Habitat de <i>Pythium sp</i>	6
f) Les facteurs de croissance	6
g) Le pouvoir antagoniste d'une espèce de <i>Pythium sp.</i>	6
☆ <i>Trichoderma viride</i>	7
a) Définition	7
b) Morphologie de <i>Trichoderma viride</i>	7
c) Cycle de vie	7
d) Taxonomie de <i>Trichoderma viride</i>	8
e) Habitat de <i>Trichoderma viride</i>	8
f) Les facteurs de croissance	8

g) Le pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma viride</i>	9
3- le mode d'action des agents antagonistes	9
3-1-Antibiose	9
3-2-Parasitisme	10
3-3-Induction de résistance chez l'hôte	10
3-4-Compétition pour la nutrition et pour l'espace	11
3-5-Production de sidérophores	11
4-Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique	11
4-1-Les avantages	12
4-2-Les inconvénients.....	12

Chapitre II : Généralités sur les Fongicides

1-Définition	13
2- Classification	13
2.1-Classification par mode d'action des fongicides.....	13
2.1.1-Les fongicides non systémiques (ou de contact)	13
2.1.2-Les fongicides systémiques	14
2.1.2.1- Substances inhibitrices de la respiration mitochondriale	14
2.1.2.2-Inhibiteurs de la biosynthèse de stéroles membranaires (IBS)	14
2.1.2.3-Inhibiteurs de la synthèse d'acides nucléiques	15
2.1.2.4-Inhibiteurs de la biosynthèse de méthionine	15
2.1.2.5-Inhibiteurs de la formation des microtubules	15
2.2-Classification selon la nature de matière active	15
2.2.1-Composés inorganiques	15
⊗ Le Soufre	15
⊗ Le Cuivre	15
2.2.2-Fongicides organiques	16

☼ Organométalliques	16
☼ Dithiocarbamates	16
☼ Trichlorométhylsulfénimides (Phtalimides)	16
☼ Dicarboximides	16
3-Mode d'action des fongicides	17
3.1-Les fongicides anti- énergies affectent les processus respiratoires	17
3.2-Les fongicides anti-glucides	17
3.3-Les fongicides anti-lipides (IBS)	18
3.4-Les fongicides anti-acides nucléiques.....	18
3.5-Les fongicides anti-acides aminés et protéines	18
3.6-Les fongicides anti-microtubules	19
3.7-Les fongicides inducteurs de résistance des plantes aux parasites	19
3.8-Les fongicides dont le site d'action primaire n'est pas connu	20
4-Les avantages et les inconvénients de la lutte chimique	20
4.1- Avantages	20
4.2 Inconvénients	21

Partie pratique

Matériel et méthodes

1-Matériel biologique	22
1.1-L' agent antagoniste	22
1.2-L' agent pathogène	22
1.3-Le fongicide	23
2-Méthodologie	23
2.1- Activité antagoniste de <i>Pythium sp</i>	23
2.2- Activité antagoniste de <i>Trichoderma viride</i>	24
2.3- Test fongicide- pathogène	25

Résultats et discussions

1- Activité antagoniste de <i>Pythium sp</i>	26
☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>Pythium sp.</i> et <i>Fusarium oxysporum</i>	26
☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>Pythium sp.</i> et <i>Trichothecium roseum</i>	29
2- Activité antagoniste de <i>Trichoderma viride</i>	32
☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>Trichoderma viride</i> et <i>Fusarium oxysporum</i>	32
☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre <i>Trichoderma viride</i> et <i>Trichothecium roseum</i>	35
3- Test fongicide-agent pathogène	37
☆ Fongicide- <i>Fusarium oxysporum</i>	37
☆ Fongicide- <i>Trichothecium roseum</i>	39
Conclusion.....	42
Références bibliographiques.....	43

Liste des figures

Figure 01: <i>Pythium sp</i> sur le milieu de PDA à 25° C	5
Figure 02 : <i>Trichoderma viride</i> sur le milieu PDA à 26° C.....	7
Figure 03 : Les isolats fongiques antagonistes.....	22
Figure 04 : Les isolats fongiques testés.....	23
Figure 05: Confrontation directe du <i>Pythium sp</i> .et du <i>Fusarium oxysporum</i> sur milieu PDA.....	24
Figure 06: Confrontation équidistante du <i>Trichoderma viride</i> et du <i>Fusarium oxysporum</i> par contact direct sur milieu PDA.	25
Figure 07 : Teste d'antagonisme par l'effet des disques imbibés.....	26
Figure 08 : Effet inhibiteur par confrontation directe du <i>Pythium sp.</i> sur la croissance mycélienne du <i>Fusarium oxysporum</i> ; pour une durée d'incubation de six jours à 25° C.....	27
Figure 09 : Comparaison entre le développement mycélien du <i>Fusarium oxysporum</i> traité par confrontation directe avec le <i>Pythium sp</i> et leur témoin.....	29
Figure 10 : sporulation du <i>pythium sp</i> sur la colonie de <i>Fusarium oxysporum</i> , après 10 jours d'incubation à 25° C.....	29
Figure 11 : Effet inhibiteur par confrontation directe du <i>Pythium sp.</i> sur la croissance mycélienne du <i>Trichothecium roseum</i> ; pour une durée d'incubation de 06 jours à 25°C.....	30
Figure 12 : comparaison entre le développement mycélien du <i>Trichothecium roseum</i> traité par confrontation direct avec le <i>pythium sp</i> et leur témoin.....	31
Figure 13 : Effet inhibiteur par confrontation directe du <i>T. viride</i> sur la croissance mycélienne du <i>Fusarium oxysporum</i> après 72 heures d'incubation à 25 °C.....	33
Figure 14: comparaison entre le développement mycélien du <i>Fusarium oxysporum</i> traité par confrontation directe avec le <i>Trichoderma viride</i> et leur témoin.....	34
Figure 15 : la sporulation du <i>Trichoderma viride</i> sur la souche de <i>Fusarium oxysporum</i> après 10 jours d'incubation à 25° C sur milieu PDA.....	34
Figure 16: Effet inhibiteur par confrontation directe du <i>Trichoderma viride</i> sur la croissance mycélienne du <i>Trichothecium roseum</i> après 72 heures d'incubation à 25 °C	35
Figure 17 : comparaison entre le développement mycélien du <i>Trichothecium roseum</i> traité par confrontation direct avec le <i>Trichoderma viride</i> et leur témoin.....	36
Figure 18 : effet des déférentes concentrations du fongicide sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> après 4 jours d'incubation à 25° C.....	38

Figure 19 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de <i>Fusarium oxysporum</i> traités par le fongicide (déférentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation	39
Figure 20: effet des déférentes concentrations du fongicide sur la croissance mycélienne de <i>Trichothecium roseum</i> après 6 jours d'incubation à 25° C.....	40
Figure 21 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de <i>Trichothecium roseum</i> traités par le fongicide (avec les déférentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation.....	41

Liste des tableaux

Tableau 01 : Information sur le fongicide	23
Tableau 02: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de <i>Fusarium oxysporum</i> en présence de <i>Pythium sp</i> comparativement au témoin non traité	28
Tableau 03: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de <i>Trichothecium roseum</i> en présence de <i>Pythium sp</i> comparativement au témoin non traité	31
Tableau 04: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de <i>Fusarium oxysporum</i> en présence de <i>Trichoderma viride</i> comparativement au témoin non traité	33
Tableau 05: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de <i>Trichothecium roseum</i> en présence de <i>Trichoderma viride</i> comparativement au témoin non traité	36
Tableau 06 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de <i>Fusarium oxysporum</i> traités par le fongicide (différentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation	38
Tableau 07 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de <i>Trichothecium roseum</i> traités par le fongicide (différentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation.....	40

La liste des abréviations

°	: degré
° C	: degrés Celsius ;
%	: Pourcentage.
ADN	: acide désoxyribonucléique.
ARN	: acide ribonucléique.
<i>B. sphaericus</i>	: <i>Bacillus sphaericus</i> ;
Fig	: Figure
F. O	: <i>Fusarium oxysporum</i>
<i>F. oxysporum</i>	: <i>Fusarium oxysporum</i> ;
g	: gramme
g/Cm ³	: gramme par centimètre cube ;
L	: litre
Mg/l	: milligramme par litre ;
ml	: millilitre
Mm	: millimètre ;
nm	: nanomètre
PDA	: Potatos Dextrose Agar.
pH	: potentiel hydrique
Ppm	: partie par million ;
Tab	: Tableau
<i>T. roseum</i>	: <i>Trichothecium roseum</i> ;
<i>T. viride</i>	: <i>Trichoderma viride</i> ;
µm	: micromètre.

Introduction

Introduction

La première utilisation des fongicides en agriculture date de l'antiquité. Le développement des fongicides a ensuite suivi celui de la chimie minérale (El mrabet et *al.*, 2008). Cette dernière va se développer au 19^{ème} siècle, fournissant de nombreux fongicides minéraux à base de sels de cuivre. Les fongicides à base de sulfate de cuivre se répandent, en particulier la fameuse bouillie bordelaise (mélange de sulfate de cuivre et de chaux) pour lutter contre les invasions fongiques de la vigne et de la pomme de terre. Les sels de mercures sont employés au début du 20^{ème} siècle pour le traitement des semences. Les fongicides du type benzimidazole et pyrimides datent de 1966, suivi par les fongicides imidazoliques et triazoliques dit fongicide IBS (inhibiteur de la synthèse des stéroïdes) qui représentent actuellement le plus gros marché des fongicides (Tawil, 2007).

Après les effets néfastes de l'utilisation des produits chimiques sur l'environnement (apparition de souches résistantes et accumulation de résidus de fongicides) (Gravel, 2007), la lutte contre les infections des plantes causées par des agents pathogènes fongiques est envisagée de plus en plus fréquemment par une approche biologique (Rafin et Tirilly, 1995). L'intérêt pour la lutte biologique s'est grandement développé au cours des dernières années. L'efficacité d'un agent de lutte biologique tel que *Pythium*, dépend essentiellement de son adaptation et de la survie dans la rhizosphère (Rafin et Tirilly, 1995). Le *Pythium* présente de nombreuses caractéristiques intéressantes pour agent de lutte biologique (Le Floch et *al.*, 2003a). Il est connu pour réduire la sévérité des maladies. Les espèces de *Trichoderma* ont reçu une attention considérable en tant qu'agent de lutte biologique contre un certain nombre de pathogènes telluriques (chet et baker, 1981). Les recherches effectuées sur les mécanismes de lutte contre les populations pathogènes existant dans la rhizosphère conduisent à proposer que l'activité antagoniste de *Trichoderma sp* réside dans la production d'enzyme extracellulaires et/ou des substances antibiotiques (Elad et kapat, 1999).

Notre travail est consacré à l'étude in vitro des points suivants :

- * Test de confrontation directe de *Pythium sp* ;
- * Test de confrontation directe de *Trichoderma viride* ;
- * Test fongicide- pathogène ;

Avec deux isolats fongiques considéré comme agents pathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum*). A fin de comparer entre l'efficacité du lutte biologique et de lutte chimique.



Synthèse
Bibliographique

Chapitre I:
Généralités sur la lutte
biologique

1- Définition de la lutte biologique

Le terme "lutte biologique" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures. La lutte biologique consiste à utiliser des organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs (Kouassi, 2001).

La lutte biologique est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement. Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les protozoaires (Ignoffo, 1970, 1973).

2. Les agents de lutte biologique

2.1-Les bactéries :

Selon Starnes *et al.*, 1993, plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique. Ces bactéries entomopathogènes appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les Bacillaceae, Enterobacteriaceae et Pseudomonaceae (Greathead *et al.*, 1994). À l'heure actuelle, *Bacillus thuringiensis* Berliner et *B. sphaericus* sont les espèces les plus utilisées en lutte contre les ravageurs. Quatre types de toxine peuvent être isolées du *B. thuringiensis*, les α -exotoxines ; β -exotoxines; δ -endotoxines et γ -exotoxines. Le *B.t* est efficace contre certaines espèces de coléoptères, lépidoptères et diptères (Ahmed *et al.*, 1994).

L'utilisation répétée des bactéries peut toutefois, entraîner une résistance chez certaines espèces (Dunphy et Tibelius, 1992).

2.2-Les virus :

Les virus entomopathogènes se divisent généralement en deux grands groupes distincts, d'une part, ceux possédant des corps d'inclusion paracrystallin et ceux sans corps d'inclusion. On les regroupe en sept familles. Ces familles renferment la plupart des 650 espèces de virus entomopathogènes connues (Khachatourians, 1986). Les baculovirus ont depuis longtemps présenté un intérêt principalement pour leur spécificité. Ils n'ont en effet été observés que chez les invertébrés et en particulier chez les insectes (Devauchelle, 1993).

Les caractéristiques principales des bioinsecticides viraux sont la spécificité, la haute virulence, la rapidité d'action et le niveau raisonnable de persistance dans l'environnement (Dent, 2000).

2.3-Les protozoaires (Grégarines, Microsporidies et Amibes) :

Les protozoaires appartiennent à sept phyla, dont quatre, les Ciliophora, Sarcomastigophora, Apicomplexa et Microspora sont pathogènes des insectes (Dent, 2000). Les familles les plus utilisées en lutte biologique sont les Amoebidae et les Nosematidae (Greathead *et al.*, 1994). Parmi les néogrégarines, ce sont les microsporidies qui offrent le plus de potentiel en lutte microbiologique en tant qu'organismes unicellulaires eucaryotes (Canning, 1982).

Ce sont des parasites intra-cellulaires obligatoires qui forment des spores caractéristiques. Chez les microsporidies du genre *Nosema*, l'infection se réalise par ingestion des spores, celles-ci germent dans le tube digestif et traversent les tissus épithéliaux (Maddox, 1987).

Les protozoaires provoquent des maladies chroniques à évolution lente ou des enzooties, qui affaiblissent et affectent la croissance ou la fécondité de leur hôte plutôt que d'entraîner une mort rapide (Poinar *et al.*, 1985; Cloutier et Cloutier, 1992).

2.4-Les nématodes :

Les nématodes entomophages sont des vers microscopiques bénéfiques qui habitent dans le sol. Ils peuvent être utilisés contre les insectes qui vivent dans le sol au moins une partie de leur vie. Ils sont efficaces en autant que le sol soit humide aussi profondément que se trouvent les larves des ravageurs. Il faut donc attendre une bonne pluie ou irriguer avant ou tout de suite après l'application au champ. Il faut enlever les filtres du pulvérisateur pour appliquer les nématodes en solution ou sur éponge (Duval et Weill, 2007).

Quoique de bons agents en lutte biologique, l'utilisation des nématodes en zone sèche est limitée par les facteurs abiotiques particulièrement les UV qui sont détritantes pour tous micro-organismes (Ignoffo et Hostetter, 1977; Burges, 1981; Roberts et Campbell, 1977; Gardner *et al.*, 1977).

2.5- Les champignons :

En 1929, sir Alexander Fleming, constata que le *Penicillium notatum* stoppait la croissance du Staphylocoque doré et que ce barrage correspondait à la destruction de la Bactérie à distance. La substance en cause, la pénicilline, se révéla active contre d'autres germes. C'était donc un antibiotique d'origine fongique (Boullard, 1990).

Les champignons constituent des agents importants de la lutte biologique (Boiron, 1996). Plus de 700 espèces de microchampignons sont entomopathogènes (Starnes et *al.*, 1993). Ils jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes. Ils appartiennent au sous-taxon des Mastigiomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina et Deuteuromycotina. Le plus grand nombre des pathogènes se trouvent dans la classe des Zygomycètes, mais les plus utilisées en lutte biologique proviennent des Deutéromycètes (*Fungi imperfecti*). La pathogénécité de l'inoculum sporal et la spécificité de l'hôte sont deux paramètres important dans le choix de l'isolat fongique. Les microchampignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact rendant tous les stades, œuf, larve, adulte sensibles ainsi que les succeurs-piqueurs (Carruthers et Soper, 1987).

Les principaux facteurs limitant l'utilisation en champ des microchampignons sont abiotiques et vont entraîner la perte d'efficacité de l'inoculum fongique sur le couvert végétal. Les effets de certains facteurs sur la viabilité des conidies ont été très étudiés comme la température. L'effet du rayonnement solaire sur la rémanence ou l'inactivation de l'inoculum infectieux, l'effet de l'humidité (Doberski, 1981).

☆ *Pythium sp*

a) Définition de genre *Pythium sp* :

Le nom *Pythium* est donné à un genre de micro-organismes classés parmi les oomycètes qui est un groupe qui comprend plusieurs champignons phytopathogènes économiquement importants avec ces dégâts et ces bénéfiques. Le genre *Pythium* se divise en deux types d'espèces ; des parasites de plantes et quelques autres parasites d'animaux (Anonyme 1, 2007).

b) Morphologie :

Pythium sp. comme d'autres, dans la famille des *Pythiacées*, sont généralement caractérisées par leur production des hyphes coenocytique, d'environ 7 µm de diamètre ; sans hyphes cloisons

(André *et al.*, 2004). À croissance rapide contiennent généralement une seule oospore (Vander *et al.*, 1991) La plupart des espèces de *Pythium sp.* produisent des sporanges ronds. Le sporange contient une vésicule à paroi mince dans laquelle les zoospores se différencient. Par la suite, les zoospores sont relâchées (André *et al.*, 2004). Les différentes espèces de *Pythium* se développent sous la forme d'un mycélium blanc (Figure 01).



Figure 01: *Pythium sp* sur le milieu de PDA à 25° C (d'après Mbarga *et al.*, 2012).

c) Cycle de vie :

Le diploïde (2N) l'étape de vie qui prédomine, avec une brève haplophase lancée au cours de la reproduction sexuée ainsi que La reproduction asexuée (Homothallism prédomine dans la famille) pour fusionner les gamètes (Paulitz et Baker, 1997).

➤ Reproduction sexuée :

Oogones terminales ou intercalaires, parfois latérales, de diamètre varie entre 21-31 μm , oospores aplérotiques de 18-27 μm de diamètre, à paroi épaisse de 1-2,8 μm . Anthéridies souvent absentes, parfois 2 par oogone, diclines, et parfois monoclines, présentant souvent des constriction, et lobulées. La fusion d'une anthéridie et d'une oogone résulte en la formation d'une oospore. Un nouvel hyphe développe suite à la germination des oospores ou des zoospores enkystées (Agrios, 2005).

➤ Reproduction asexuée :

Les sporanges, formés directement sur les hyphes et non sur des sporangiophores, déversent les zoospores flagellées dans une vésicule qui éventuellement se rompra pour libérer les zoospores (Gilman, 1957).

Elle n'est observée que chez *Pythium ultimum var. sporangiferum*; les sporanges germe à l'intermédiaire d'un germe de tube ou par la libération de mobiles zoospores, Selon les espèces et les

conditions environnementales. Sporangies intercalaires, rarement terminales, en agrégats irréguliers formés d'éléments subglobuleux ; Zoospores formées à 18-20°C, de 9-10 µm de diamètre ; Tube de décharge de 15-35 µm (Vander *et al.*, 1991).

d) Taxonomie du *Pythium sp.* Selon Carlile *et al.*, 2001 :

Règne	: Chromista ;
Division	: Oomycota ;
Classe	: Oomycètes ;
Ordre	: Péronosporales ;
Famille	: Pythiaceae ;
Genre	: <i>Pythium</i> .

e) Habitat de *Pythium sp.* :

Pythium sp. est largement distribués dans le monde. Ils ont été rapportés dans les étangs, lacs, fleuves (Bernard, 1994). C'est un champignon ubiquiste, vivent sur terre (terrestres), et dans l'eau (aquatiques) et une combinaison des deux (amphibie) ; mais il est principalement retrouvé dans les régions humides Ce genre a été isolée de substrats et habitats divers, entre autres : • sol • bois • plastique • papier • produits alimentaires (céréales, tomates au niveau des racines et tiges) • algues (Anderson *et al.*, 1993).

f) Les facteurs de croissance :

La température optimale de croissance est comprise entre 22 et 30 °C ou on peut trouver une bonne croissance dans cet intervalle. Mais pour des températures de 6 et 32 °C on peut également observée quelque mycélium (Domsch *et al.*, 1993).

- * Quelques cas exceptionnels de croissance ont été observés à 37 °C, mais aucune à 0°C.
- * Le point thermique de mortalité dans le sol est de 49 à 55 °C pendant 30 minutes.
- * Le pH doit être compris entre 1,5 et 7, le pH optimum étant de 4,5-5,5 (Domsch *et al.*, 1993).

g) Le pouvoir antagoniste d'une espèce de *Pythium sp.*

Pythium oligandrum agit comme un hyperparasite en colonisant d'autres champignons pathogènes avec un effet inhibiteur qui supprime la croissance d'au moins 20 champignons

pathogènes, y compris *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Ophiostoma*, *Phoma*, *Sclerotinia* et *Sclerotium* dans ou autour des plantes en pleine croissance (Anonyme 2, 2007).

Pythium oligandrum produit le oligandrin hormone de protéines et d'autres composés qui stimulent les parois cellulaires des plantes pour repousser l'invasion des agents pathogènes, et stimule les mécanismes naturels de défense des plantes appelée pathogenesis-related (PR), ces protéines qui aident les plantes à résister aux maladies, sans nuire. *Pythium oligandrum* entre en compétition avec *Rhizoctonia solani*, *Fusarium culmorum*, *Trichoderma viride*. Des études sont en cours afin d'exploiter *Pythium oligandrum* comme agent de lutte biologique (Anderson *et al.*, 1993).

☆ *Trichoderma viride*

a) Définition :

Trichoderma viride est un mycoparasite souvent préconisé dans la lutte contre les champignons filamenteux pathogènes (Bye *et al.*, 1991). C'est une espèce cosmopolite très répondeuse et très résistante. La capacité de *Trichoderma viride* est traduite par l'inhibition de croissance des nombreuses souches fongiques isolées à partir des différents organes (racines, tiges et feuilles) de la plante (Subramanian, 1983).

b) Morphologie de *Trichoderma viride* :

Thalle d'abord blanc, puis vert-bleu, dans les régions conidiogènes, revers incolore. Conidiophores très ramifiés, à ramification de plus en plus courtes vers l'apex et formant de ce fait un ensemble pyramidal. Phialides par 2- 4, en forme de quille, droites ou incurvées, 8-14 (20) 2,5-3µm. Conidies globuleuses 3,5- 45µm granuleuses. Chlamydozoospores globuleuses, hyalines, atteignant 14 µm de diamètre (Botton *et al.*, 1990), (Figure 02).



Figure 02 : *Trichoderma viride* sur le milieu PDA à 26°C (Kebe *et al.*, 2009).

c) Cycle de vie :

Trichoderma viride est un champignon asexué. Conidiospores représente la phase dominante de la multiplication. Dans des conditions appropriées, les spores germent, donne un mycélium, constitue des hyphes ramifier, nouvelles conidiospores sont formés dans des Phialides (Rifai, 2004).

d) Taxonomie de *Trichoderma viride* selon Bissett, 2004 :

Embranchement	: Amastigomycota et/Eumycètes
Sous embranchement	: Ascomycotina
Classe	: Sordariomycètes
Ordre	: Hypocréales
Famille	: Hypocraceae
Genre	: <i>Trichoderma</i>
Espèce	: <i>Trichoderma virideae</i> .

e) Habitat de *Trichoderma viride* :

Trichoderma viride est très répandue: extrême nord, zones alpines, régions tropicales. il habite divers milieux et produits : Algues, matières synthétiques (plastique), papier, produits alimentaires, sol, textile (Subramanian, 1983). Ainsi qu'on peut trouver le sur le bois mort, les débris végétaux et les organes aériens des plants (Caron, 2002).

f) Les facteurs de croissance :

La température optimale de croissance est comprise entre 20°C et 28°C. Une bonne croissance est également observée pour 6°C et 32°C. Quelques cas exceptionnels de croissance ont été observés à 37°C, mais aucune à 0°C. Le point thermique de mortalité dans le sol est de 49°C à 55°C pendant 30 minutes. Le pH doit être compris entre 1,5 et 9, le pH optimum état de 4,5- 5,5. L'analyse de l'ADN montre que *T.viride* est constituée de 49,5-51% GC. Une longueur d'onde comprise entre 430 et 490 et/ou 320 et 380 nm favorise la sporulation. Les ions de cuivre permettent le développement des structures colorées. Une concentration élevée de sel dans le support inhibe la germination des conidies, mais pas la croissance du mycélium. Les conidies sont relativement résistantes aux rayonnements gamma (Subramanian, 1998).

g) Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma viride* :

Les propriétés antagonistes de *T. viride* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. Cependant, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales. Les modèles étudiés s'intéressaient essentiellement aux parasites du sol mais déjà, en 1952, Wood signalait l'efficacité de *T. viride* pour contrôler *Botrytis cinerea* sur la laitue. *T. viride* a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action. Il peut utiliser :

- **L'antibiose** qui résulte de la production de substances qui agissent comme des « antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène (Caron, 2002). *Trichoderma* secrète deux métabolites qu'il laisse diffuser à l'agent pathogène: la gliotoxine et la viridine (Boullard, 1990).
- **La compétition** qui se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables (Caron, 2002).
- **Le mycoparasitisme** qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui « injectant » des substances (enzymes) qui le détruisent (Caron, 2002). ce champignon possède un mode d'action parasitaire complexe incluant une activité antibiotique, plusieurs dépolymérase telles que chitinases, B1-3 glucanases et cellulases et la découverte de l'effet activateur de la croissance végétale (Bye *et al.*, 1991).

3- Les modes d'action des agents antagonistes

La protection conférée par un agent de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour les éléments nutritifs, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogène et l'induction de la résistance chez la plante (Lepoivre, 2007).

3.1- Antibiose :

La sécrétion de substances antibiotiques est un phénomène très commun dans la nature. De nombreux microorganismes produisent ces métabolites et agissent en provoquant une altération de la germination, de la croissance et/ou de la sporulation du pathogène, une distorsion des hyphes du

pathogène, une modification de l'aspect des colonies et une production de formes spécifiques comme les pseudoparenchymes (Krimi Bencheqroun, 2009).

Les antagonistes producteurs d'antibiotiques ont montré une grande efficacité dans le contrôle biologique. La pression de la sélection exercée par les substances antibiotiques sur les agents phytopathogènes risque d'entraîner le développement de souches pathogènes résistantes, qui pourraient apparaître par simple mutation. Ainsi, avant de pouvoir utiliser les antagonistes producteurs d'antibiose, plusieurs facteurs doivent être pris en considération, entre autre la détermination de l'implication de l'antibiotique dans le mode d'action de l'antagoniste, la connaissance des facteurs qui peuvent intervenir sur le mode d'action de cet antagoniste (Lepoivre, 2007).

3.2-Le parasitisme :

Le parasitisme est une forme de relation dans laquelle un organisme (le parasite) tire de l'hôte les parasites détournent à leur profit une partie des ressources normalement destinée à la croissance, la survie et la reproduction des hôtes, bien qu'ils soient le plus souvent invisible, les parasites n'en sont pas moins omniprésents (Kouassi, 2001).

Le mycoparasitisme est une relation trophique qu'établit un microorganisme au détriment d'un champignon. La chitine et le β -1,3-glucan (laminarine) sont les principaux constituants de la paroi de la plupart des champignons. Ainsi les agents antagonistes produisant les enzymes lytiques comme la glucanase et la chitinase, qui dégradent les parois du pathogène (Krimi Bencheqroun, 2009).

L'hyperparasitisme est l'attaque directe d'un microorganisme par un autre dans un but nutritionnel (Kouassi, 2001).

3.3-Induction de résistance chez l'hôte :

Le tissu végétal des plantes réagit à une attaque de pathogènes par l'activation d'un système de défense biochimique et structurale qui contribue à éviter la dissémination du pathogène. L'induction du mécanisme de résistance de l'hôte peut s'exprimer par l'accumulation de métabolites antifongiques (phytoalexines) ou des glucanohydrolases antifongiques comme la chitinase (Krimi Bencheqroun, 2009).

Ces réactions de défense peuvent être de plusieurs ordres : épaissement des structures pariétales renforçant leur rôle de barrière physique, stimulation des voies métaboliques secondaires permettant la synthèse des substances antimicrobiennes (comme les phytoalexines) ou des composés impliqués dans la signalisation de l'agression vers d'autres cellules. Enfin, l'accumulation de protéines de défense (ou protéines PR pour "Pathogenesis Related") est associée à la réponse des plantes aux attaques des bio-agresseurs. Ces protéines inhibent certains facteurs du pouvoir pathogène des microorganismes (protéases, polygalacturonases) voire attaquent certaines de leurs structures vitales (structures pariétales et membranes plasmiques) (Klarzynski et Fritig, 2001).

3.4-Compétition pour la nutrition et pour l'espace :

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes (Lepoivre, 2007).

La présence sur les sites de blessure d'antagonistes (bactéries, levures ou champignons) entrant en compétition pour ces éléments nutritifs, peut prévenir l'établissement de la phase saprophytique du pathogène et par conséquent prévenir ou réduire l'infection (Krimi Bencheqroun, 2009). Pour être un compétiteur efficace, l'antagoniste doit posséder les caractères spécifiques suivants:

- ☆ Coloniser rapidement les sites blessés,
- ☆ Utiliser les éléments nutritifs présents en faible quantité dans le milieu plus rapidement et plus efficacement que le pathogène.
- ☆ S'adapter aux conditions environnementales et nutritionnelles du site blessé.
- ☆ Etre capable de survivre et de se développer sur la surface de fruit et sur le site d'infection sous des conditions de température, de pH et d'osmose extrêmes (Krimi Bencheqroun, 2009).

3.5-Production des 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 $Fe(OH)_3$. Les champignons et toutes les bactéries aérobique et anaérobique facultatives produisent une grande variété de sidérophores (Lynch, 1990).

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, ou par lyse des bactéries (bactériolyse) qui est un phénomène peu fréquent qu'on va s'intéresser plus particulièrement à ces phénomènes à cause de leur importance dans les domaines de la lutte contre les champignons phytopathogènes (Soufiane, 1998).

4- Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique :

L'utilisation de biopesticides en agriculture comporte des avantages et des inconvénients, voici une liste des bienfaits d'une telle lutte et les quelques inconvénients qui s'y rattachent selon Caron et Laverdière (2006) :

4.1-Avantages :

- ☆ Restreindre ou éliminer l'utilisation des pesticides chimiques ;
- ☆ Favoriser lors d'une utilisation en serre (culture serricole de haute valeur économique) ;
- ☆ Diminuer les risques de développer de la résistance ;
- ☆ Favoriser par le nombre restreint de fongicides homologués en serre ;
- ☆ Améliorer la qualité de vie des travailleurs agricoles ;
- ☆ Ne prévoir aucun délai avant la récolte ;
- ☆ Offrir aux consommateurs des produits sains ;
- ☆ Avoir une meilleure presse auprès des consommateurs ;
- ☆ Maintenir la biodiversité des biotopes ;

4.2-Inconvénients :

- ☆ Lutte souvent faite en prévention ;
- ☆ Effet moins drastique que les pesticides (plus d'applications) ;
- ☆ Seuil de tolérance très bas pour les maladies ;
- ☆ Marché restreint pour le domaine serricole ;
- ☆ Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre ;
- ☆ Grande pression de la maladie ;
- ☆ Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi-vie et température plus fraîche).

Chapitre II :
Généralités sur la lutte
chimique

Généralités sur les Fongicides

1-Définition :

Etymologie : fongicide est un mot d'origine latin correspond à :

{	<i>fongi</i> de <i>fungus</i>	: champignon,
	et <i>-cide</i> de <i>caedere</i>	: tuer. C-à-dire tuer le champignon.

Les fongicides sont des produits qui tuent ou inhibent les champignons responsables de certaines maladies. Tel que les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés (Garon-Boucher et Margoum, 2003).

2- Classification :

2.1- Classification par mode d'action des fongicides :

En se basant sur leur comportement vis à vis de la plante, deux groupes principaux peuvent être distingués : les fongicides systémiques et les fongicides non systémiques.

2.1.1- Les fongicides non systémiques (ou de contact) :

Il s'agit de première classe de fongicides apparus dès le XIX^e siècle, aux prémices de la lutte chimique. Ces composés inhibent simultanément plusieurs fonctions essentielles du champignon ; ils n'ont pas de cible enzymatique spécifique. De ce fait, on n'observe pas ou très peu de résistance de champignon vis-à-vis de ces molécules (Leroux, 2003a).

Un fongicide de contact lorsqu'il est appliqué à la surface de la plante forme une barrière protectrice qui est toxique pour la germination des spores ou pour le mycélium du champignon responsable de la maladie. Leurs caractéristiques sont les suivantes :

- ☆ Ils assurent une protection contre l'infection.
- ☆ Ils ne pénètrent pas la plante.
- ☆ Ils nécessitent une distribution uniforme à la surface de la plante.
- ☆ Ils nécessitent des applications répétées pour renouveler la couche protectrice.
- ☆ Ils ont un mode d'action multi-site contre les champignons.

Il est noter que l'apparition de résistance aux fongicides de contact chez les champignons sont peu probables en raison de leur mode d'action multisite (Bosseur *et al.*, 2001).

2.1.2- Les fongicides systémiques :

La systémie des fongicides se limite uniquement a une systémie xylemienne le produit diffuse de la semence (zone d'application) vers le sol environnant de la germination pour migrer vers les parties aériennes (Rocher, 2004).

2.1.2.1- Substances inhibitrices de la respiration mitochondriale :

✓ Inhibition du complexe II (succinate déshydrogénase) :

Les carboxamides sont des inhibiteurs du complexe II de la mitochondrie. Ceux-ci déclenchent des phénomènes de résistances chez certains champignons. Ils sont donc souvent commercialisés en association avec un second fongicide (couteux et Lejeune, 2004).



✓ Inhibition du complexe III (cytochrome bc1) :

Parmi les analogues de strobilurines commercialisés depuis 1992, deux composés sont systémiques :

- ☆ L'azoxystrobine, dont le toxophore (groupement exerçant l'effet toxique) est un méthyl β -méthoxyacrylate. Cette molécule présente de plus la propriété d'être redistribuée à l'extérieur de la plante en phase vapeur, de la même manière que le Krésoxim-méthyl, non systémique (Leroux, 2003b);
- ☆ la picoxystrobine à un spectre d'action est étendu. Elle est rapidement absorbée par la plante et est aussi redistribuée sous forme de vapeurs autour de celle-ci (Rocher, 2004).

Comme la plupart des inhibiteurs agissant sur la face externe du complexe III, les strobilurines causent des problèmes de résistance et de ce fait ces molécules doivent être utilisées en association (Leroux, 2003 a).

2.1.2.2- Inhibiteurs de la biosynthèse de stéroles membranaires (IBS) :

Quatre groupes principaux des fongicides inhibiteurs de la biosynthèse des stéroles (IBS) peuvent être distingués en fonction de leur site d'action : les inhibiteurs de la squalène époxidase (famille des triazoles), la 14 α -déméthylation des stéroles appelés aussi IDM (famille des imidazoles),

la 14 α -réductase et de la $\Delta^8 \rightarrow \Delta^7$ isomérase (famille des amines) et en fin la C-4 déméthylation (famille des hydroxyanilides) (Elad et al., 2004).

2.1.2.3- Inhibiteur de la synthèse d'acides nucléiques :

Des phénylamides, comme le béalaxyl et le méfénoxame inhibent l'action de la polymérase I. Ces fongicides sont actifs sur les Oomycota, mais ceux-ci développent des résistances. Ces inhibiteurs sont donc préférentiellement utilisés en association (Rocher, 2004).

2.1.2.4- Inhibiteurs de la biosynthèse de méthionine :

Le cyprodinil est une anilinopyrimidine (inhibiteur de la cystathionine β -lyase) qui est efficace contre de nombreux champignons pathogènes. Cependant, des phénomènes de résistance ont été observés, notamment chez *Botrytis* (Fritz et al., 2003).

2.1.2.5- Inhibiteurs de la formation des microtubules :

Le carbendazime et le thiabendazole sont des benzimidazoles, fongicides à large spectre. Ils n'affectent pas la germination des conidies mais inhibent l'élongation du tube germinatif et la croissance mycélienne à faibles concentrations (Rocher, 2004).

2.2-Classification selon la nature de matière active :

2.2.1-Composés inorganiques :

☼ Le Soufre :

Le soufre agit contre les organismes pathogènes surtout par les vapeurs qui s'en dégagent (Duval et Weill, 2007).

L'efficacité du soufre provient de son aptitude à se sublimer à proximité des organes où se trouve l'inoculum infectieux, d'où l'importance de la nature du soufre utilisé, de la finesse des particules, de la qualité de l'application et de la formulation. Son activité anticryptogamique, faible en-dessous de 18°, optimum à 23-25°, peut s'accompagner de phytotoxicité au delà de 35° selon la nature des formulations (Bernard, 2007).

☼ Le Cuivre :

Le cuivre, bien qu'il s'accumule dans le sol, demeure la substance de prévention par excellence contre un grand nombre de maladies en agriculture biologique. Le cuivre a été découvert et utilisé à l'origine sous forme de bouillie bordelaise. Les autres formes de cuivre comme l'hydroxyde et l'oxychlorure sont moins phytotoxiques et permettent de réduire considérablement la quantité totale de cuivre appliquée à l'hectare, ce qui retarde le moment d'une accumulation excessive dans le sol (Duval et Weill, 2007).

2.2.2 -Fongicides organiques :

⊗ Organométalliques :

Les composés organométalliques sont phytotoxiques s'ils sont utilisés à hautes doses, et ne sont pas par conséquent utilisés pendant la période de croissance ou alors en association avec des dithiocarbamates. Des restrictions sur leurs utilisations sont appliquées pour des raisons toxicologiques ou environnementales. Les composés organométalliques exercent leurs actions fongicides comme inhibiteurs spécifiques de la respiration. Ces produits ne sont pas dangereux pour les abeilles (Bosseur *et al.*, 2001).

⊗ Dithiocarbamates :

Le groupe des dithiocarbamates est le groupe des fongicides le plus largement utilisé. Ils ont un spectre d'activité très large et sont généralement bien tolérés par de nombreuses cultures. Ils ne sont pas chers et sont efficaces, et font partie des composés majeurs de programmes de pulvérisation de protection de routine. Ils sont utilisés de plus en plus en association avec des fongicides systémiques pour réduire le risque de résistances et pour augmenter l'activité des composés systémiques (Bosseur *et al.*, 2001).

⊗ Trichlorométhylsulfénimides (Phtalimides) :

Quatre phtalimides majeurs ont été introduits entre 1952 et 1961. Le captan et le folpet sont les plus importants, suivis par le captafol et le ditalimphos ; ils sont utilisés largement comme fongicides protecteurs. Des restrictions d'utilisation ont été imposées dans certains pays, alors que d'autres les ont totalement interdits.

La fongitoxicité de ces composés est non-spécifique probablement dû à l'inactivation d'enzymes provoqués par le blocage des groupements sulfhydriques (Bosseur *et al.*, 2001).

⊗ **Dicarboximides :**

Les dicarboximides comprennent l'iprodione, le procymidone, le vinclozoline, et le metomeclan qui dérivent tous des N-3,5-dichlorophényles, dérivés des imides cycliques. Ils sont utilisés pour lutter contre les maladies causées par des champignons du genre *Sclerotinia*, *Monilinia*, et *Botrytis*. Ils sont généralement considérés comme non-systémiques, fongicides protecteur, mais on a pu mettre en évidence un transport systémique chez quelques plantes. Ils partagent un mode d'action commun avec un probable effet primaire sur le noyau, mais ils ont aussi un effet sur la membrane cytoplasmique et/ou la paroi. Des problèmes de résistance sont survenus sur de nombreuses cultures, notamment avec *Botrytis spp* (Bosseur *et al.*, 2001).

3- Mode d'action des fongicides :

Les modalités de l'intoxication des champignons phytopathogènes par les fongicides sont variées et complexes, mais on peut citer comme suite :

3.1- Les fongicides anti- énergies affectent les processus respiratoires :

Les fongicides qui perturbent la respiratoire cellulaire, agissent par réduction de la production d'énergie sous forme d'ATP. En conséquence, ce sont de puissants inhibiteurs de la germination des spores des champignons (ITCF, 2002).

Leur action sur le champignon est principalement due à une forte inhibition de la germination des conidies. Les fongicides inhibiteurs de la respiration plus récents comme le fluazinam, les strobilurines et les carboxamides agissent en bloquant le fonctionnement des mitochondries. Le fluazinam exerce une action découplante de la phosphorylation oxydative au niveau des mitochondries (Petit, 2008).

3.2- Les fongicides anti-glucides :

Les Dicarboximides possèdent un spectre d'activité plus ou moins étendu incluant des Ascomycètes et des Basidiomycètes. Elles affectent l'élongation des hyphes mycéliens et la germination des spores. A fortes doses, ces divers fongicides présentent une action découplante au niveau des mitochondries mais ce n'est pas leur site d'action primaire. Les phénylpyrroles (fenpiclonil, fludioxonil) sont des analogues structuraux du pyrrolnitrine, une substance naturelle antifongique produite par diverses bactéries du genre *Pseudomonas*.

Leur mode d'action est probablement similaire à celui de dicarboximides et il peut y avoir résistance croisée entre ces deux familles avec toutefois une exception chez *Botrytis cinerea*. En effet, les souches de ce champignon résistantes aux dicarboximides trouvées dans la nature, demeurent sensibles aux phénylpyrroles (ITCF, 2002).

3.3- Les fongicides anti-lipides (IBS):

Quatre groupes principaux des fongicides inhibiteurs de la biosynthèse des stérols (IBS) peuvent être distingués en fonction de leur site d'action : les inhibiteurs de la squalène époxidase (famille des triazoles), la 14 α -déméthylation des stérols appelés aussi IDM (famille des imidazoles), la 14 α -réductase et de la $\Delta^8 \rightarrow \Delta^7$ isomérase (famille des amines) et la C-4 déméthylation (famille des hydroxyanilides) (Elad *et al.*, 2004).

Ces différents fongicides ne suppriment pas la germination des conidies mais, à faibles concentrations, ils inhibent l'élongation des tubes germinatifs et la croissance mycélienne. De plus, les tubes germinatifs produits sur des milieux avec ajout de ces fongicides sont déformés par des renflements et leur cytosol présente une apparence granulaire. Le plus efficace est le fenhexamid. Leur site d'action semble être différent des autres fongicides anti-*Botrytis* car aucune résistance croisée n'a été décelée avec les autres fongicides (Petit, 2008).

L'accumulation de plusieurs stérols dans le mycélium traité par le fenhexamid indique que ce fongicide inhiberait la 3-céto réductase impliquée dans la C4-déméthylation (Debieu *et al.*, 2001).

3.4- Les fongicides anti-acides nucléiques :

Le métalaxyl et l'oxadixyl sont des fongicides systémiques spécifiques des Oomycètes. Leur site d'action primaire est la biosynthèse de l'ARN et secondairement, ils peuvent affecter la perméabilité des membranes cellulaires. La cible est l'ARN polymérase responsable de la biosynthèse des ARN ribosomiaux. La résistance à ces phénylamides est courante (ITCF, 2002).

3.5- Les fongicides anti-acides aminés et protéines :

Le pyriméthanil et le cyprodinil sont efficaces principalement vis-à-vis des Ascomycètes et des Deutéromycètes. Parmi les maladies visées, pour le pyriméthanil, on peut citer la pourriture grise sur diverses cultures et pour le cyprodinil, divers parasites des céréales dont ceux responsables de l'oïdium ou du piétin versé. Il présente également des activités sur d'autres Ascomycètes inféodés au blé (ex : *Septoria nodorum*) ou à l'orge (ex : *Pyrenophorateres*) (ITCF, 2002).

Ces deux molécules ont un effet limité sur la germination des spores alors qu'elles inhibent l'élongation des tubes et des hyphes mycéliens à des faibles concentrations. Cette fongitoxicité pourrait être liée à une inhibition de la biosynthèse de certains acides aminés, dont la méthionine. Par ailleurs, les anilinopyrimidines empêchent la sécrétion d'enzymes (ex : protéines, cellulases ...) impliqués dans les processus d'infection des plantes hôtes (ITCF, 2002).

3.6- Les fongicides anti-microtubules :

Les microtubules sont des composants majeurs du squelette dont les fonctions cellulaires sont nombreuses. Ils interviennent lors des divisions nucléaires (et/ou cellulaires) sous forme du fuseau achromatique, participent au transport des molécules et d'organites cellulaires, contribuent au maintien de la forme des cellules et probablement à l'élaboration des parois (ITCF, 2002).

Il existe deux grandes familles des fongicides anti-microtubules : les benzimidazoles et les phénylcarbammates. Les fongicides de la famille des benzimidazoles, tels que le bénomyl et le carbendazime n'affectent pas la germination des conidies mais inhibent l'élongation du tube germinatif et la croissance mycélienne à faibles concentrations. Le diéthofencarbe, qui appartient aux phénylcarbammates, a effet anti-fongiques résultent de l'inhibition de l'assemblage microtubulaire due à la fixation des fongicides sur la tubuline, composant majeur des microtubules (Petit, 2008).

L'emploi de ces composés anti-microtubules a rapidement provoqué l'apparition de phénomène de résistance où les traitements étaient intensifs (Petit, 2008).

3.7- Les fongicides inducteurs de résistance des plantes aux parasites :

Lorsqu'une plante subit une attaque parasitaire, elle réagit en mettant en place plusieurs barrières pour limiter la progression de l'agent pathogène. Tout d'abord, la cellule hôte infectée peut mourir (réaction d'hypersensibilité). Puis dans les cellules voisines du site d'infection, des molécules antifongiques comme les phytoalexines ou des protéines de défense PR-protéines (Pathogenesis-related proteins) sont synthétisées. Celles-ci contribuent à une résistance locale de la plante hôte ou LAR (local acquired résistance) (Leroux, 2003b).

Le fosétyl-Al et son métabolite : l'acide phosphoreux (ou acide phosphonique) sont des fongicides tout à fait particuliers. Tout d'abord, ce sont actuellement les seuls fongicides systémiques susceptibles de migrer dans le xylème.

Leur seconde particularité tient au fait que leur activité au champ est généralement associée à une réaction de défense des plantes hôtes. En fait, ces produits entraînent un stress chez le champignon, qui ne serait donc pas tué mais qui émettrait des substances (éliciteurs) induisant des réactions de défense de la plante (ITCF, 2002).

L'intervention des réactions de défense de la plante résulterait non pas d'une stimulation de la production d'éliciteurs mais plutôt de l'inhibition de celle de suppresseurs fongiques. Parmi les effets observés, il y a notamment la compétition phosphonate/phosphate au niveau des membranes cytoplasmiques et la diminution des teneurs en ATP (Leroux, 2003b).

3.8-Les fongicides dont le site d'action primaire n'est pas connu :

Le cymoxanil qui appartient aux cyanooximes, est principalement actif sur des *Péronosporales* attaquant le feuillage des plantes il est actif sur les *Phytophthora* du sol. Les études conduites sur *P. infestans* et sur un isolat de *B.cinerea* très sensible au cymoxanil n'ont pas permis de déterminer le site d'action primaire de ce fongicide. Les inhibiteurs observés au niveau de la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN) sont considérées comme des effets secondaires (Lepoivre, 2007).

Le quinoxyfen qui appartient à la famille des phénoxyquinoléines est un fongicide spécifique des oïdiums, particulièrement persistant et utilisé à un stade précoce. Il a été montré récemment que le quinoxyfen induisait l'accumulation d'une protéine activatrice de GTPase et par voie de conséquence inactivait des protéines G (sous la forme GDP-protéine G) (Lepoivre, 2007).

4- Les avantages et les inconvénients de la lutte chimique :

4.1- Avantages :

- ☆ Grâce aux pesticides, l'Homme a pu maîtriser ses cultures vivrières, s'échapper à l'envahissement de nombreux parasites.
- ☆ Les pesticides permettent d'accroître les rendements des cultures vivrières et céréalières, et donc de limiter le recours à la déforestation pour trouver des nouvelles terres agricoles et ainsi de prévenir des grandes famines qui ont jalonné l'histoire.
- ☆ L'utilisation des pesticides permet d'empêcher la diffusion de certaines maladies, comme le mildiou, transmises par des champignons parasites (Ministère de l'Agriculture ,2011).
- ☆ Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action.

- ☆ exercer une action sur les processus vitaux des végétaux et des substances nutritives.
- ☆ assurer la conservation des produits végétaux, pour au fassent pas l'objet de dispositions particulières du cons agents conservateurs.
- ☆ détruire les indésirables.
- ☆ détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir u (Cahet *et al.*, 2005).

4.2- Inconvénients :

- ☆ De nombreux pesticides sont toxiques, donc (malformations congénitales ; cancers ; troubles neu immunitaire).
- ☆ Les pesticides ont un impact négatif sur le empoisonnement d'abeilles, d'oiseaux ou de vers de
- ☆ Les pesticides pourraient être responsables d'anon progression régulière des cas d'allergie du fait du résistants.
- ☆ Nombreux de ces produits phytosanitaires sont toxi s'ensuit qu'un produit chimique qui tue une mouch
- ☆ L'emploi répétitif d'un même produit et parfois n de insectes, de maladies des plantes, de mauvaises de ces produits.
- ☆ les nappes d'eau souterraines, les lacs et les riv pesticides stables qui s'accumulent dans le sol.
- ☆ la bio-accumulation peut parfois s'accroître de fa (Ministère de l'Agriculture ,2011).

Partie Pratique

Matériel et Méthodes

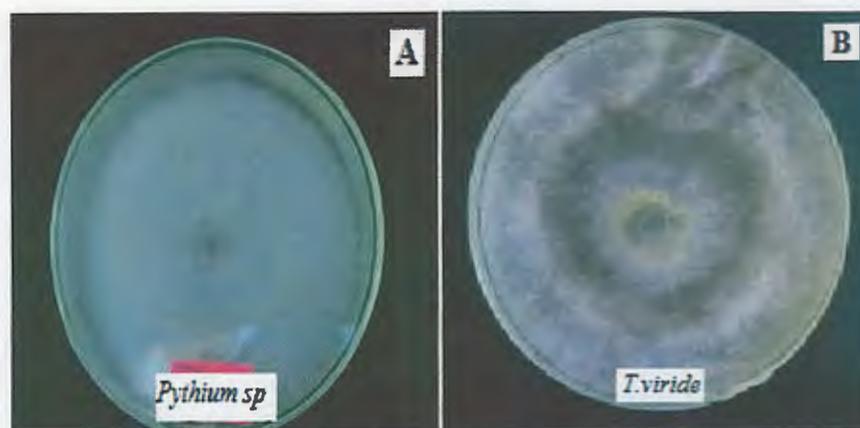
1-Matériel biologique

1.1-L' agent antagoniste :

Les isolats fongiques de biocontrôle utilisés dans cette étude ont divers origines, la souche de *T. viride* a été isolé à partir du sol de la région de Jijel ; Le *Pythium sp* a été isolé à partir des racines de plante de maïs (*zea mays*) cultivé dans la région de Jijel.

L'identification des agents de lutte biologique a été effectuée en basant sur caractères morphologiques (étude macroscopique et microscopique), l'identification est réalisée au laboratoire de Mycologie, Département de microbiologie et biochimie, Université Mentouri Constantine.

Ces isolats sont cultivés à 25° C sur un milieu PDA, Leur conservation à long terme se réalisé à - 4° C dans un glycérol à 20% (Figure 03).



A : *Pythium sp*,

B : *Trichoderma viride*.

Figure 03 : Les isolats fongiques antagonistes,

1.2-L' agent pathogène:

Les deux isolats *Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum* utilisés dans cette étude, ont été obtenu à partir des feuilles de palmier cultivé dans la commune de Oumech (à Biskra). Les deux agents pathogènes sont identifiés au laboratoire de l'écologie, Département de biologie animale et végétale, Université de Jijel.

On a réactivé d'abord les souches ; puis cultivées dans un milieu de culture PDA et incubée à température 25°C pendant 6 jours (Figure 04).

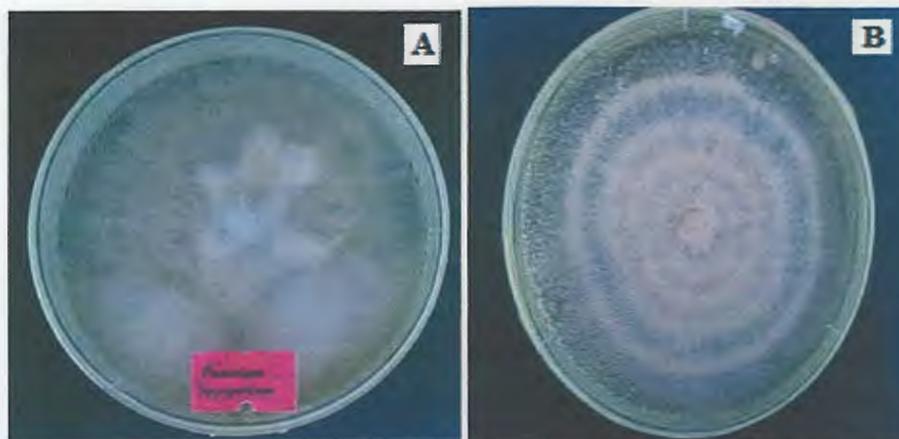
A : *Fusarium oxysporum*,B : *Trichothecium roseum*

Figure 04 : Les isolats fongiques testés.

1.3- Le fongicide :

Le fongicide utilisé est Dividend[®], fongicide des semences et des graines, utilisé contre les ravageurs, charbon, carré, septorium, de forme soluble (Tableau 01).

Tableau 01 : Information sur le fongicide

Nom commercial	Matière active	Dose homologué	Utilisation
Dividend [®]	Difénoconazole 30g/l	20 ml/KMTL de semence	Traitement des semences contre les ravageurs, charbon, fusariose, septoriose.

2-Méthodologie

2.1- Activité antagoniste de *Pythium sp* :

L'activité antagoniste (confrontation) *in vitro* a été étudiée selon, la méthode du contact direct sur milieu de culture (Comporota, 1985).

☆ Activité antagoniste du *Pythium sp.* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* :

Cette technique consiste à placer dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA (200g pomme de terre, 20g D-glucose, 20 g agar, 1L eau distillé, ajuster le pH à 6 et stérilisé le milieu) ;

deux pastilles gélosées (6 mm de diamètre), l'une portant le *Pythium sp pure*. et l'autre *Fusarium oxysporum* pure. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte (Figure 05) ; les repiquages sont effectués en même temps.

L'incubation est réalisée à 25°C pendant six jours. Des notations concernant l'inhibition de la croissance diamétrale des colonies du *Fusarium oxysporum* et leur envahissement par le mycélium du *Pythium sp.* sont effectuées chaque jour jusqu'à le sixième jour.

Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène seul (*Fusarium oxysporum*) au centre de la boîte de pétri qui contient le PDA.

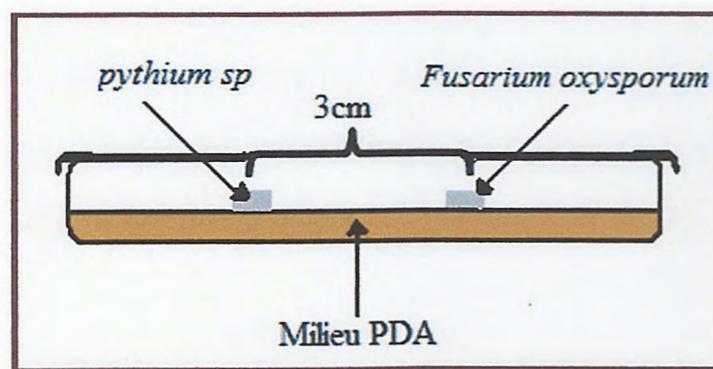


Figure 05: Confrontation directe du *Pythium sp.* et du *Fusarium oxysporum* sur milieu PDA.

☆ **Activité antagoniste du *Pythium sp.* vis-à-vis de *Trichothecium roseum* :**

On a réalisé le même protocole de travail avec la souche de *Trichothecium roseum*.

2.2- Activité antagoniste de *Trichoderma viride* :

☆ **Activité antagoniste de *Trichoderma viride* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* :**

Le test de confrontation entre *T. viride* et la souche de *Fusarium oxysporum* a été réalisé dans des boîtes de pétri contenant un milieu de culture gélosé à base de bouillon de pomme de terre (PDA), deux disques mycéliens de 5mm de diamètre (de chacun des isolats testés pathogène et antagoniste), sont placés de façon diamétralement opposée sur le milieu de culture (Figure 06).

L'incubation est réalisée à 25°C pendant six jours. Des notations concernant l'inhibition de la croissance diamétrale des colonies du *Fusarium oxysporum* et leur envahissement par le mycélium du *Pythium sp.* sont effectuées chaque jour jusqu'à le sixième jour.

Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène seul (*Fusarium oxysporum*) au centre de la boîte de pétri qui contient le PDA.

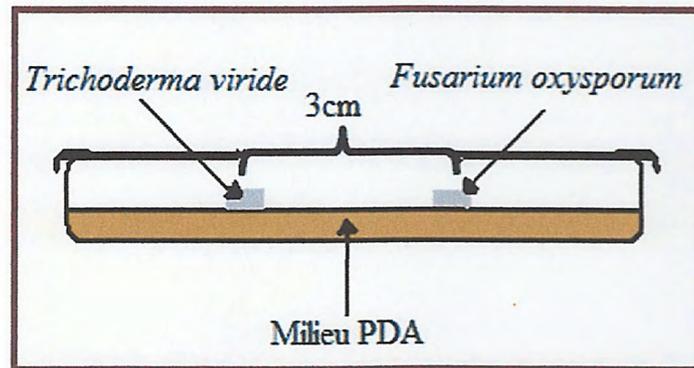


Figure 06: Confrontation équidistante du *Trichoderma viride* et du *Fusarium oxysporum* par contact direct sur milieu PDA.

☆ **Activité antagoniste de *Trichoderma viride* vis-à-vis *Trichothecium roseum* :**

On a réalisé le même protocole de travail avec la souche de *T. viride* et *Trichothecium roseum*.

L'évaluation de l'inhibition exercée par l'agent antagoniste (*pythium sp* ou *Trichoderma viride*) est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (Hmouni *et al.*, 1996) :

$$I (\%) = (1 - C_n/C_o) \times 100$$

Où :

I(%) : est pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.

C_n : est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste.

C_o : le diamètre moyen des colonies témoins.

2-3- Test fongicide- pathogène :

Les choix des concentrations est effectué sur la base d'essais préliminaires et des travaux de certains auteurs (Besri et Diatt, 1985; Hseiang et chastagner, 1991; Wang *et al.*, 1986).

☆ **Test fongicide- *Fusarium oxysporum* :**

Le test est réalisé selon la méthode de Wang *et al.*, (1986). Les fongicides mis en suspension dans l'eau distillé stérile est dilué jusqu'à obtention des concentrations désirées (3000, 300, 30, 3 ppm) sont mis sur disque de papier watman stérile de 5mm de diamètre avec une charge de 1ml par

disque, préalablement déposés sur milieu PDA dans des boîtes de pétri à des distances définies de la souche de moisissure pathogène (*Fusarium oxysporum*) qui est ensemencée par disque gélose au centre des boîtes (Figure 07). Les boîtes sont incubées à une température de 25° C pendant six jours.

Le témoin se fait avec un milieu PDA ne contenant pas les disques imbibés par le fongicide, et contient seulement la souche pathogène.

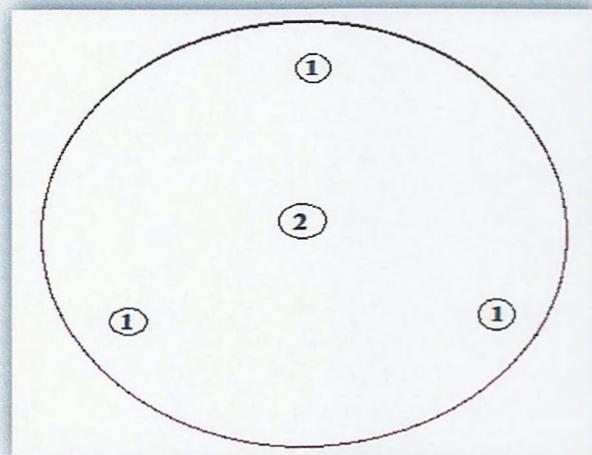


Figure 07 : Teste d'antagonisme par l'effet des disques imbibés

Avec :

- 1- disque de papier watman stérile imbibé par le fongicide.
- 2- la souche de moisissure pathogène (*Fusarium oxysporum*).

☆ Test fongicide - *Trichothecium roseum* :

Le même protocole a été réalisé avec la souche de *Trichothecium roseum*.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne pour chaque concentration est calculé selon la formule suivante (Wang *et al.*, 1986) :

$$I (\%) = 100 \times (A - B) / A$$

Où :

- I(%)** : est pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne.
- A** : le diamètre moyen des colonies témoins.
- B** : est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste.

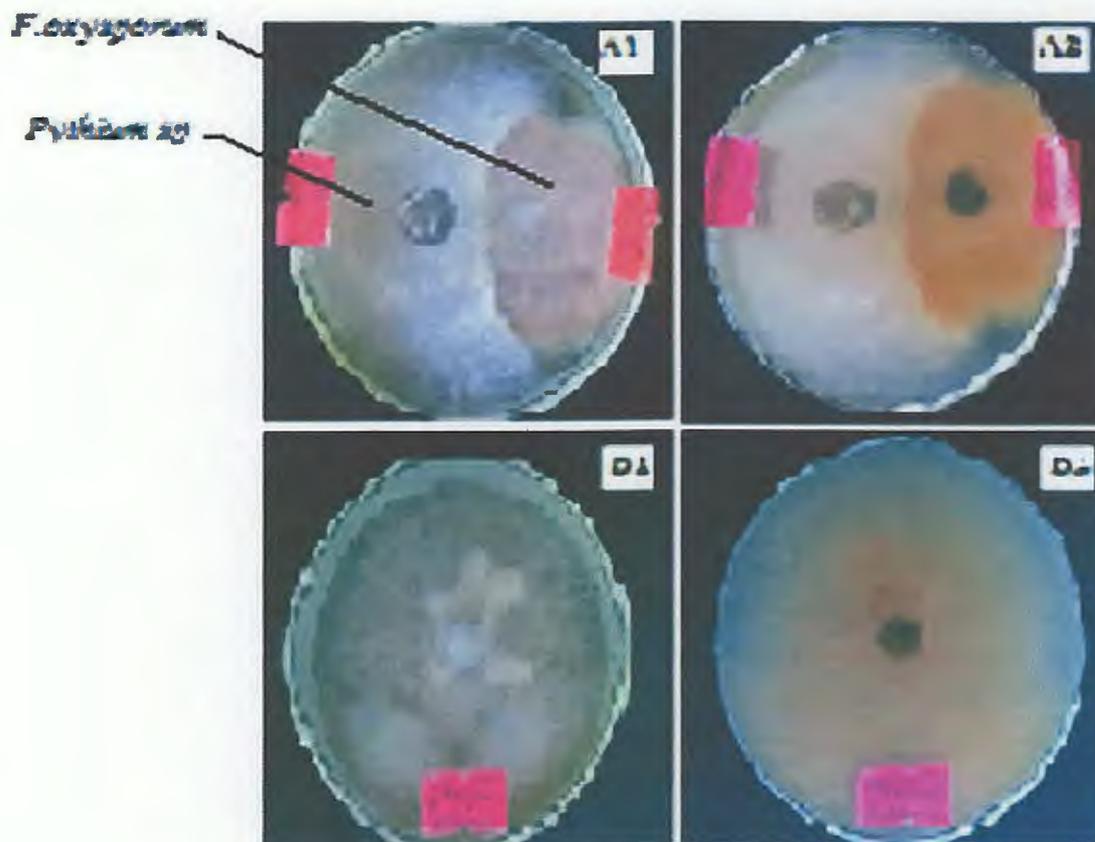
Résultats et discussions

L'objectif de cette étude sera de mettre au point de tester la capacité de chaque antagoniste de réprimer la croissance du différent isolat confronté. Pour la raison de sélectionner une souche efficace de lutte biologique. L'action positive de ces antagonistes a été étudiée sur les isolats fongiques : *Trichothecium roseum* et *Fusarium oxysporum*. Le test de confrontation directe montre un effet inhibiteur de *Trichoderma viride* et de *Pythium sp* sur les deux isolats testés.

1- Activité antagoniste de *Pythium sp*

☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre *Pythium sp.* et *Fusarium oxysporum* :

Le repiquage simultané de *Pythium sp.* et *Fusarium oxysporum* a montré une croissance plus rapide de *Pythium sp.* que le *Fusarium oxysporum* (Figure 08 B).



A1, A2 : Colonie de *F. oxysporum* en présence de *Pythium sp.*,

B1, B2 : Témoin de *F. oxysporum*,

Figure 08 : Effet inhibiteur par confrontation directe du *Pythium sp.* sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* ; pour une durée d'incubation de six jours à 25° C, (A1, B1 recto; A2, B2 verso).

Au bout de six jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, qui est le *Pythium* sp. avec une vitesse de croissance remarquable, il présente un aspect arachnoïde avec un mycélium aérien de couleur blanchâtre.

Après trois jours d'incubation, *Fusarium oxysporum* occupe une surface de 36 mm de diamètre par rapport au témoin qui occupe une surface de 43 mm de diamètre.

La souche de *Fusarium oxysporum*, n'occupent qu'une surface de 45 mm de diamètre après six jours d'incubation; avec un mycélium plus au moins aérien de couleur rose clair (Figure 08 B) et un taux de croissance faible par rapport au témoin. Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 46 % (Fig 08, 09), (Tab 02). Le témoin de *Fusarium oxysporum* cultivé seul occupe une surface d'environ 84 mm de diamètre au bout de 6 jours (Fig 08 A).

Tableau 02: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de *Fusarium oxysporum* en présence de *Pythium* sp comparativement au témoin non traité :

Jours	Diamètre moyen de (<i>Fusarium oxysporum</i>) (mm)	Diamètre moyen de Témoin (mm)	Pourcentage d'inhibition (%)
1	13,5	15.5	12.90
2	23	27	14.81
3	36	43	16.27
4	43	57	24.56
5	45	72	37.5
6	45	84	46.42

Après 10 jours d'incubation à 25° C, la sporulation de *Pythium* sp se fait sur la colonie du *Fusarium oxysporum* avec l'augmentation de la zone d'inhibition (Figure 10). Et le début de la lyse mycélienne du champignon pathogène qui est en contacte avec la souche de *Pythium* sp .

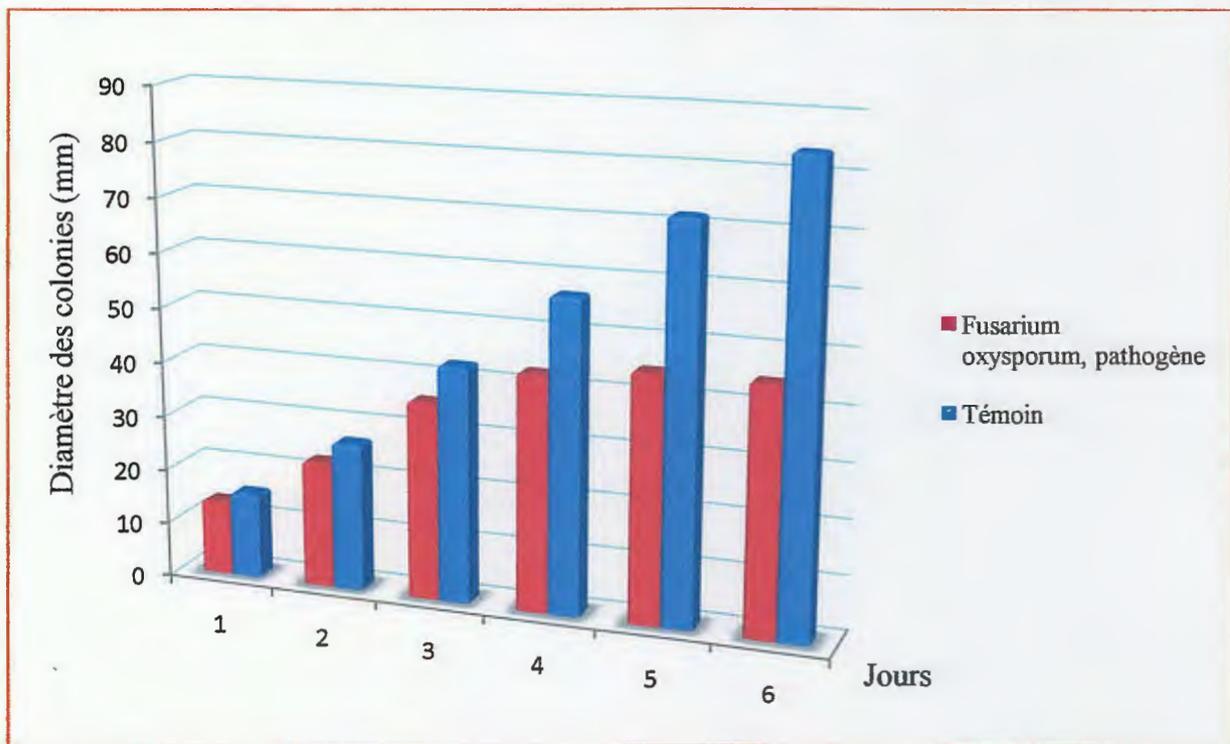
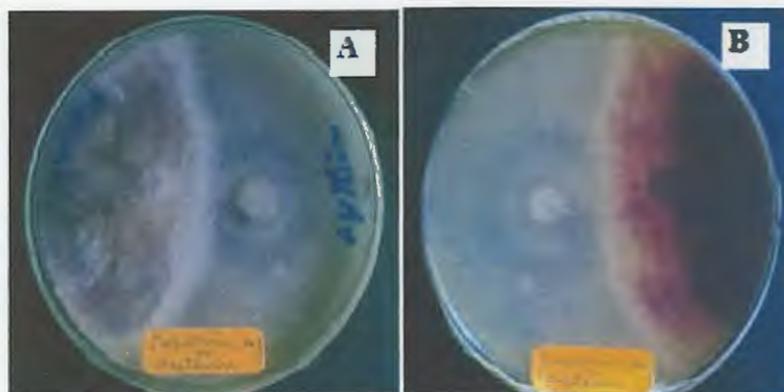


Figure 09 : Comparaison entre le développement mycélien du *Fusarium oxysporum* traité par confrontation directe avec le *Pythium sp* et leur témoin.



A : recto,

B : verso

Figure 10 : sporulation du *pythium sp* sur la colonie de *Fusarium oxysporum*, après 10 jours d'incubation à 25° C.

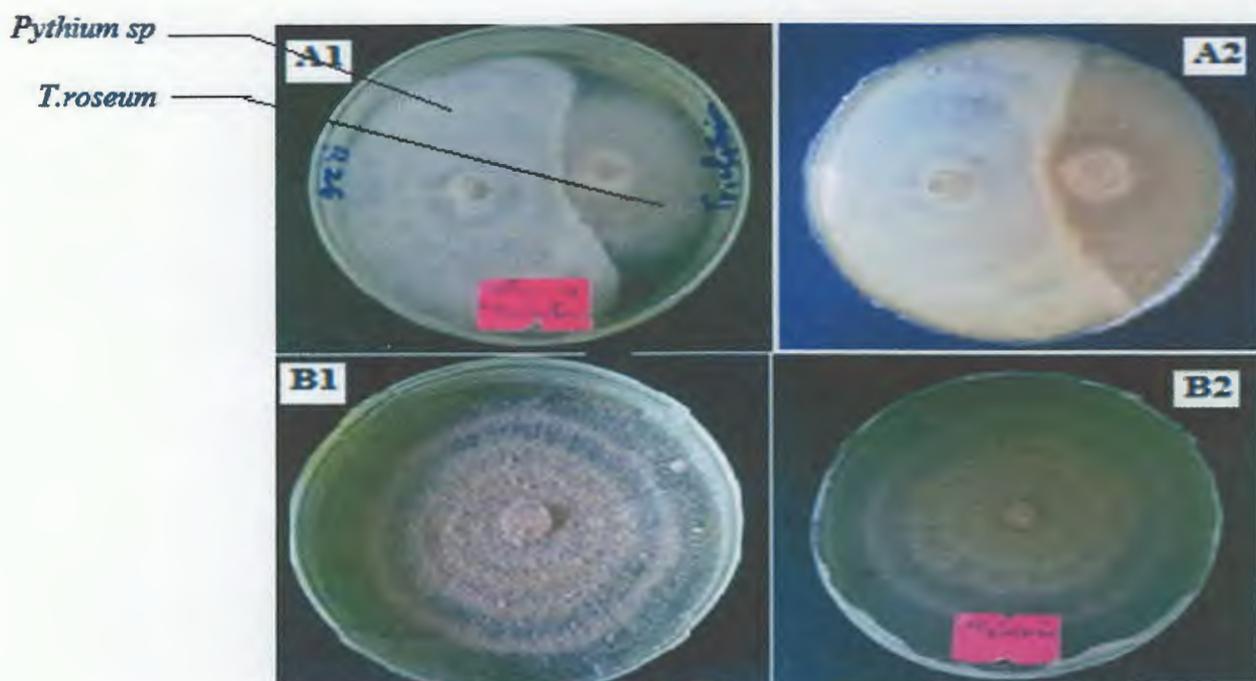
☆ **Confrontation directe sur milieu de culture entre *Pythium sp.* et *Trichothecium roseum* :**

Cette technique (confrontation directe) nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur en direct de *Pythium sp.* exercé sur le *Trichothecium roseum*.

Cet effet est évalué par la mesure des diamètres moyens des colonies de ce dernier cultivé en présence et en absence de l'antagoniste. Et grâce à cette technique on a remarqué que la vitesse de croissance du *Pythium sp.* est très grand par rapport à l'agent pathogène (*Trichothecium roseum*) avec un mycélium aérien de couleur blanchâtre qui envahie presque toute la boîte au bout de 6 jours aux maximum.

Alors que, *Trichothecium roseum*, n'occupent qu'une surface de 41 mm de diamètre ; avec un mycélium dense de couleur rose clair et un taux de croissance faible par rapport au témoin après 6 jours d'incubation à 25° C .Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 33% (Figure 11, 12), (Tableau 03).

Le témoin de *Trichothecium roseum* cultivé seul occupe une surface d'environ 69 mm de diamètre au bout de 6 jours (Figure 11A).



A1, A2 : Colonie de *Trichothecium roseum* en présence de *Pythium sp.*

B1, B2 : Témoin de *Trichothecium roseum*

Figure 11 : Effet inhibiteur par confrontation directe du *Pythium sp.* sur la croissance mycélienne du *Trichothecium roseum* ; pour une durée d'incubation de six jours à 25 °C.

Tableau 03: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de *Trichothecium roseum* en présence de *Pythium sp* comparativement au témoin non traité :

Jours	Diamètre moyen de (<i>Trichothecium roseum</i>) (mm)	Diamètre moyen de Témoin (mm)	Pourcentage d'inhibition %
1	11.5	12.5	8
2	18.5	22.5	21.27
3	28	36.5	23.28
4	35	44.5	21.34
5	41	59	30.50
6	41	69	40.57

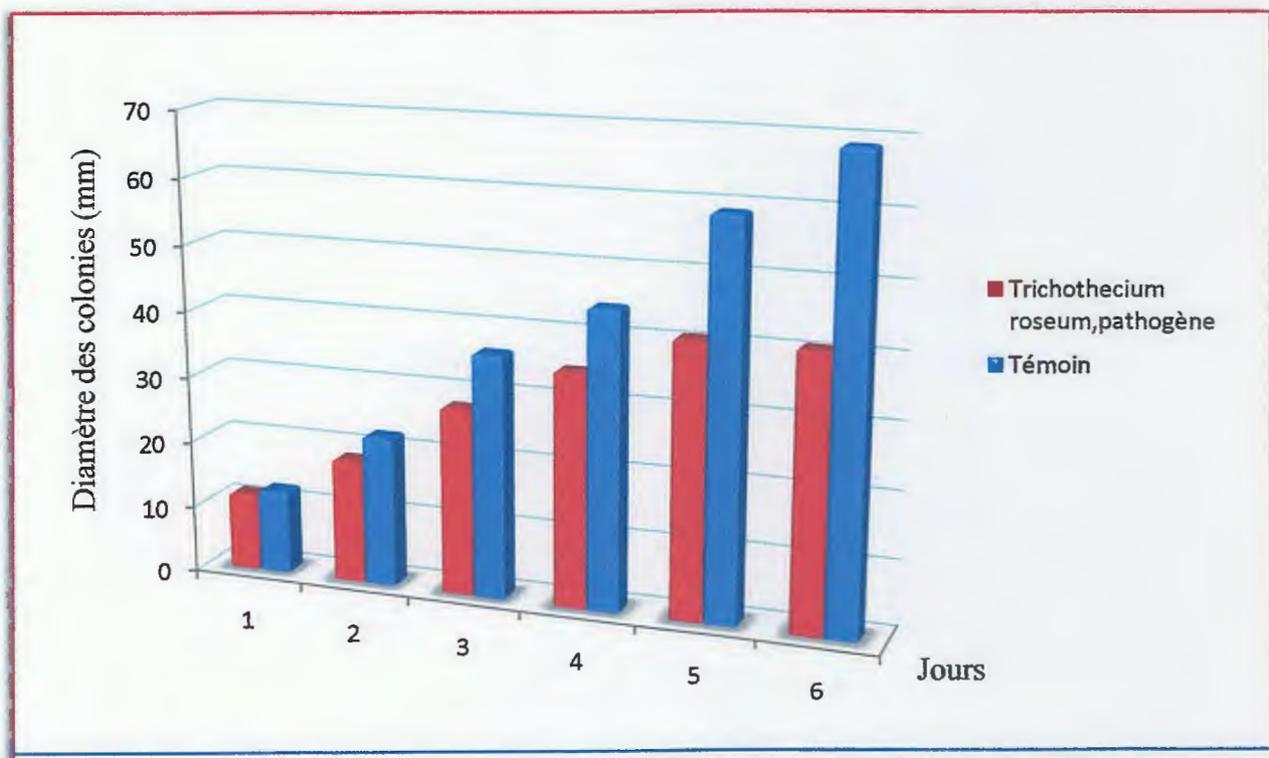


Figure 12 : comparaison entre le développement mycélien du *Trichothecium roseum* traité par confrontation direct avec le *pythium sp* et leur témoin.

Donc à l'aide des résultats obtenus du témoin, on peut dire que *Trichothecium roseum* à eu une vitesse de croissance relativement importante, atteignant son maximum de croissance au bout de 6 jours d'incubation. Mais à la présence d'agent antagoniste (*Pythium sp.*) en remarque que cette vitesse est vraiment diminué avec un pourcentage d'inhibition = 40.57%.

Les résultats obtenus montrent que le *Pythium sp.* réduit significativement la croissance mycélien du *Fusarium oxysporum* et de *Trichothecium roseum* ; et que la sensibilité de *Fusarium oxysporum* à l'effet inhibiteur du *Pythium sp.* et plus grande que la sensibilité du *Trichothecium roseum*.

La vitesse d'inhibition du *Pythium sp.* est très grand par rapport aux autres genres de champignons ; comme c'était prouvé par les travaux de Daami-Remadi et El Mahjoub (2001) ; qui on testé *Trichoderma harzianum* comme agent de lutte biologique contre quelque espèce de *Fusarium* ; ils ont trouvé qu'il y'a un effet inhibiteur mais avec une vitesse long, par rapport à la vitesse de croissance du *Pythium sp.*

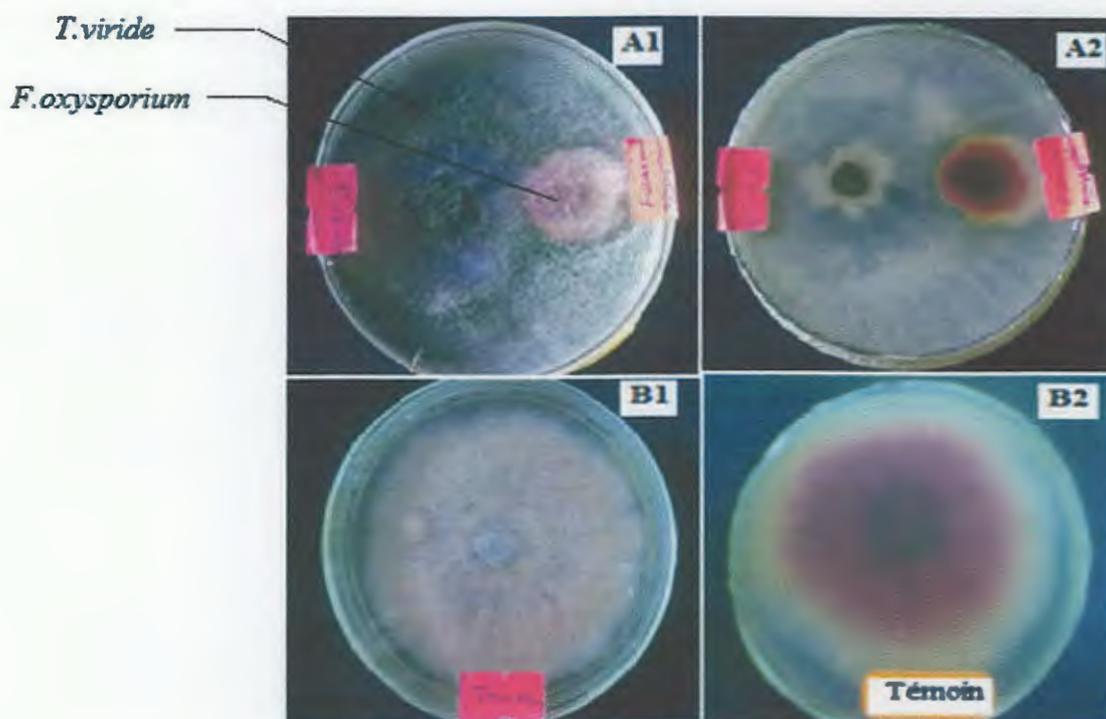
D'après Le Floch et al., (2006) *Pythium* peut entrer en compétition pour l'espace et les nutriments avec la flore endogène.

2- Activité antagoniste de *Trichoderma viride*

☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre *Trichoderma viride* et *Fusarium oxysporum* :

L'étude de la croissance mycélienne des colonies de *Fusarium oxysporum* confrontées par la souche de *Trichoderma viride* montre une réduction importante de la croissance par rapport au témoin (Figure 12).

Le repiquage simultané de *Trichoderma viride* avec *Fusarium oxysporum* a montré une croissance plus rapide de *T. viride* que l'isolat de *Fusarium oxysporum*. Au bout de 3 jours d'incubation, la boîte est presque totalement envahie par *T. viride*, alors que le *Fusarium oxysporum* n'occupe que 23.5 mm de diamètre. La croissance du *Fusarium oxysporum* est stoppée au cours du quatrième jour, et un taux de croissance faible par rapport à *Trichoderma viride*, ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 63 % (Fig 12, 13) (Tab 04).



A1, A2 : Colonie de *F.O* en présence de *Trichoderma viride*

B1, B 2 : Témoin de *F.O*.

Figure 13 : Effet inhibiteur par confrontation directe du *T. viride* sur la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* après 72 heures d'incubation à 25 °C.

(A1, B1 recto; A2, B2 verso).

Tableau 04: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de *Fusarium oxysporum* en présence de *Trichoderma viride* comparativement au témoin non traité :

Jours	Diamètre moyen de (<i>Fusarium oxysporum</i>) (mm)	Diamètre moyen de Témoin (mm)	Pourcentage d'inhibition %
1	13,5	15.5	12.90
2	21	24	12.5
3	23.5	39	39.74
4	26	55	52.72
5	26	65	60
6	26	71	63.83

Le témoin du *Fusarium oxysporum* cultivé seul occupe une surface d'environ 71 mm de diamètre au bout de 6 jours d'incubation ; avec un mycélium aérien de couleur rose clair, les premiers jours de son développement ; puis prend une couleur rose-vermillon (Figure 13 B).

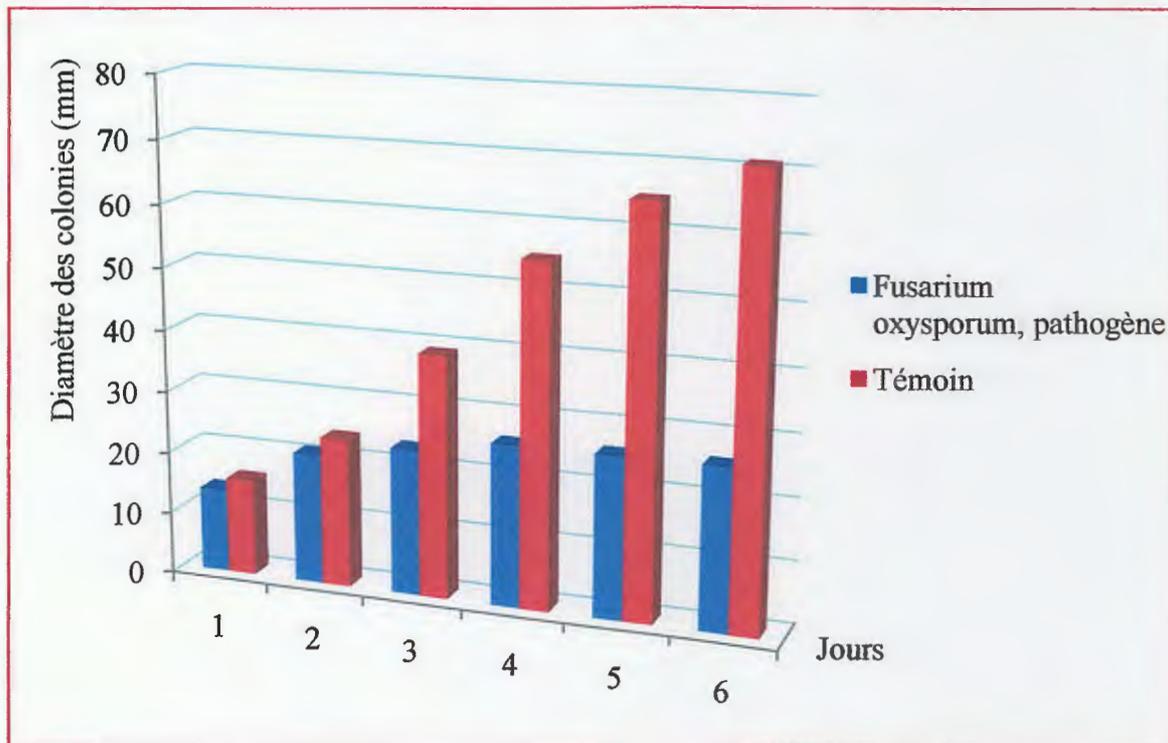


Figure 14: comparaison entre le développement mycélien du *Fusarium oxysporum* traité par confrontation directe avec le *Trichoderma viride* et leur témoin.

Après 10 jours d'incubation, on peut observer la sporulation de *Trichoderma viride* au dépôt de la souche du *Fusarium oxysporum*. D'après Comporata (1985), cette interprétation favorise l'action des enzymes (β 1-3) gluconase- chitinase qui conduisent à la lyse du mycélium du parasite. (Figure 15).



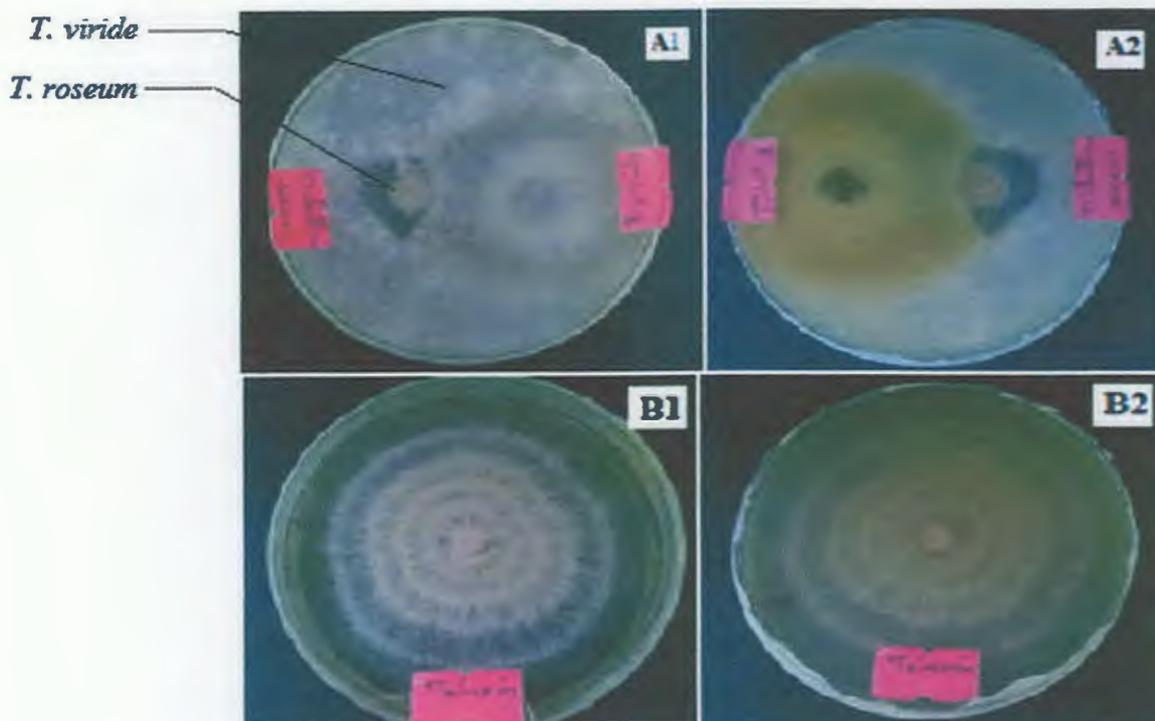
Figure 15 : la sporulation du *Trichoderma viride* sur la souche de *Fusarium oxysporum* après 10 jours d'incubation à 25° C sur milieu PDA.

☆ Confrontation directe sur milieu de culture entre *Trichoderma viride* et *Trichothecium roseum* :

Après trois jours de confrontation, l'inhibition de la vitesse devient forte et la croissance mycélienne de *Trichothecium roseum* devient nulle avec un diamètre moyen de colonie 21 mm comparativement au témoin avec 29 mm, A partir de quatrième jours, on note une disparition progressive du mycélium de *Trichothecium roseum*.

La croissance du *Trichothecium roseum* est stoppée au cours du quatrième jour, et un taux de croissance faible par rapport au témoin qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 63 % (Figure 16, 17), (Tableau 05).

Le témoin du *Trichothecium roseum* cultivé seul occupe une surface d'environ 71 mm de diamètre; avec un mycélium aérien de couleur rose clair (Figure 16 B1, B2).



A1, A2 : Colonie de *Trichothecium roseum* en présence de *T. viride*

B1, B 2 : Témoin.

Figure 16: Effet inhibiteur par confrontation directe du *Trichoderma viride* sur la croissance mycélienne du *Trichothecium roseum* après 72 heures d'incubation à 25 °C.

(A1, B1 recto; A2, B2 verso).

Tableau 05: Les diamètres moyens (en mm) des colonies de *Trichothecium roseum* en présence de *Trichoderma viride* comparativement au témoin non traité :

Jours	Diamètre moyen de (<i>Trichothecium roseum</i>) (mm)	Diamètre moyen de Témoin (mm)	Pourcentage d'inhibition %
1	12	13.5	11.11
2	19	21.5	11.62
3	21	29	27.58
4	21	41	48.78
5	21	51	58.52
6	21	57	63.15

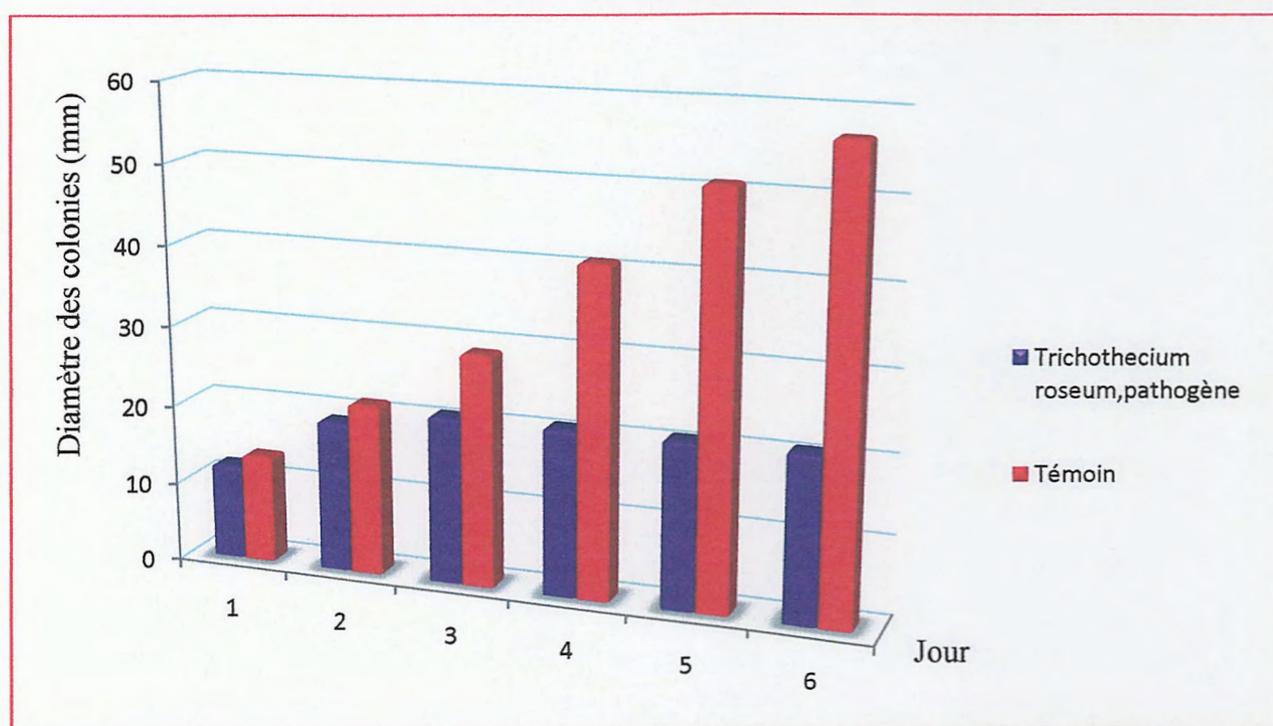


Figure 17 : comparaison entre le développement mycélien du *Trichothecium roseum* traité par confrontation direct avec le *Trichoderma viride* et leur témoin.

Trichoderma est un champignon qui colonise naturellement les sols et les racines des plantes avant les phytopathogènes, il peut jouer un rôle prédominant dans la santé des plantes (Gams et Bissett, 1998).

Les différents chercheurs ont rapporté l'activité antagoniste de différents isolats de *Trichoderma* contre les mycètes phytopathogènes tel que *R. solani*, *Fusarium oxysporum* et *Sclerotium rolfsii* (Eslaminejad Parizi et al., 2012).

Cundom et al. (2000) ont observé l'envahissement de la colonie du pathogène par *Trichoderma harzianum*, en réalisant une compétition *in vitro* entre cet antagoniste et *Sclerotina sclerotium*, aussi Benhamou et Chet 1997 ont réalisé une confrontation directe entre *Trichoderma harziunum* et un champignon tellurique *Fusarium oxysporum* sur un milieu de culture (PDA).

Au même sens, Les tests de confrontation directe réalisés *in vitro*, entre les isolats de *Trichoderma sp*, et de *Phytophthora palmivora* mettent en évidence une action inhibitrice de *Trichoderma* sur *P. palmivora* en culture mixte (Bendahmane et al., année).

Après trois jours de confrontation, l'inhibition de la vitesse devient très forte et la croissance de *P. palmivora* devient pratiquement nulle. La capacité de *Trichoderma* à bloquer la croissance mycélienne de *P. palmivora* révèle (Bendahmane, année).

Au bout de six jours la colonie de *Trichoderma viride* recouvre complètement les colonies de ces parasites sur lesquelles elle sporule, *Trichoderma viride* a montré un pouvoir antagoniste ; qui est la capacité d'arrêter à distance le développement du pathogène *Trichoderma sp2*, *Verticillium sp* (Bouziane et al., 2011).

Par ailleurs Pates et al., (1999) ont constaté que la souche de *Trichoderma viride* a une activité importante de sécréter des enzymes à fin d'attaquer ou supprimer les mycotoxines synthétisé par les phytopathogènes.

3- Résultats du Test fongicide-agent pathogène

☆ Fongicide-*Fusarium oxysporum* :

La réduction de la croissance mycélienne est faible à moyenne pour les différentes concentrations du fongicide (Fig 18,19), (Tab 06). Les pourcentages d'inhibition varient entre (16.40 et 64.95)% .

Au bout du 4^{ème} d'incubation la croissance mycélienne de la souche traitée par 3000 ppm et 300 ppm stoppée avec diamètre moyen correspond à 18.5 et 27 mm, alors que l'inhibition apparaît

après 5 jours d'incubation pour le traitement par 30 ppm et 3 ppm avec diamètre moyen de 42 mm et 51 mm.

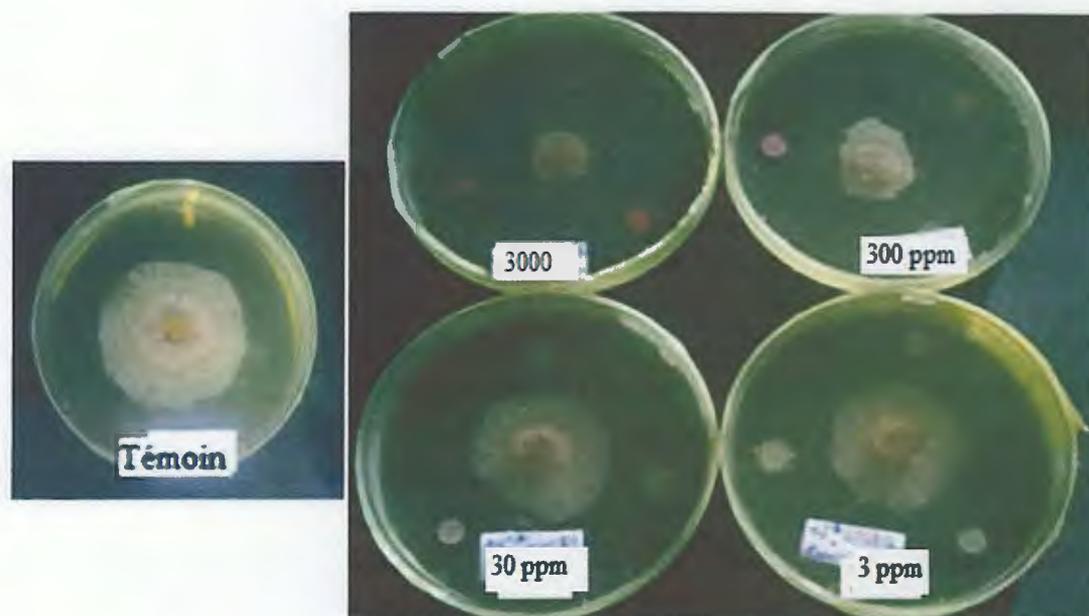


Figure 18 : effet des différentes concentrations du fongicide sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* après 4 jours d'incubation à 25° C.

Tableau 06 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de *Fusarium oxysporum* traités par le fongicide (différentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation.

Difénoconazole (ppm)							Diamètre moyen	(%) d'inhibition
	1 ^{er} jour	2 ^{ème} jour	3 ^{ème} jour	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour		
3000	13.5	15	17.5	18.5	18.5	18.5	16.91	64.95
T1	14	23	45	61	69	77.5	48.25	
300	14	20	23.5	27	27	27	23.08	52.65
T2	14.5	23	44	63	70	78	48.75	
30	14	23	31	41	42	42	31.16	35.19
T3	14.5	25	42	61	69	77	48.08	
3	14	24.5	35	49	51	51	37.41	16.40
T4	14	24	43.5	64	71	79	44.75	

La concentration nécessaire pour inhiber 50% de la croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* est la concentration 300 ppm du fongicide utilisée (Tableau 06).

Le témoin du *Fusarium oxysporum* cultivé seul occupe une surface de 79 mm de diamètre au bout de 6 jours d'incubation (Figure 18).

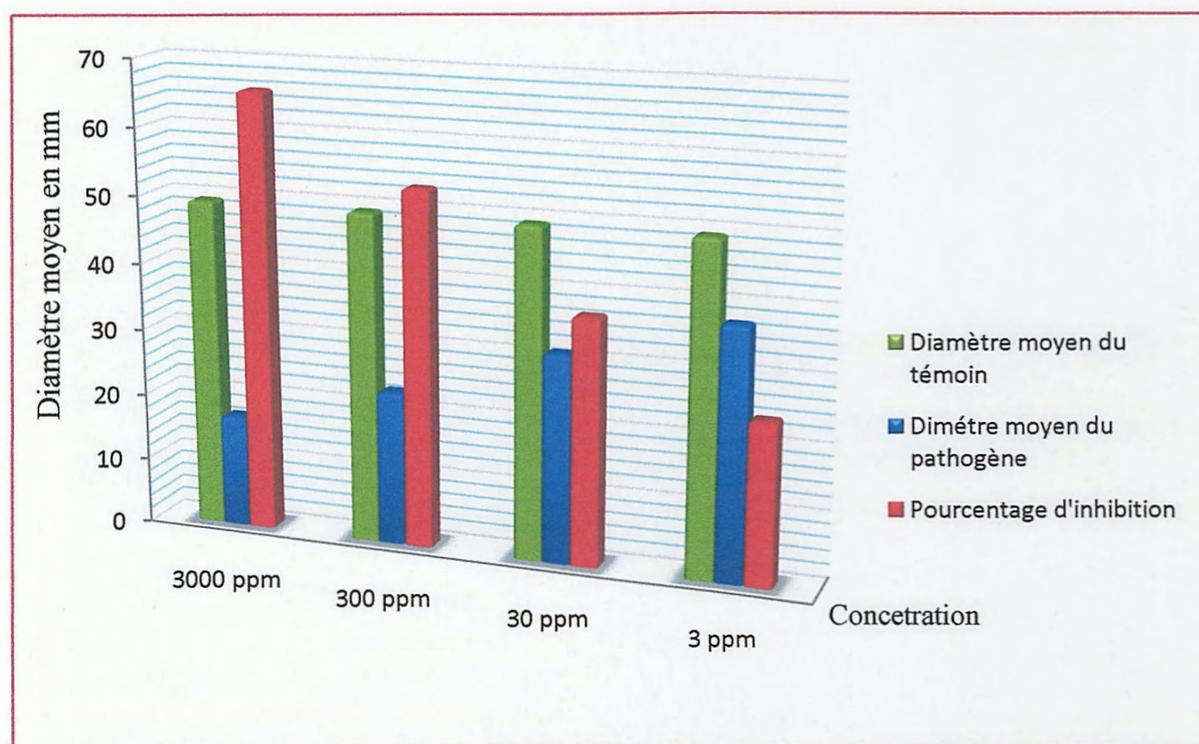


Figure 19 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de *Fusarium oxysporum* traités par le fongicide (différentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation.

☆ Fongicide- *Trichothecium roseum*:

L'activité du Diféconazole sur la croissance mycélienne du *Trichothecium roseum* est montrée dans le Tableau 07 et les Figures 20 et 21.

Le pourcentage d'inhibition de fongicide est faible à moyen comprise entre 30.86 et 60.34%, la croissance mycélienne arrêtée au 5^{ème} jour d'incubation pour toutes les concentrations du difénoconazole utilisé (Tab 07). La concentration nécessaire pour inhiber 50% de croissance mycélienne est de 3000 ppm.

Le témoin cultivé seul occupe une surface moyenne de 72 mm après 6 jours d'incubation à 25° C (Fig 20).

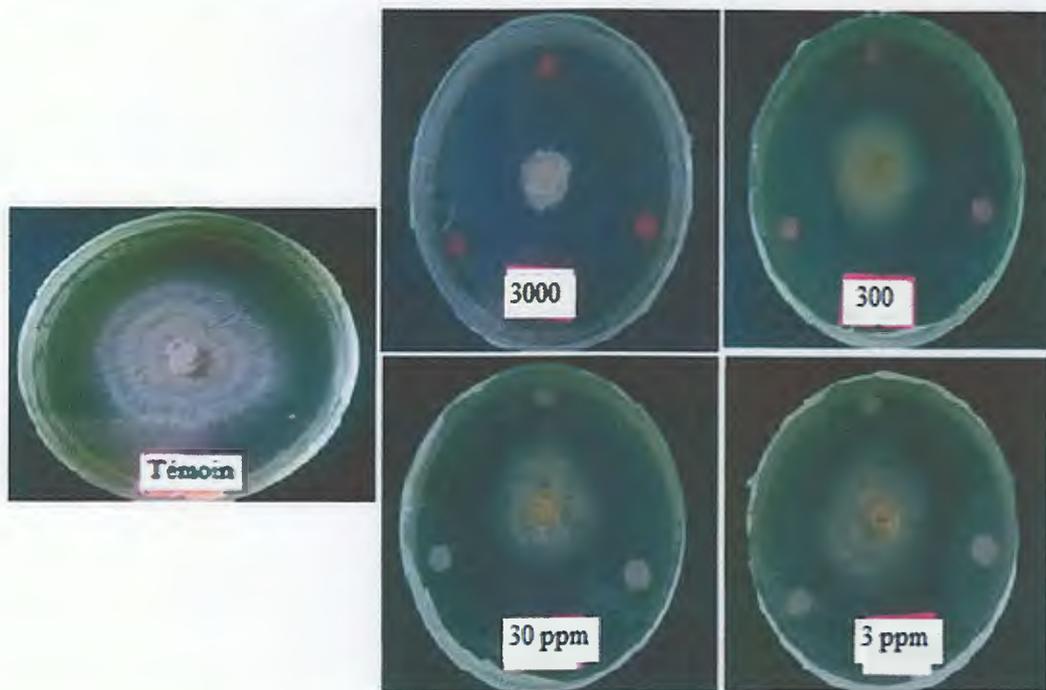


Figure 20: effet des différentes concentrations du fongicide sur la croissance mycélienne de *Trichothecium roseum* après 6 jours d'incubation à 25° C.

Tableau 07 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de *Trichothecium roseum* traités par le fongicide (différentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation.

Difénoconazole (ppm)	1 ^{er} jour	2 ^{ème} jour	3 ^{ème} jour	4 ^{ème} jour	5 ^{ème} jour	6 ^{ème} jour	Diamètre moyen	(%) d'inhibition
3000	11.5	14.5	17.5	20	21	21	17.58	60.34
T1	11	22	43	56	61	73	44.33	
300	11.5	17.5	24	30	32	32	24.5	44.63
T2	11.5	24	41	55	62	72	44.25	
30	11.5	18	29	35	36	36	27.58	37.54
T3	12	21	41	56	64	71	44.16	
3	11.5	18	33	39	42	42	30.91	30.82
T4	11.5	23	42	57	63	72	44.75	

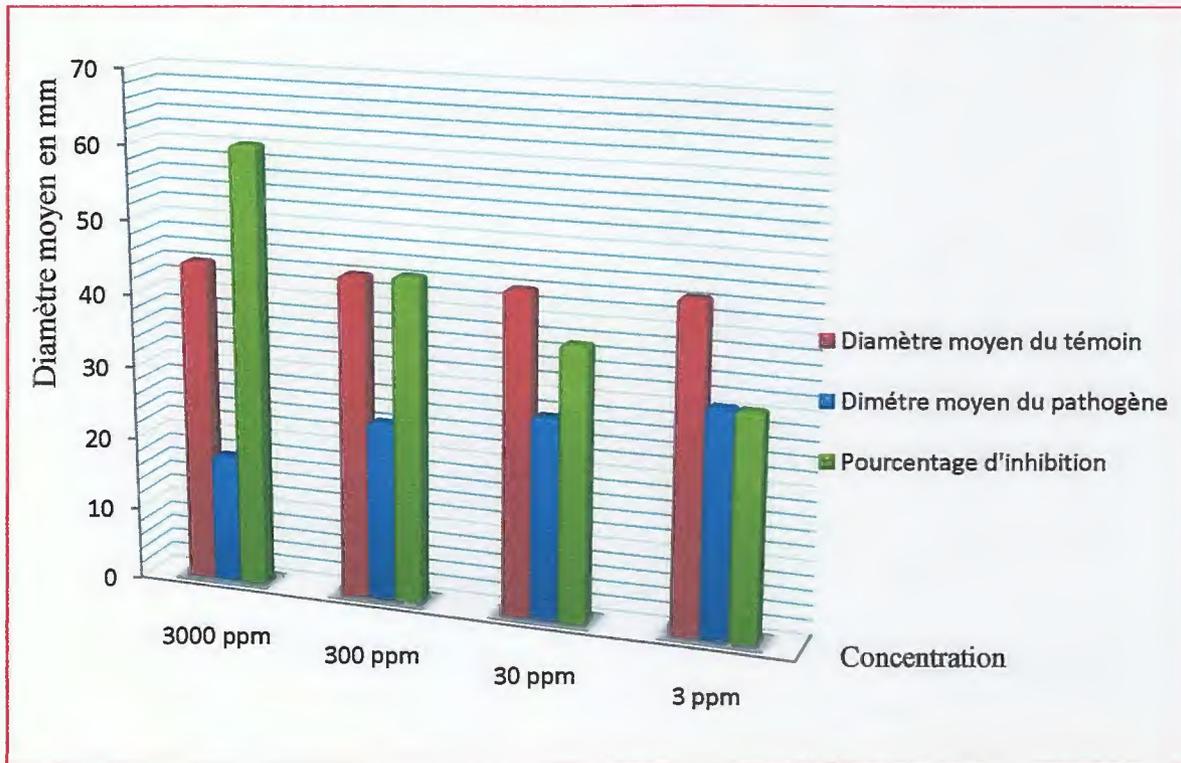


Figure 21 : Diamètre moyen des colonies (en mm) de *Trichothecium roseum* traités par le fongicide (avec les différentes concentrations) et taux d'inhibition après 06 jours d'incubation.

L'inhibition est totale pour les deux isolats à 3000 ppm de difénoconazole. On note des réponses variables des isolats aux autres concentrations. Où l'inhibition de 50% de la croissance mycélienne pour *Fusarium oxysporum* est 300 ppm par rapport à 3000 ppm pour *Trichothecium roseum* donc ce dernier est plus résistant que *Fusarium oxysporum* (F.O est plus sensible) au difénoconazole) (Tab 06, 07). Ce qui pose la problématique de résistance aux fongicides et l'efficacité de ces derniers.

Les fongicides constituent un des moyens de lutte contre les champignons phytopathogènes et doivent contribuer (Leroux, 2003b). Martin et Sanderson 1998 ont montré que les fongicides systémiques telles les triazoles et difénoconazole sont efficaces contre plusieurs maladies des céréales.

Conclusion

Conclusion

Notre travail est constitué de deux parties : lutte biologique et lutte chimique. La première partie est l'étude de l'effet fongique in vitro des champignons antagonistes peuvent être utilisés en lutte biologique (*Pythium sp* et *Trichoderma viride*) contre deux champignons pathogènes des plantes (*Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum*).

Quand l'un de ces deux pathogènes est confronté d'une façon directe sur milieu de culture ; d'un côté avec *Pythium sp*, nous avons remarqué un arrêt du mycélium et la formation d'une zone d'inhibition impliquant la sécrétion des substances antibiotiques diffusant dans le milieu de culture. On montre aussi que l'efficacité de *pythium sp* est remarquable sur la souche de *Fusarium oxysporum* avec un pourcentage d'inhibition plus de 46% alors que leur pourcentage d'inhibition vis-à-vis de *Trichothecium roseum* est inférieur par rapport au *Fusarium oxysporum* (40%).

D'autre côté avec *Trichoderma viride*, le test a révélé l'activité vis-à-vis des deux pathogènes par l'inhibition de ses croissances mycéliennes. Le pourcentage d'inhibition qui a été observé sur les deux isolats fongiques est presque le même (*Fusarium oxysporum* : 63,83% ; *Trichothecium roseum* : 63,15%).

La deuxième partie, est l'effet in vitro de difénoconazole (lutte chimique) contre les deux isolats fongiques qui a varié selon la concentration et la sensibilité des agents pathogènes et aussi l'efficacité du fongicide. La concentration inhibitrice de 50% de la croissance mycélienne obtenue est 3000 ppm pour *Trichothecium roseum* et 300 ppm pour *Fusarium oxysporum* donc ce dernier est plus sensible que la souche de *Trichothecium roseum*.

D'après nos travaux in vitro de l'étude comparative entre l'efficacité de la lutte biologique ou l'utilisation de deux champignons antagonistes (*pythium sp* et *Trichoderma viride*) et la lutte chimique par le difénoconazole, on peut dire que les deux méthodes de lutte possèdent une grande efficacité d'inhibition de la croissance mycélienne des souches pathogènes (*Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum*).

Mais ce travail manque d'une autre partie faite in vivo pour déterminer la comparaison réelle entre les deux méthodes de lutte ce qui présente les inconvénients de chaque méthode tel que :

- ☆ La capacité d'adaptation avec les conditions biotiques et abiotiques pour les agents de lutte biologique.
- ☆ Et les effets secondaires sur l'environnement (résistance, persistance et la toxicité) pour la lutte chimique.

Perspective :

La réalisation de ce mini projet a permis d'enrichir nos connaissances en lutte biologique et lutte chimique; et nous pouvons nous permettre de fixer ces points comme perspectives :

- ☆ L'application des tests in vitro accomplir par des tests in vivo.
- ☆ L'élargissement de la gamme des espèces étudiés afin d'approfondir les résultats et pour arriver à comprendre bien les interactions entre les espèces.
- ☆ Etudier les effets secondaires de la lutte chimique sur l'environnement et la santé humaine surtout.
- ☆ L'application des tests in vivo ; avec des conditions et des paramètres de développement qui se s'diffèrent qu'in vitro.
- ☆ Fait une vraie comparaison entre les deux méthodes soumis à des conditions réelles.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

1. Ahmed SI et Leather SR, (1994). Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management - some points for consideration. *Intern J. Pest Management* 40: 287-292.
2. Agrios GN, (2005). *Plant Pathology*. 5^{ème} édition. Académie Press. San Diego. 922 pages.
3. Anderson J, Martin J, Mullen P, Romans S, Herbison P. (1993). Prevalence of childhood sexual abuse experiences in a community sample of women *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 32(5):911-919.
4. André Lévesque C, et WM de Cock A. (2004). « Phylogénie moléculaire et taxonomie du genre *Pythium* ». *Mycological Research* 108 (12): 1363-1383. Doi: 10.1017/S0953756204001431. Disponible sur «<http://en.wikipedia.org/wiki/Pythium>»
5. Anonyme1. (Année). Un article de Wikipédia, l'encyclopédie libre. Référence NCBI : *Pythium* (en) <http://fr.wikipedia.org/wiki/Pythium>
6. Anonyme 2. (2007). *Pythium oligandrum* DV 74 (028816) Fact sheet; Technical Document (PDF); Issued: May 7, 2007. Information related to this page : www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_028816.pdf

-B-

7. Bendahmane BS, Yousef Benkada M et Mahiout Dj. (année). Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Botrytis fabae* Sard. et de *Botrytis cinerea* Pers. 30.
8. Benhamou N, Rey P, Cherif M, Hockenull J et Tirilly Y. (1997). Treatment with the mycoparasite *Pythium oligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporium* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology* 87, p.108-121.
9. Bernard JL. (2007). Le soufre et la protection des cultures. hier, aujourd'hui, demain. Académie d'Agriculture de France.
10. Bernard DAL, (1994). Role of *pythium* spp. In the development of cavity rot on carrot in the Fraser valley of British Columbia. master of science. Simon Fraser University. 107.
11. Besri H et Diatt F. (1985). Resistance de *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise de la Tomate aux benzimidazole dicarboxamides et sulfamides-bull. *oE* 15(3), pp.379-386.
12. Bissett J. (2004), Commentaires de l'adresse internet suivante : http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html.
13. Boiron Ph. (1996). Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. Sous la direction de Eric Périlleux, P : 98. ISBN : 2-09-19044-0

14. Bosseur S, Colas P, Malveau E, Nowacki C. (2001). Les fongicides. Université de Pau et des Pays de l'Adour. 36p.
15. Botton B, Breton A, Fevre M, Guy PH, Larpeni JP et Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. [en ligne]. 2^{ème} Edition Massan. 512 pages. Disponible sur <http://books.google.fr/books?id=mxvyAAAACAAJ&dq=éditions>.
16. Boullard B. (1990). Guerre et paix dans le règne végétal. Edition marketing, Paris. Pp. 45-47. ISBN: 2-7298-9033-5.
17. Bouziane Z, Dehimat L, Abdelaziz W, Kacem chaouche N. (2011). La compétition de *Trichoderma viride* vis-à-vis des souches fongiques Pathogènes de plante *zea mays* Université Mentouri Constantine – Algérie.33.
18. Bye P, Descoins C et Deshayes A. (1991). Un point sur... Phytosanitaires protection des plantes biopesticides, INRA, Paris, pp 147. ISBN : 2-7380-0353-2.

-C-

19. Canning EU. (1982). An evaluation of protozoal characteristics in relation to biological control pests. *Parasitology*. 84, 119-49.
20. Caron J. (2002), Phytopathologiste Horti-Protection inc. conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi.
21. Caron J et Laverdière L. (2006). Recherche et développement de biopesticides et pesticides naturels à faible toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement. Rapport final Volet Phytopathologie. Université Laval, Présenté au Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec.
22. Carlile MJ, Watkinson SC et Gooday GW. (2001). The Fungi. 2^{ème} édition. Académie Press, London. 588 pages.
23. Carruthers RI et Soper RS. (1987). Fungal diseases. In: Fuxa, J R. and Tanada, Y. (Eds), Epizootiology of Insect Diseases. Wiley-Interscience, New York, pp. 357-416.
24. Chet L et baker R (1981). Isolation and biological potential of *Trichoderma hamatum* pof soil naturally to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 71: 286-290.
25. Chet L. (1990). Biological-control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatment .in biological of soil-borne plant pathogens, Ed D.Hornby, pp15-25.CAB international, Oxon, England.
26. Cloutier C et Cloutier C. (1992). Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. In La lutte biologique, sous la direction de Vincent C et Coderre D. p.19-88. Chicoutimi, Québec, Canada: Gaétan Morin éditeur ltée.

27. Comporota P. (1985). Antagonisme in vitro de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomies*. 5 (7), 613-620.
28. Couteux A et Lejeune V. (2004). Index phytosanitaire ACTA, Paris.
29. Cundon MA, Mazza Mazzanti S de Castanon et Gutiérrez SA. (2000). Actividad antagonística in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum*, sobre exlerocios de *Sclerotinia sclerotium*. *Communication Cientificas y Tecnologicas*. Universidad National Del Nordeste, Facultad de Ciencias Agrarias-UNNE. Sargento cabral, corrientes, Argentina.

-D-

30. Daami- Remadi M. and El Mahjoub M. (2001). Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. *Ann. l'INRAT* 74,167-186.
31. Debieu D, Bach J, Hugon M, Malosse C et Leroux P. (2001). The hydroxynilide fenhexamide, a new sterol biosynthesis inhibitor fungicide efficient against the plant pathogenic fungus *botrytis fuckelina* (*Botrytis Cinerea*). *Pest manages Sci* 57:1060-1067.
32. Dent DR. (2000). *Insect pest management*, [en ligne]. 2^{ème} édition. CAB International Publishing. New York. P.180, 203. ISBBN: 0-85199-340-0. disponible sur http://books.google.dz/books?id=y3_Ig1ffcY0C&lpq=PP1&dq=Dent.
33. Devauchelle G. (1993). Les baculovirus des insectes intérêt et perspectives. La lutte biologique. Dossier de la Cellule environnement de l'INRA 5, 97-101.
34. Doberski JW. (1981). Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: Effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. *J. Invertebr. Pathol.* 37: 195-200.
35. Domsch KH, Gams W et Anderson TH. (1993). *Compendium of soil Fungi*, volume I & II, IHW - Verlag. Eching
36. Dunphy GB et Tibelius KH. (1992). Les progrès biotechnologiques augmentant l'efficacité de *Bacillus thuringiensis* et de *Bacillus sphaericus* en tant qu'insecticide microbien. In la lutte biologique, sous la direction de Vincent C et Coderre D, Pp. 305-322. Chicoutimi, Québec, Canada. Gaetan Morin éditeur ltée.
37. Duval J et Weill A. (2007). Manuel des intrants bio: un recueil des intrants commerciaux autorisés en production végétale biologique et disponibles au Québec. 2^{ème} édition. Club agroenvironnemental Bio-Action. 40, Pp. 25-27.

-E-

38. Elad Y et kapar A. (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of *botrytis cinerea*. *Eur J plant pathol* 105. 177-189.

39. Elad Y, Williamson B, Tudzynski P et Delen N. (2004). *Botrytis* spp. and diseases they cause in agricultural systems-an introduction. In *Botrytis: Biology, Pathology and Control* : Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. Pays-Bas. Pp. 1-9.
40. Elliott ML. (1995). Effect of melanin biosynthesis inhibiting compounds on *Gaeumannomyces species*. - *Mycologia*, **87**(3), 370-374.
41. El mrabet KH, Charlet PH et Lalère B. (2008).les pesticides. LNE. 15.
42. Eslaminejad Parizi T, Mehdi Ansari et Tahereh Elaminejad. (2012). Evaluation of the potential of *Trichoderma viride* in the control of fungal pathogens of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in vitro. *Microbial Pathogenesis* **52**, Pp. 201-205.

-F-

43. Fritz R, Lanen C, Chaapeland-Leclerc F, Leroux P. (2003), Effect of the aniline pyrimidine fungicide pyrimethanil on the cystathionine b-lyase of *Botrytis cinerea*. *Pesticide biochemistry and physiology* **77**:54-65.

-H-

44. Hmouni A, Hajlaoui MR, Mlaiki A. (1996). Résistance de *Botrytis cinérea* aux benzimidazole et aux dicarboxamides dans les cultures abritées de tomate en tunisie. *OEPP/EPPO bull.* **26**, Pp.697-705.
45. Hseiang T et chastagner GA. (1991). Grow and virulence of fungicide resistant field isolates of three species of *Botrytis cinerea*-can. *J. plant pathol*, **13**(3), 226-231

-I-

46. Ignoffo CM. (1973). Vertebrates and entomopathogens, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **217**, 165.
47. Ignoffo CM. (1970), Proceedings of the Tall Timbers Conference on Ecology of Animal Contributions by Habitat Management, Tallahassee, Florida. Tall Timbers Research Station: 47-57.
48. Ignoffo CM et Hostetter DL. (1977). Environmental stability of microbial insecticides. *Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.* **10**: 1-80.
49. Institut Techniques des Céréales et des Fourrages (ITCF). (2002). Fongicides des céréales et protéagineux. Paris. Pp. 14-19. ISBN 2-86-492-496-X.

-G-

50. Gams W et Bisset J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*.In: Kubicek cp, Harman GE (Eds *Trichoderma and Gliocladium*,vol1.Taylor and Francis,London, UK pp3-33.
51. Gardner WA, Sutton MR et Noblet R. (1977). Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea necatrix* on soybean foliage. *Environ. Entomol.* **6**: 616-618.

52. Garon-Boucher C, et Margoum C. (2003). Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulements dans les fosses. caractérisation physico- chimique et hydrodynamique. Université Joseph Fourier- Grenoble I. France. 244.
53. Gilman JC, (1957), A Manual of Soil Fungi. Iowa State University Press, Ames. 450 pages.
54. Gravel V. (2007). lutte contre *pythium ultimum* chez la tomate de serre: une approche microbienne. Université laval Québec. 152. 13.
55. Greathead DJ, Kooyman C, Launois-Luong MH et Popov GB, (1994). Les ennemis naturels des 8°criquets du Sahel, Collection acridologie opérationnelle N CILSS/DFPV, Niamey, Bp 12625. Niger.

-K-

56. Kebe IB, Mpika J, N'Guessan KF, Hebbar PK, Samuels GS, AKE S. (2009). Isolement et identification de microorganismes indigènes de cacaoyères en Côte d'Ivoire et mise en évidence de leurs effets antagonistes vis-à-vis de *Phytophthora palmivora*, agent de la pourriture brune des cabosses. *Sciences & Nature* Vol.6 N°1: 71 – 82.
57. Khachatourians GK. (1986). Production and use of biological pest control agents. *Trends Bio. Tech.* 4: 120 - 124.
58. Klarzynski O et Fritiz B. (2001). Stimulation of plant natural defenses. *C R Acad Sci III* 324:953-963.
59. Kouassi M. (2001). Les possibilités de la lutte microbiologique, Vertig O - la revue électronique en sciences de l'environnement [En ligne], Vol 2 N° 2. URL : [http://vertigo .revues.org/4091](http://vertigo.revues.org/4091) ; DOI : 10.4000/vertigo.4091.
60. Krimi Bencheqroun S. (2009). Etude des mécanismes d'action impliqués dans le biocontrôle D'une souche d'*aureobasidium pullulans* (de bary) arnaud visa- Vis de *penicillium expansum* link sur pommes en post-recolte. Doctorat en sciences agronomiques et ingénierie biologique. Université de liège. Belgique.104, Pp.18-23.

-L-

61. Le Floch G, Rey P, Benizri E, Benhamou N et Tirilly Y. (2003a). The impact of auxin compounds produced by the antagonistic fungus, *Pythium* group F on plant growth, plant soil, 257:457-470.
62. Lepoivre Ph. (2007). Phytopathologie.1^{re} édition. Édition de boeck. Belgique. Pp. 295-334. ISBN: 978-8041-4115-8.
63. Leroux P. (2003a) Fungicide resistance in plant pathogens: A phenomenon difficult to manage? *Phytoma* 566:36-40.
64. Leroux P, (2003b) Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes .CR Biologies 326 :9-21.

65. Leroux P, (1986). Rapport général sur la lutte chimique contre les champignons phytopathogènes. Mode d'action des fongicides et phénomènes de résistance. - 4e Congrès sur la protection de la santé humaine et des cultures en milieu tropical, Chambre de commerce et d'industrie de Marseille, France, p 148-162.

66. Lynch J-M. (1990). Microbial métabolique in the rhizosphère. Eds.J.M.Lynch.wilay Series in Ecological and applied Microbiology. Pp.177-206.

-M-

67. Maddox JV. (1987). Protozoan diseases. In: Fuxa, J. R. and Tanada, Y. (Eds), Epizootiology of Insect Disease. John Wiley & Sons, Chichester, pp. 417-52.

68. Manandhar JB, Harman GL et Wang TC. (1995). Conidial germination and appressorial formation of *Colletotrichum capsici* and *C. gloesporioides* isolates from pepper. - *Plant Dis.* 79(4), 361-366.

69. Martin RA, Sanderson JB, (1988). Yield of barley in response to propiconazole. - *Can. J. Plant Pathol.* 10(1), 66-72.

70. Mbarga JB, Martijn Ten Hoopen G, Kuate J, Adiobo A, Ngonkeu MEL, Ambang Z, Akoa A, Tondje PR et Begoude BAD. (2012). *Trichoderma asperellum*: A potential biocontrol agent for *Pythium myriotylum*, causal agent of cocoyam (*Xanthosoma sagittifolium*) root rot disease in Cameroon. *Crop Protection.* (36), 18-22.

71. Ministère de l'Agriculture, (2011). Gestion des pesticides solutions et recommandations pratiques pour la protection de l'environnement.

-P-

72. Pates E, Meredith F, Smart W, Bacon CW et Jaworski AJ. (1999). *Trichoderma viride* supresses de fumonisin B1 production by *Fusarium moniliforme*. *J Food protects* 66:1326-1332.

73. Paulitz TC et Baker R. (1997). Biological control of *Pythium* damping-off of cucumbers with *Pythium nunn*: influence of soil environment and organic amendments. *Phytopathology*, 77:341-346.

74. Petit AN. (2008). Effets de fongicides anti-*Botrytis* sur les organes végétatifs et reproducteurs de la vigne. *Biologie et Physiologie Végétales*. Université de Reims Champagne-Ardenne. 129p.

75. Poinar GO et Thomas GM, (1985). Laboratory guide to insect pathogens and parasites, Plenum Press, New York, P. 329.

-R-

76. Rafin C et Tirilly Y. (1995). Characteristics and pathogenicity of *Pythium sp* associated with rot of tomatoes in soil culture in Brittany, France. *Plant pathol.* 44, 779-785.

77. Rifai, (2004). Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* .Paris. PP : 55-56-58.
78. Rocher F. (2004). La lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phloémienne de nouvelle molécule à effet fongicide et d'activateurs de réactions de défense. Université de poitiers.163p.
79. Roquebert M-F. (1996). Interaction antagonistes de *Trichoderma sp* dans les systèmes tellurique: systématique compte-rendu de 4^{ème} rencontre en Toxicologie, Paris, 13-15.

-S-

80. Soufiane B, (1998). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de Bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Canada, pp56.
81. Starnes RL, Liu CL et Marone PG. (1993). History, use and future of microbial insecticides. Amer. Entomol. 39. Pp. 83-91.
82. Subramanian CV. (1983). Hyphomycetes: Taxonomy and Biology. *Academic Press Inc*, Pp 358-370.

-T-

83. Tawil G. (2007). Etude bibliographique sur l'effet des pesticides sur la santé chez l'homme, Master 2 Recherche « Elaboration de la qualité et sécurité alimentaire », Ecole nationale vétérinaire, Toulouse, France, pp, 14.

-V-

84. Vander plaats-niterink AJ. (1991). Monograph of the genus Pythium. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn. Récupéré de : <http://www.univbrest.fr/esmisab/sitesc/Myco/fiches/pytholig.html>.
85. Viswanathan R et Narayanasamy P. (1992). Effect of tricyclazole and mancozeb on rice pathogens. - *Madras Agric.* 79(12), 670-674.

-W-

86. Wang ZN, Coley smith, JR, Wareing PW. (1986). Dicarboxamides resistance in *Botrytis cinerea* in protected lettuce-plant pathol. 35(4), 427-433.

- ☆ exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas des substances nutritives.
- ☆ assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du conseil ou de la commission concernant les agents conservateurs.
- ☆ détruire les indésirables.
- ☆ détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux (Cahet *et al.*, 2005).

4.2- Inconvénients :

- ☆ De nombreux pesticides sont toxiques, donc dangereux pour la santé humaine (malformations congénitales ; cancers ; troubles neurologiques, de la fertilité et du système immunitaire).
- ☆ Les pesticides ont un impact négatif sur les écosystèmes (pollution des eaux, empoisonnement d'abeilles, d'oiseaux ou de vers de terre...).
- ☆ Les pesticides pourraient être responsables d'anomalies génétiques et participeraient à la progression régulière des cas d'allergie du fait du surdosage quand les parasites sont plus résistants.
- ☆ Nombreux de ces produits phytosanitaires sont toxiques à l'égard des organismes vivants, il s'ensuit qu'un produit chimique qui tue une mouche risque aussi de tuer un chien.
- ☆ L'emploi répétitif d'un même produit et parfois malavisé des pesticides donne naissance à de insectes, de maladies des plantes, de mauvaises herbes et de rongeurs résistants à certains de ces produits.
- ☆ les nappes d'eau souterraines, les lacs et les rivières risquent d'être contaminés par les pesticides stables qui s'accumulent dans le sol.
- ☆ la bio-accumulation peut parfois s'accroître de façon à affecter les oiseaux et les poissons (Ministère de l'Agriculture ,2011).

Encadré par M ^{me} BOUZIANE z	Présenté par : ALLALI Fatiha KOUIRA Madina	Date de soutenance : 01/07/2012
--	---	---

Thème : *L'étude comparative entre l'effet inhibiteur des agents de lutte biologique et un fongicide sur la croissance mycélienne de quelques champignons.*

Résumé:

La lutte contre Les maladies cryptogamiques se fait par deux méthodes, d'un coté la lutte biologique, cette étude a montré l'effet nettement antagoniste des deux souches de *Pythium sp* et *Trichoderma viride* sur les deux isolats fongiques *Fusarium oxysporum* et *Trichothecium roseum*. En effet, les essais de confrontation d'une façon directe sur milieu de culture ont révélé un taux d'inhibition remarquable (supérieur à 45%) sur la croissance mycélienne du pathogène. S'il y'a contact entre *F.oxysporum* *T. roseum* et les colonies de *Pythium sp.*, *Trichoderma viride* qui envahissent celles du pathogènes. D'autre coté la lutte chimique (utilisation de fongicide difénoconazole), la concentration inhibitrice de 50% de la croissance mycélienne est varié selon la sensibilité la résistance de l'agent pathogène qui se concerne de *T. roseum* est 3000 ppm par rapport au *F. oxysporum* qu'est 300 ppm.

Mots-clés : *Pythium sp. Trichoderma viride*, antagonisme, comparaison, difénoconazole.

Abstract :

The fight counters the cryptogamic diseases is done by two methods, of with dimensions biological fight, this study showed the definitely antagonistic effect of the two stocks of *Pythium sp.* and *Trichoderma verdant* on the two fungic isolates *Fusarium oxysporum* and *Trichothecium roseum*. Indeed, the tests of confrontation in a direct way on culture medium revealed a remarkable rate of inhibition (higher than 45%) on the mycelial growth of the pathogenic one. If it y' has contact between *F. oxysporumm*, *T. roseum* and the colonies of *Pythium sp.*, *Trichoderma verdant* which invade those of the pathogenic ones. From other with dimensions the chemical fight (use of fungicide difénoconazole), the inhibiting concentration of 50% of the mycelial growth east varies according to the sensitivity resistance of the pathogenic agent which concerne of *T. roseum* is 3000 ppm compared to the *F oxysporum* which is 300ppm.

Key words: *Pythium sp. Trichoderma verdant*, antagonism, comparison, difénoconazole

ملخص

تم مكافحة الأمراض الفطرية بطريقتين :
أولاً: المكافحة البيولوجية تبين هذه الدراسة بوضوح أثر التضاد لنوعين من الفطريات هما *Pythium sp* و *Trichoderma viride* على معزولتين فطريتين، تجارب التلاقي المباشر في وسط غذائي يعطينا نسبة تثبيط جيدة للعاملين ممرضين *F. oxysporum* et *Trichothecium roseum* (أكبر من 45%) والناجحة عن تلاقي هاتين المعزولتين الفطريتين وعاملي التضاد *Pythium sp* و *Trichoderma viride*.
ثانياً : المكافحة الكيميائية (عن طريق استعمال المبيدات الفطرية *difénoconazole*) بنسبة تركيز 50% المعيقة للنمو الهيفي للعاملين الممرضين ، وهذه النسبة تختلف حسب حساسية ومقاومة العامل الممرض حيث تحصلنا على نسبة 3000 جزء من المليون بالنسبة لـ *T. roseum* و 300 جزء من المليون بالنسبة لـ *F. oxysporum*

الكلمات المفتاحية: *Pythium sp. Trichoderma viride*: التضاد ، المقارنة ، *difénoconazole*.