

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET
DES SCIENCES DE LA TERRE DÉPARTEMENT DE SCIENCES
AGRONOMIQUES



Réf :/UAMOB/FSNVST/DSA/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomique
Spécialité : phytopathologie

Présenté par :

BENSADI Abdelhalim et KAIDI Yakoub

Thème

*Etude de l'activité antifongique de Trichoderma sp et
d'extrait aqueux de l'origan vis-à-vis de quelques
souches de Fusarium*

Soutenu le : 07-07-2022

Devant le jury composé de:

Nom et Prénom

Grade

Mme KABENE Meïassa

MAA

Univ. de Bouira

Présidente

Mme MEBDOUA Samira

MCB

Univ. de Bouira

Promotrice

Mme BOUBEKKA Nabila

MCA

Univ. de Bouira

Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022



Remerciements

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'aimerais d'abord exprimer ma gratitude à mon encadreur Mme. MEBDOUA Samira pour avoir accepté de bon gré de participer à ce travail, ainsi que pour ses efforts fournis, pour ses conseils judicieux prodigués et pour sa patience et sa persévérance dans mon suivi.

Mes profonds remerciements vont aux membres du jury la présidente Mme KABENE Meïassa et l'examinatrice Mme BOUBEKKA Nabila qui m'ont fait l'honneur de participer et de juger.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

J'adresse également mes reconnaissances aux enseignant(e)s qui m'ont donné les bases de la recherche scientifique et qui grâce à leurs soutiens, ont su me créer les conditions favorables à la poursuite de mes études supérieures.

En fin, Je suis agréable d'exprimer notre remerciement à tout notre ami qui m'a aidé pour le bon achèvement de ce travail.

Merci à toute ma famille pour leur soutien et leur amour qui m'ont permis de devenir la personne que je suis...



Dédicaces

C'est grâce à dieu, tout puissant qui m'a donné le courage et la volonté pour achever ce modeste travail que je dédie : A mon très cher papa et ma très chère maman pour leurs sacrifices, leurs soutien moral, de leur tendresse, de leurs encouragements tout au long de mes études et durant ce mémoire, ils m'ont offert tout pour que je réussisse, je ne les remercierai jamais assez pour tout ce qu'ils m'ont fait, j'espère qu'ils sont fiers de moi. Ame très cher frère et Ame très cher sœur

A l'encadrement Mme. MEBDOUA Samira, votre présence et votre disponibilité permanente, pour vos conseils et votre soutien, et pour m'avoir fourni ses idées nécessaires l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté du présent travail.

Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes, cousins et cousines. Je ne saurai terminer sans citer mes amis, Ramdan, Paki, samir, moh, ayoub dk. Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent.

Ayoub



Dédicaces

Au nom d'Allah le plus grand merci lui revient de nous avoir guidés vers le droit chemin, de nous avoir aidées tout au long de nos années d'étude.

Je dédie ce rapport du mémoire à toute ma famille, ma mère tassadit, mon père mesbah, mes frères ali et kader et yassin et mes sœurs sabrina et hayet et djohra.

Je le dédie particulièrement à ma grand-mère fatima, chaque cousins et cousines.

A mes chers amis taher, Kader, abdellah, djaafer, abdeslam, nacer, zaki, ami Ali, fouad, Toufik, arab et tous l'équipe Etoile kabyle.

Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent, en particulier les jeunes d'ATH MANSOUR et BOUIRA.

Abdelhalim

Liste des figures

Figure 1: Cycle de vie de <i>F. graminearum</i> , principal agent responsable de la fusariose des épis de blé	11
Figure 2: Schéma de conidiophores, conides et phialides de <i>Trichoderma</i>	16
Figure 3: Plante d'origanum vulgare.....	21
Figure 4: Aspect macroscopique (en Haut) et microscopique (en Bas) des souches de <i>Fusarium</i> utilisées.....	25
Figure 5: Aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma</i> sp. À gauche : colonie sur le milieu PDA ; au centre : mycélium et spore (Gx40) ; à droite : spores (Gx100).....	26
Figure 6: Test de pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i> (essai sur les boites de pétri).....	28
Figure 7: Préparation des pots pour le test de pathogénicité.....	29
Figure 8: Poudre de l'origan.....	31
Figure 9: Feuilles de l'origan	31
Figure 10: Coléoptiles saines (à gauche témoin) et coléoptile nécrosé (à droite <i>F. graminearum</i>).....	34
Figure 11: Résultats de test de pathogénicité sur les pots (de droite à gauche : Témoin, <i>F. lateritium</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. graminearum</i>).....	35
Figure 12: Effet de <i>trichoderla</i> sp sur la croissance radiale de <i>F. graminearum</i>	36
Figure 13: Confrontations <i>Trichoderma</i> sp – <i>F. graminearum</i> sur PDA (gauche : face, droite ;revers).....	36
Figure 14: Effet de <i>trichoderla</i> sp sur la croissance radiale de <i>F. culmorum</i>	37
Figure 15: Confrontations <i>Trichoderma</i> sp – <i>F. culmorum</i> sur PDA (gauche : face, droite ; revers).....	37
Figure 16: Effet de <i>trichoderla</i> sp sur la croissance radiale de <i>F. lateritium</i>	38
Figure 17: Confrontation <i>Trichoderma</i> sp – <i>F. lateritium</i> sur PDA (gauche : face, droite ;revers).....	38
Figure 18: Colonies de <i>F. verticillioides</i> développés sur le milieu PDA avec les différentes doses	41
Figure 19: Evolution de la croissance radiale de <i>F. verticillioides</i> dès le milieu PDA avec les différentes doses	40

Liste des tableaux

Tableau 1: Superficie récoltée de blé dans le monde (2010-2020).FAO stat..... 6
Tableau 2: Production de blé dans le monde (2010-2020).FAO stat 6
Tableau 3: Superficie récoltée de blé en Algérie (2010-2020).FAO stat..... 7
Tableau 4: Production de blé en Algérie (2010-2020).FAO stat 7
Tableau 5: Quelque fongicide utilisé contre fusarium 14
Tableau 6: Résultats de test de pathogénicité des souches de Fusarium chez le blé dur variété Simeto (essai sur boîtes de Pétri) 33
Tableau 7: Résultats de test de pathogénicité des souches de Fusarium chez le blé dur variété Simeto (essai sur pots)..... 34
Tableau 8: Effet de l'antagoniste Trichoderma sp sur les souches de Fusarium (essai sur grains de blé dur)..... 39
Tableau 9: Concentrations en spores produites par F verticillioides 40

Liste des abréviations

CCLS : coopérative des céréales et légumes secs

DL(50) : dose létale médiane

F.A.O: Food and Agriculture Organization of the united nation.

PDA: Potato Dextrose Agar.

SNA: Synthetic Nutrient-poor Agar.

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
Parti bibliographie	
Chapitre I : blé.....	4
I-1 Historique et origine du blé	4
I-2 Taxonomie	4
I-3 Morphologie	5
I-3-1 racine	5
I-3-2 tige.....	5
I-3-3 feuille.....	5
I-3-4 fruit.....	5
I-4 Importance du blé dans le monde	5
I-5 Importance du blé en Algérie :	6
Chapitre II : Fusariose	8
II-1 Présentation de fusariose.....	8
II-2 Classification.....	8
II-3 Symptômes	8
II-4 Développement de fusariose	9
II-5 Cycle biologique	10
II-6 Moyen de lutte.....	11
II-6-1 La résistance des cultivars	12
II-6-2 Les pratiques culturales.....	12
II-6-3 La récolte, les opérations post récolte et l'entreposage	12
II-6-4 L'utilisation d'un fongicide ou autre agent de répression de la fusariose	13
Chapitre III Trichoderma	15
III-1 Présentations de <i>Trichoderma</i>	15
III-2 Caractéristiques morphologiques de genre <i>Trichoderma</i>	15
III-3 Taxonomie	16
III-4 Lutte biologique par l'utilisation de <i>Trichoderma</i>	17
III-4-1 Avantages et limites d'utilisation de <i>Trichoderma spp.</i> Comme agent de lutte biologique.....	18
Chapitre IV : Origan.....	21
IV-1 Origanum vulgare L.....	21
IV-2 Description botanique	21

IV-3 Position systématique	22
IV-4 Propriétés de l'origan.....	22
IV-5 Quelques activités de l'origan.....	23
IV-5-1 Activité antioxydante	23
IV-5-2 Activité antimicrobienne	23
Parti expérimentale	
Chapitre I : Matériels et méthodes.	25
I- Matériels	25
I-1 Matériel végétal	25
I-2 Matériel fongique :	25
II- Méthodologie	27
II-1 Préparation d'un milieu PDA.....	27
II-2 Evaluation de la pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i> sur blé dur.....	27
II-2-1 Effet des quatre souches des <i>Fusarium</i> sur la germination et la croissance de la coléoptile (essai sur les boîtes de pétri).....	27
II-2-2 Effet des souches des <i>Fusarium</i> sur la germination et la croissance plantule de blé (Essai sur les pots).....	28
II-3 Evaluations de l'activité antifongique de <i>Trichoderma sp</i> vis-à-vis des souches de <i>Fusarium</i>	29
II-3-1 Essais de confrontation directe	29
II-3-2 Essais d'antagoniste sur grain de blé	30
II-4 Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'origan sur la souche <i>Fusarium verticillioides</i>	30
II-4-1 Préparation des extraits aqueux de l'origan	30
II-4-2 Préparation des milieux gélosés à base d'extrait aqueux avec différentes doses :	31
II-4-3 Effet de l'extrait sur la croissance radiale	31
II-4-4 Effet de l'extrait sur la sporulation	31
Chapitre II : Résultats et discussions.....	33
II-1 Evaluation de la pathogénicité des souches de <i>Fusarium</i>	33
II-2 Résultats de test de pathogénicité sur les pots.....	34
II-2-1 <i>F.graminearum</i>	35
II-2-2 <i>F.culmorum</i>	36
II-3 Résultats de test d'antagoniste sur grain de blé	38
II-4 Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'origan sur la souche <i>Fusarium verticillioides</i>	40
Conclusion.....	44

Introduction

Introduction

Le blé est l'une des principales cultures dans le monde. La production mondiale du blé dur (*Triticum durum Desf.*) fut en croissance constante durant les cinq dernières années, allant de 35 à 41 millions de tonnes en 2008 et 2012 respectivement (Crystel, 2014).

En l'Algérie, durant la même période, la production est de 19 millions de quintaux de 2008 à 2012. Elle est répartie entre blé dur (70 %) et blé tendre (30 %), avec une importante variabilité interannuelle. Cette dernière est due essentiellement à une situation géographique défavorable, d'une mauvaise maîtrise des techniques culturales, à cela viennent s'ajouter les pertes dues à un certain nombre d'agressions de nature diverses (Djaouti, 2010).

En agriculture, les maladies fongiques sont l'une des contraintes les plus importantes pour la production de blé. Parmi ces maladies, on retrouve un cas particulier, la fusariose, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains. Cette maladie endémique, est provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le «complexe fusarien », à large spectre d'hôtes. L'espèce principale responsable de la fusariose des épis et incluse dans le genre *Fusarium* dont *Fusarium graminearum* (Brown et al., 2010).

L'étude de la pathogénie et de l'agressivité des souches impliqués dans la fusariose du blé aide à mieux comprendre l'épidémiologie du complexe fongique associé à cette maladie afin d'entreprendre des stratégies de lutte appropriées. Plusieurs études ont été conduites sur la pathogénie et l'agressivité des espèces de *Fusarium* sur blé par Brennan et al. (2003), Mishra et al. (2003), Smily et al. (2005) Wu et al. (2005), Akinsanmi et al. (2006), Qu et al., (2008),...Etc. Plusieurs autres études ont mis en évidence l'efficacité de *Trichoderma* à l'égard des agents de la fusariose du blé (Matarese et al. 2012)

La lutte chimique par l'utilisation de fongicides est la méthode la plus courante de gestion de la fusariose. Cependant, cette stratégie a plusieurs inconvénients. D'où la nécessité de rechercher d'autres méthodes de lutte telles que la lutte biologique. Dans ce volet, il y a plusieurs microorganismes qui sont utilisés contre les agents de la fusariose du blé, les genres *Bacillus*, *Lysobacter* et *Pseudomonas* sont les agents bactériens les plus étudiés (Yuen et al., 2007). Des levures des genres *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* et *Cryptococcus* et des champignons du genre *Trichoderma* peuvent réduire l'inoculum de nombreuses espèces de *Fusarium* (Palazzini et al., 2007; Matarese et al. 2012). Les champignons du genre *Trichoderma* ont été utilisés

comme agents de lutte biologique contre un large spectre d'agents phytopathogènes aussi bien telluriques que foliaires.

Il existe aussi d'autres solutions qui peuvent également utiliser contre les espèces de *Fusarium* dont on peut citer : l'exploitation des plantes médicinales .L'origan, qui est une plante médicinale, possède des activités antifongiques et antibactériennes qui peut faire face aux dégâts causés par *Fusarium* au niveau des champs agricoles

Ce travail vise à étudier et à expérimenter l'activité antifongique de *Trichoderma sp*, et de l'extrait aqueux d'une plante médicinale (*Origanum vulgare*) vis-à-vis de quelques souches de *Fusarium* associées au blé

Notre travail a été divisé en deux parties :

La première partie relative à l'étude bibliographique qui se compose en quatre chapitres :

- Le premier chapitre sur le blé et son importance économique.
- Le deuxième sur le *Fusarium* et ses caractéristiques.
- Le troisième sur *trichoderma sp* et son importance dans la lutte biologique
- Le quatrième chapitre qui se focalise sur l'origan et son utilisation dans la lutte contre les ravageurs et maladies des plantes.

La deuxième partie réservée à l'étude expérimentale subdivisée en deux chapitres :

- L'un englobe le matérielle et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation des résultats obtenus et la discussion.

Partie
bibliographique

Chapitre I : blé

I-1 Historique et origine du blé

Le blé était l'une des premières variétés cultivées par l'homme. Il y a dix mille ans, le blé occupait le Croissant fertile, une zone qui couvrait la Palestine, la Syrie, l'Irak et la majeure partie de l'Iran (Croston et Williams, 1981). Le Blé, diploïde et tétraploïdes datant du 7ème siècle avant JC trouvés sur le site Sites archéologiques du Proche-Orient (Harlan, 1975).

En Algérie, Léon Ducellier (1878-1937), a réalisé un recensement d'une flore mal connue au début du siècle. Il a trouvé et analysé de nombreuses variétés plantées en terres cultivées, la plupart récoltées. Ces variétés se caractérisent par des rendements élevés et une grande résistance à la sécheresse ou à certaines maladies. Le blé tendre n'était connu en Afrique du Nord qu'à l'arrivée des Français (Léry, 1982). Le blé a évolué à l'origine sans intervention humaine, puis il a été sélectionné par les premiers agriculteurs (Henry et de Buyser, 2001).

I-2 Taxonomie

Les espèces cultivées du blé notamment le blé tendre (*Triticum aestivum L*) et le blé dur (*Triticum durum desf*) appartiennent à l'ordre Poales, la famille des Poaceae (graminées). Le genre *Triticum L* comprend selon ITIS (2022) vingt et une espèces . Ce sont des plantes herbacées annuelles aux tiges (chaumes) dressées et aux inflorescences en épis linéaires.

Ce genre comprend les diverses espèces de blé cultivées, notamment le blé tendre (*Triticum aestivum L*) qui est le blé hexaploïde le plus cultivé, et le blé dur (*Triticum durum desf*) qui est actuellement le blé tétraploïde le plus cultivé. (Odenbachet, 1985).

La classification la plus crédible du blé selon ITIS (2022) est la suivante :

Règne	Plantae
Embranchement	Tracheophyta
Sous-embranchement	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Super ordre	Lilianae
Ordre	Poales
Famille	Poaceae
Genre	<i><u>Triticum</u> L</i>

I-3 Morphologie

Selon Hamadache (2013), le blé (*Triticum L.*) est une graminée annuelle des zones tempérées et des zones subtropicales. Le blé est une plante herbacée des jours longs.

I-3-1 Racine

Le blé possède deux types de racines : les racines séminales ou primaires (5 à 7 racines) issue de l'embryon et qui sont propres au maître-brin et les racines secondaires ou adventives propres aux talles secondaires. La structure d'une racine de l'extérieur vers l'intérieur est comme suit :

- L'épiderme qui porte les poils absorbants.
- Le cortex qui compose de parenchyme dont l'une des fonctions est le transport et le stockage des carbohydrates.
- Le cylindre central ou la stèle.

I-3-2 Tige

La tige de blé est érigée, cylindrique et pleine. Elle est divisée par des entre-nœuds dont le nombre varie de 5 à 7. Les entre-nœuds sont couverts par les grains des feuilles. Le dernier entre-nœud, pédoncule de l'épi, est le plus long. (Hamadache, 2013)

I-3-3 Feuille

Les feuilles sont à nervures parallèles et formées de deux parties : la partie inférieure entourant la jeune pousse où la tige est la gaine et la partie supérieure en forme de lame est le limbe. Les gaines sont attachées au niveau des nœuds et sont emboîtées les unes dans les autres pendant leur jeunesse. Elles forment un tube cylindrique entourant la tige qui se déboîte au fur et à mesure de la croissance de celle-ci. (Hamadache, 2013)

I-3-4 Fruit

Le fruit est un caryopse (grain soudé aux parois de l'ovaire). Il se compose de trois parties : les enveloppes (14 à 16 % du poids du grain), l'amande ou l'endosperme (8 à 88% du poids du grain), et le germe (2 à 3% du poids du grain). (Hamadache, 2013)

I-4 Importance du blé dans le monde

Le blé (*Triticum sp*) est la céréale la plus cultivée au monde. Le blé tendre constitue 90% de la production mondiale. 116 millions d'hectares plantés de blé tendre dans le monde.

Le blé dur (*Triticum durum*) quant à lui représente 5 % de la production mondiale, 35 % de la production de blé est réalisé en Afrique du Nord et en Asie de l'Ouest (Hamadache, 2013).

Tableau 1: La superficie récoltée de blé dans le monde (2010-2020).FAO stat2022

Dans le monde	Les années	La valeur (ha)
Superficie récoltée	2010	215602998
	2011	217917932
	2012	220263250
	2013	218700196
	2014	219755320
	2015	223335833
	2016	219163521
	2017	215899861
	2018	219006893
	2019	218301750
	2020	213938636

Tableau 2: La production de blé dans le monde (2010-2020).FAO stat2022

Dans le monde	Les années	La valeur (T)
Production	2010	640803464
	2011	696898368
	2012	673736910
	2013	710169467
	2014	728757761
	2015	741845269
	2016	748435124
	2017	772290608
	2018	760925831
	2019	732139584
	2020	764980821

I-5 Importance du blé en Algérie :

L'Algérie est un pays d'Afrique du Nord au climat doux, il fait chaud en hiver et en été, appartient au type méditerranéen et appartient à un climat semi-aride La superficie

agricole totale en Algérie est d'environ 42 millions d'hectares. Et seulement 8 348 248 hectares de surface agricole utile sont disponibles pour le développement, dont 77% sont réservés aux céréales, soit 6 446 348 hectares, dont plus de la moitié (soit 3 337 800 hectares) étaient en jachère, et progressivement abolie par le ministère l'agriculture et dans divers programmes d'intensification céréalière Haricots (Hamadache, 2013).

Tableau 3: La superficie récoltée de blé en Algérie (2010-2020).FAO stat2022

En Algérie	Les années	Valeur
Superficie récoltée	2010	1755728 ha
	2011	1672431ha
	2012	1945776ha
	2013	1727242ha
	2014	1651311ha
	2015	1814722ha
	2016	2062179ha
	2017	2118469ha
	2018	1948402ha
	2019	1974987ha
	2020	1848083ha

Tableau 4: La production de blé en Algérie (2010-2020).FAO stat2022

En Algérie	Les années	Valeur
Production	2010	2605178 tonnes
	2011	2910890 tonnes
	2012	3432231 tonnes
	2013	3299049 tonnes
	2014	2436197 tonnes
	2015	2656731 tonnes
	2016	2440097 tonnes
	2017	2436503 tonnes
	2018	3981219 tonnes
	2019	3876876 tonnes
	2020	3106754 tonnes

Chapitre II : Fusariose

II-1 Présentation de fusariose

La fusariose de l'épi affecte une variété de plantes, notamment le blé, l'orge, l'avoine, le maïs, le seigle et les herbacées (Richard, 2004 ; Wegulo et *al.*, 2008 ; Mathieu et *al.*, 2012). L'importance économique de la fusariose est liée à des pertes de production significatives, telles que l'avortement des fleurs, la réduction du nombre et du poids des grains, et des pertes de productivité. (Prescott et *al.*, 1987 ; Pirgozliev et *al.*, 2003 Ballois, 2012) ; ceci a des implications négatives lors du traitement du grain dans les usines. Outre les pertes de production, certaines espèces de *Fusarium* présentes sur les céréales peuvent provoquer la contamination des grains par différentes mycotoxines (Prescott et *al.*, 1987 ; Ballois, 2012)

II-2 Classification

La maladie de fusariose de l'épi est liée à une vingtaine espèces de *Fusarium* dont les plus importantes sont *Fusarium graminearum* , *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. equiseti*, *F. poae* (Bottalico et Perrone, 2002; Zillinsky, 1983)

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

II-3 Symptômes

Ces symptômes sont très apparents sur place car ils se manifestent par un blanchiment prématuré d'une partie ou de la totalité de l'épi. Les premiers symptômes apparaissent généralement au centre de l'épi, puis progressent de haut en bas à partir de là (Zillinsky, 1983 ; Wegulo et *al.*, 2008).

La maladie se développe, se propage parfois rapidement et affecte toute l'épi. Des couleurs allant du rose à l'orange saumon peuvent apparaître sur les épillets infectés, surtout s'ils sont mouillés pendant de longues périodes. (Mascher et al, 2005).

Tard dans la saison, de minuscules fructifications noires produites par le champignon peuvent apparaître. Les grains momifiés ou endommagés par le fusarium sont des grains mûrs ratatinés, pâles, blanc crayeux ou parfois roses. Les mycotoxines sont généralement plus fortement polluées dans les grains momifiés. (Mathieu et al., 2012 ; Richard, 2004 ; Wegulo et al., 2008)

II-4 Développement de la fusariose

La maladie est liée à plusieurs espèces différentes de *Fusarium*. Le *Fusarium graminearum* est celui qui fait le plus de dégâts. Au fur et à mesure de la sénescence de la plante, les espèces de *Fusarium* qui infectent les fleurs et les grains des graminées se propagent dans les tissus tels que les enveloppes des fleurs, le rachis des épis et les tiges. Le champignon peut se propager par les restes de céréales à paille et de maïs qui ont été laissés dans le champ. Le *Fusarium* peut facilement passer l'hiver et vivre sur les débris végétaux. Lorsque les conditions sont favorables tout au long de la saison de croissance, les spores laissés à la surface du sol atteignent les épis et infectent les tissus floraux et les grains en développement. Les spores proviennent non seulement des déchets des champs de culture, mais aussi des résidus des champs voisins, où elles sont transportées par le vent dans des conditions particulières. (Zillinsky, 1983)

La quantité d'inoculum produite est accrue lorsqu'il y a beaucoup de résidus agricoles. Les résidus de culture de maïs, par exemple, constituent, malgré la distance qui les sépare, une importante source potentielle de spores viables pour les champs contigus. La période clé de l'infection, qui correspond à la pénétration du champignon dans les tissus, de l'épi commence au moment de l'épiaison et dure quelques jours. La pluie et l'humidité auront le plus grand impact sur le niveau d'infection pendant cette période. L'infection du blé se produit principalement pendant l'émergence des étamines (floraison, pollinisation ou anthèse), ce qui représente une brève période de temps. Lorsque les conditions sont suffisamment humides, les spores sur les étamines germent et produisent du mycélium, qui se développe dans la fleur ou le grain en développement. En outre, la fleur de blé est plus ouverte et plus sensible à l'infection par le champignon pendant ce stade de développement. C'est à ce stade du

développement du blé qu'une infection a le plus d'impact sur le rendement du grain. (Wegulo et *al.*, 2008)

II-5 Cycle biologique

Le champignon pathogène survit et se multiplie sur les restes de plantes infectées, infectant les céréales, les graminées et d'autres plantes dans et autour du champ, qu'elles soient cultivées ou non. Le vent et les éclaboussures déposent des spores de *Fusarium* sur les épis de céréales (Mascher et *al.*, 2005). De la floraison (apparition de l'épi) jusqu'au stade demi- battage, ou éventuellement plus tard selon les conditions, les petits grains sont susceptibles d'être infectés (Wegulo et *al.*, 2008).

Des périodes de 48 à 72 heures de forte humidité et des températures de 24 à 30°C sont les circonstances les plus favorables à l'infection. L'infection peut également être provoquée par des périodes prolongées d'humidité excessive associées à des températures basses. Les infections de début de saison peuvent développer des spores, qui peuvent transmettre la maladie lorsqu'elles sont transportées par le vent (Zillinsky, 1983; Martin et *al.*, 2007 ; Wegulo et *al.*, 2008). Donc, le champignon ne peut attaquer les épis de blé que s'il pleut et que la température atteint un certain niveau la température est idéale les gouttes de pluie distribuent les spores du champignon, notamment celles provenant du sol, et les acheminent vers l'épi. Les spores peuvent germer et pénétrer dans la fleur en raison de l'humidité relative élevée la gravité et la progression dès la sensibilité de la variété de blé ou de triticales utilisées à un impact important sur la gravité et la progression de l'infection (Mascher et *al.*, 2005).

L'infection se produit pendant la floraison. Après la germination, le tube germinatif pénètre dans l'épillet et se développe sur les glumes en utilisant les nutriments disponibles. Le champignon se fraie ensuite un chemin dans la fleur, en passant par les stomates, les plaies et les étamines (Mascher et *al.*, 2005). Parce qu'elles contiennent des substances chimiques qui favorisent le développement du champignon, elles constituent le site de pénétration privilégié (Strange et Smith, 1971). Le mode d'infection, en revanche, peut différer d'une variation à l'autre. Lorsque le champignon infecte un épillet, il se propage au reste de l'épi, soit de façon externe, soit de façon interne, par le système vasculaire. Ce dernier type de propagation est susceptible d'empêcher le passage de la sève vers les parties supérieures de l'épi

La gravité de la fusariose de l'épi varie d'un champ à l'autre et d'une année à l'autre, en fonction des conditions météorologiques, du stade de croissance de la plante et de la présence

du pathogène. L'affection est d'autant plus grave qu'elle est contractée tôt. Si un cultivar est très sensible, que l'inoculum est abondant à la floraison et que ces facteurs sont combinés à des conditions météorologiques favorables, la gravité de la fusariose et la contamination par les mycotoxines seront maximales (Richard, 2004 ; Martin et al., 2007).

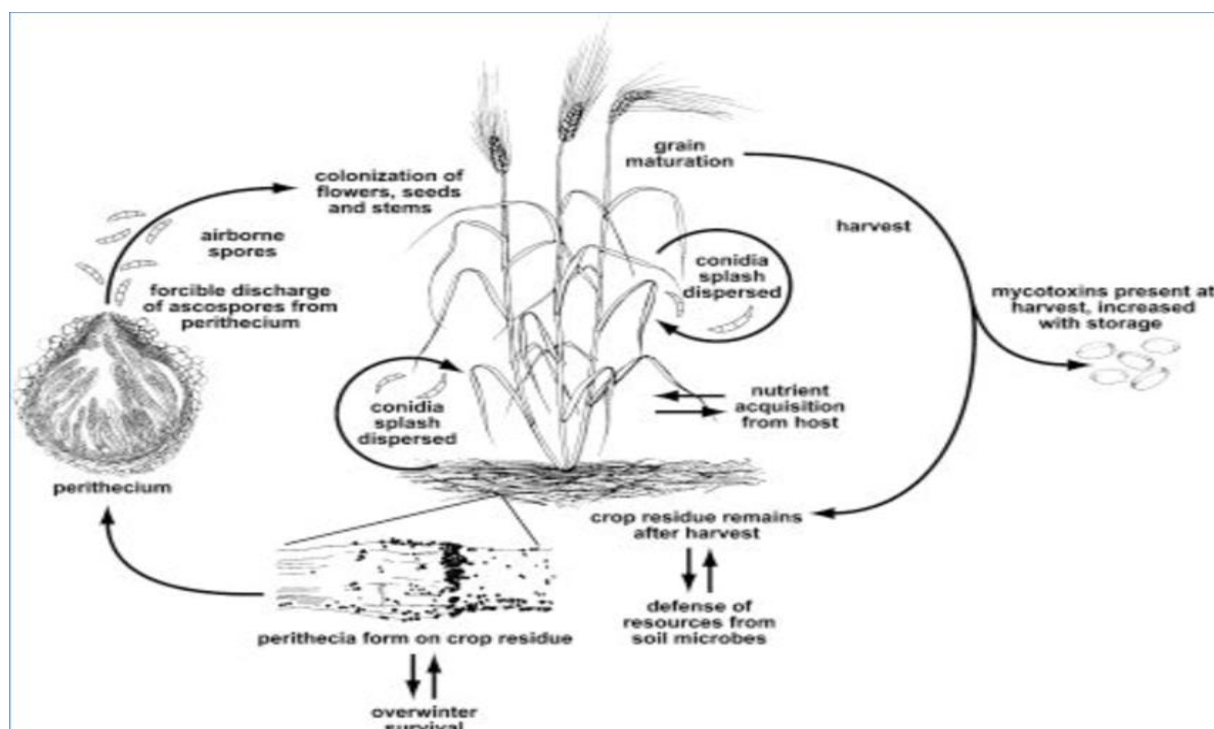


Figure 1: Cycle de vie de *F. graminearum*, principal agent responsable de la fusariose des épis de blé.

II-6 Moyen de lutte

Les cultures de paille, le maïs, le sorgho, l'absence de rotation, l'utilisation de variétés sensibles et l'absence de variations, et le manque de travail du sol sont autant de variables qui favorisent le développement de la fusariose. le manque de travail du sol laisse de grandes quantités de débris végétaux en surface, fournissant un substrat idéal pour la prolifération du *Fusarium* (Martin et al., 2007 ; Wegulo et al., 2008). Donc les méthodes de lutte sont basées essentiellement sur :

II-6-1 résistance des cultivars

Choisissez les variétés de blé les plus résistantes généralement un cultivar à longs brins est plus résistant à la contamination qu'un cultivar à courts brins, mais la taille n'est qu'un élément parmi d'autres qui détermine la vulnérabilité du cultivar. La gravité de l'infection est déterminée par la résistance d'un cultivar à une infection précoce et à la propagation du champignon dans les fleurs environnantes, ainsi que par d'autres variables de résistance. La disponibilité de cultivars ayant des dates de floraison ou de maturité différentes dans le champ contribue à disperser le risque. Dans le cas du blé alimentaire, il convient de noter que l'infection peut augmenter la quantité de protéines dans les grains tout en diminuant, paradoxalement, la qualité du grain pour la boulangerie. La concentration de protéines dans le grain, qui sont défavorables aux propriétés requises pour la fabrication du pain, explique cette situation. Il faut éviter de trop dépendre des variétés de blé de basse qualité, qui sont plus susceptibles d'être dégradées en cas d'infestation excessive. (RAP 2017)

II-6-2 pratiques culturales

Il est fortement déconseillé de semer de blé l'année qui suit une culture de céréales (maïs, avoine, blé, orge, seigle, triticale) ou de graminées fourragères car le *Fusarium* vit sur les résidus de cultures, graminées fourragères (fléole des prés, dactyle, brome, etc.). Le maïs, en particulier, peut produire beaucoup de déchets contaminés qui restent à la surface du sol et qui constituent un réservoir important d'inoculum que le labour ne peut pas éliminer totalement.

Le labour ne pourra pas éliminer totalement le problème. Si la rotation avec une espèce non graminéenne est absolument impossible, Si la rotation avec une espèce non graminéenne est difficile, les restes de récolte doivent être enterrés pour réduire la contamination par l'inoculum de *Fusarium*. Le désherbage des graminées est particulièrement important car les espèces de *Fusarium* peuvent également faire des ravages sur les graminées adventices, un semis précoce peut permettre à la céréale d'épierrer avant que les spores de *Fusarium* provenant des déchets de récolte ne développent un nombre important de spores, mais cela dépend des circonstances météorologiques. . La fertilisation adéquate et l'application d'un cultivar approprié sont également nécessaires.

II-6-3 récolte, les opérations post récolte et l'entreposage

La première chose à garder à l'esprit est la saison de la récolte, qui est particulièrement importante pour le blé. Lorsque le grain est ferme (stade Zadoks 91-92), ou juste avant la

maturité, les producteurs de blé expérimentés récoltent dès la maturité. Il s'agit d'une pratique saine car les mécanismes de défense de la plante se mettent en sommeil à mesure que les tissus vieillissent. Le champignon continuera à se développer si la culture est laissée sur le champ dès que les conditions d'humidité seront favorables. Une autre chose à surveiller est la gestion post-récolte. Les grains récoltés qui sont humides (plus de 14 % de teneur en eau) doivent être séchés rapidement pour empêcher le développement des toxines du *Fusarium*. (RAP 2017).

Pour éviter la dégradation, le grain doit ensuite être convenablement ventilé. Le *Fusarium* et ses toxines ne peuvent pas se développer dans les grains dont la teneur en humidité est inférieure à 14 %. Pendant le stockage, la teneur en toxines ne diminue pas. Ce sont des composés extrêmement durables. En revanche, les espèces du *Fusarium* qui ont contaminé les grains peuvent être détruites progressivement pendant le stockage des grains s'il n'y a pas d'humidité. La probabilité de fabriquer à nouveau des poisons lorsque l'humidité augmente diminue avec le temps la probabilité de fabriquer à nouveau des mycotoxines lorsque l'humidité augmente diminue avec le temps de stockage.

Les grains fusariés étant plus légers, on peut les éliminer en changeant le ventilateur de la moissonneuse-batteuse pendant la récolte. Cependant, il faut garder à l'esprit que cette méthode augmente l'inoculum du sol. Une autre méthode consiste à récolter régulièrement, puis à effectuer un criblage agressif, à retirer les criblures, puis à récolter normalement. (RAP 2017).

II-6-4 Utilisation d'un fongicide ou autre agent de répression de la fusariose

Aucun fongicide ne permet de supprimer complètement le champignon de la fusariose. L'utilisation d'un fongicide permet de réduire l'apparition de la maladie et le niveau de toxicité du grain. Le fongicide contribue à la production d'une culture qui satisfait les besoins des utilisateurs lorsque les conditions d'infection sont très favorables. Pour lutter contre la fusariose des céréales, un certain nombre de produits ont été approuvés. Beaucoup de ces produits sont systémiques et comprennent un cocktail de triazoles. Les fongicides réduisent la fusariose de l'épi dans le blé.

Tableau 5: Quelques fongicides utilisés contre le *Fusarium* (DPVCT, 2017)

Nom commerciale	Matière active
-DIVIDEND -AGRICONAZOLE 25 EC	Difenoconazole
DIVIDEND STAR	Difenoconazole+Cyproconazole
-ACILE 060 FS -AKORUS -BUNAZOLE 250 -HORIZON 250 EW -HORIZEEL 25 EC -RAXIL 060 FS -SARGHO60FS -SEMICONAZOLE 60 FS -TEBIZOLE 25 WP -TEBUCONATE -TALENT 25 EC -TOLEDO 250 EC	Tebuconazole
-LAMARDOR 400 FS -PROSARO 250 EC	Prothioconazole+ tebuconazole
-FALCON	Spiroxamine + tebuconazole + triadimenol
-ACANTO PLUS	Cyproconazole+ picoxystrobine

Chapitre III Trichoderma

III-1 Présentations de *Trichoderma*

Persoon a été le premier à introduire *Trichoderma* en mycologie en 1794. identifie de minuscules champignons qui ont été considérés comme dangereux pendant près de 200 ans. Ces champignons cosmopolites font partie d'une vaste famille de champignons sans aucune preuve de reproduction sexuée Les espèce *Trichoderma* sont des agents agroalimentaires potentiels et un matériau de choix pour l'exploitation industrielle en raison de leur production d'enzymes, de composés bioactifs et de leur développement rapide dans l'environnement terrestre. *Trichoderma viride*, qui représente une espèce très importante dans la lutte biologique en raison de leur antagonisme envers d'autres espèces fongiques (antibiose, mycoparasitisme, compétition, lyse et promotion de la plante hôte), est l'une des 35 espèces établies à ce jour et présente un intérêt économique pour la production d'enzymes cellulolytiques. (Sandoval-Denis et al ., 2014)

III-2 Caractéristiques morphologiques de genre *Trichoderma*

Des cultures sur des plaques de gélose nutritive appropriées, dispersées dans des boîtes de Pétri, sont utilisées pour analyser l'aspect macroscopique de *Trichoderma* sp. Les colonies de champignons peuvent être floconneuses ou agglutinées en grappes. Il existe des caractéristiques intermédiaires entre ces deux extrêmes. La pigmentation des phialides est utilisée pour colorer les colonies. La conidie donne naissance à un mycélium blanc et stérile en forme de cercle cinq jours après la germination. Une teinte verte apparaît sur les sections aériennes du mycélium deux jours plus tard, indiquant la conidiogenèse. D'autres anneaux concentriques réguliers sont produits, et un feutrage épais est placé sur la culture entre le 16ème et le 20ème jour. Au microscope optique, on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés et à parois lisses. Les conidiophores sont de forme pyramidale ou conique. Ils portent des phialides en forme de flacons ou de quilles et sont très ramifiés. Les phialides transportent à leur tour les spores (phialospores ou conidies).

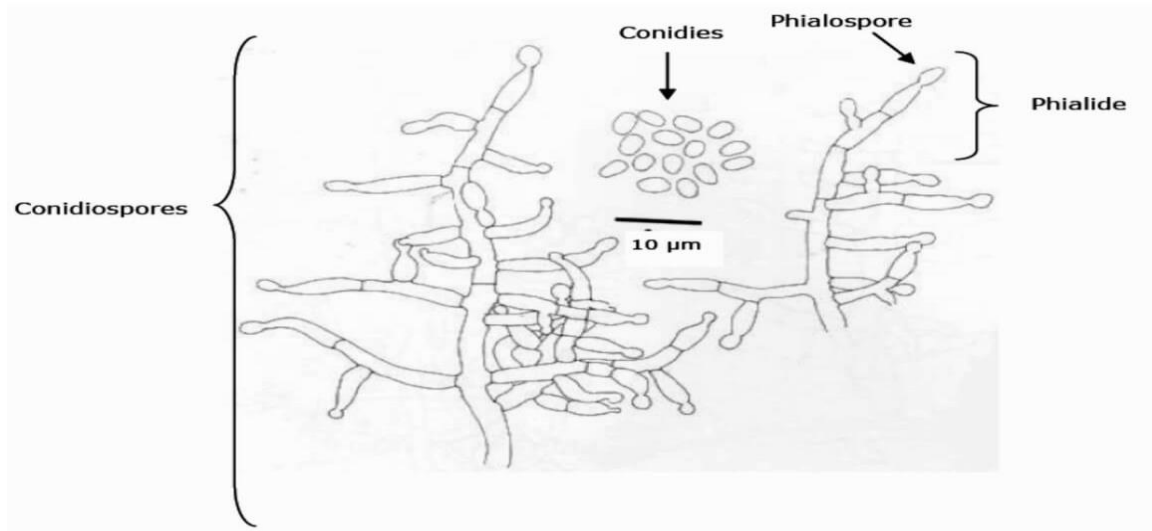


Figure 2: Schéma de conidiophores, conid et phialides de *Trichoderma*.

III-3 Taxonomie

Bissett (1991) considère que la détermination des espèces chez le genre *Trichoderma* ne peut être résolue sans une intégration des études morphologiques, moléculaires, et le cycle de vie (holomorphe) du champignon. L'intégration de ces méthodes est accomplie pour la première fois par Samuels et *al.*(1998) pour résoudre l'identification des 10 espèces de la section *Longibrachiatum* basée sur la morphologie des téléomorphes et l'anamorphe et les séquences nucléotidiques des espaces internes transcrit (ITS) de l'ADN ribosomal. Ils ont montré que *T. longibrachiatum* Rifai est différent de *T. reesei* Simons. Ainsi, la synonymie entre *T. reesei* et *T. longibrachiatum* proposé par Bissett (1984) en se basant sur les caractères morphologiques n'a pas été retenue. Par contre, ces mêmes auteurs ont trouvé que *T. parceramosum* Bissett est un synonyme de *T. ghanense* Doi, Abe et Sugiyama. Samuels et *al.* (1998) ont également montré dans leurs travaux que l'anamorphe de *Hypocrea shweinitzii* (Fr.) Sacc est *T. citrinoviride* Bissett ; l'anamorphe de *H. jecorina* Berk et Broome est *T. reesei* et que *Hypocrea orientalis* Samuels et Petrini est *T. longibrachiatum* sont génétiquement très proches, différents seulement par 1-5 pb dans la région ITS du gène de l'ADN ribosomal, mais sont différents dans les caractères morphologiques. Depuis, les analyses moléculaires sont devenues essentielles pour la détermination et la délimitation de nouvelles espèces ainsi que la détermination des liens téléomorphes. Récemment, dans une caractérisation

moléculaire d'isolats de *Trichoderma* précédemment identifiés comme *T. harzianum* Rifai par séquençage des ITS1 et ITS2, Hermosa et al. (2000) ont confirmé la distribution de l'espèce *T. harzianum* en quatre biotypes, dont les biotypes Th1 et Th3 ne sont pas pathogènes sur champignons de couches. Les analyses basées sur les séquences ITS ont montré que le biotype Th3 coïncide avec *Trichoderma atroviride* P. Karst. L'espèce *T. atroviride* décrite pour la première fois par Karsten en 1892, avait été ajoutée dans l'agrégat *harzianum* par Rifai (1969). Plus tard cette espèce avait été réintroduite et décrite par Bissett (1992) pour intégrer des isolats avec des phialides minces et des conidies sombres, larges avec des parois lisses Samuels et al. (2002). ont décrit une nouvelle espèce *Hypocrea atroviridis* Dodd, Lieckfield et Samuels, comme téléomorphe de l'anamorphe *T. atroviride* en se basant sur l'analyse des séquences (ITS1-5,8S-ITS2) de l'ADN ribosomal et le gène EF- 1 α ; *T. atroviride* et *H. atroviridis* formaient un clade bien distinct dans la section *Trichoderma*.

Selon (Bissett., 2004) *Trichoderma* C'est une espèce cosmopolite très répandue et très résistante dans la taxonomie fongique moderne. Le statut taxonomique de *Trichoderma* sp. current. Est le suivant :

Embranchement	Amastigomycota et/ou Eumycètes
Sous embranchement	Ascomycotina
Classe	Sordariomycètes
Ordre	Hypocréales
Famille	Hypocraceae
Genre	<i>Trichoderma</i>

III-4 Lutte biologique par l'utilisation de *Trichoderma*

Dans le domaine de la protection des plantes contre les maladies parasitaires, *Trichoderma* a fait l'objet de diverses recherches. Il peut cibler différents agents pathogènes par le biais de diverses stratégies, dont les plus courantes sont le parasitisme, l'antibiose et la compétition (Howell, 2003 ; Vinale et al., 2007). Selon la cible et l'environnement, ces méthodes sont déployées de manière sophistiquée, soit séparément, soit en tandem (Suty, 2010).

- Parasitisme : le *Trichoderma* parasite les champignons phytopathogènes, un mécanisme complexe connu sous le nom de mycoparasitisme. Ce phénomène est dû

au fait que *Trichoderma* étrangle l'agent pathogène, y pénètre et/ou "injecte" des molécules (enzymes) qui le détruisent.

- L'antibiose : l'antibiose est un mode d'action courant chez les espèces de *Trichoderma* qui repose sur la génération de métabolites secondaires de différents types qui inhibent ou même tuent l'agent pathogène (Vinale et al., 2007).
- La compétition est l'un des mécanismes impliqués dans la lutte biologique contre les maladies des plantes. Elle implique une compétition pour les nutriments et l'espace (Tronsmo et Hjeljord, 1998). Au niveau de la rhizosphère, la lutte pour la survie des espèces est féroce, comme en témoigne la colonisation de la surface des racines (Sivan et Chet, 1989). *Trichoderma* est l'un des champignons rhizosphériques les plus compétitifs, qui tente de coloniser la racine de la plante en profitant de l'apport nutritionnel fourni par le système racinaire. La pénétration de *Trichoderma* dans les tissus racinaires est souvent limitée à la première ou à la deuxième couche de cellules racinaires (Yedidia et al., 1999, 2000 ; Metcalf et al., 2001). Les phytoalexines (produits chimiques fongitoxiques) sont produites lorsque la plante et *Trichoderma* se reconnaissent mutuellement (Howell, 2003 ; Shores et al., 2005). Il a été prouvé que l'interaction de *Trichoderma* avec les racines minimise les infections racinaires en activant la réponse de défense de la plante (Yedidia et al., 2000).

III-4-1 Avantages et limites d'utilisation de *Trichoderma spp.* Comme agent de lutte biologique

Les souches de *Trichoderma spp.* ont fait preuve d'un large éventail d'adaptations écologiques, comme en témoigne leur isolement à partir d'une variété de substrats dans diverses circonstances environnementales. Cette diversité, associée à leur capacité à se développer sur des substrats relativement peu coûteux, en fait un choix prometteur pour diverses applications de lutte biologique (Lepoivre, 2003). Cependant, malgré une sélection rigoureuse des meilleures souches, ces souches obtiennent souvent de mauvais résultats dans les essais de conservation sur le terrain. La sensibilité des isolats à différents facteurs environnementaux explique en partie ces résultats insuffisants. Au sein d'une même espèce, la capacité de protection varie avec la température. Une humidité insuffisante est un autre facteur limitant la capacité de *T. harzianum* et *T. viride* à coloniser les organes des plantes : les conditions de sécheresse affectent fortement la croissance de ces champignons. (Coût énergétique de l'osmorégulation). Le manque d'oxygène devient le facteur limitant dans des conditions d'humidité élevée. La germination des conidies de *T. viride* était optimale à 100 %

humidité relative (H.R). A 95%, ce pourcentage de germination a été réduit, entraînant une perte d'activité protectrice contre *S. sclerotiorum* et *Botrytis cinerea*. L'apport de nutriments est également important en raison de la germination de *Trichoderma*. Ce qui nécessite un apport nutritif exogène. Ces limites expliquent la nécessité de développer une formulation appropriée qui, dans le cas de la disponibilité des nutriments, ne doit pas favoriser les pathogènes des plantes. Les formulations qui augmentent le niveau de protection au champ sont basées sur des traitements prophylactiques qui fournissent des nutriments principalement métabolisés par des souches antagonistes, encapsulent les nutriments avec des antagonistes, ou même dans ce cas enrobent les graines avec des matériaux solides pour prévenir la fonte des semis. Souches se révèle souvent spécifique (parfois certaines souches d'espèces phytopathogènes). Pour pallier cette spécificité trop étroite, des associations de souches différentes ont été établies dans une même formulation, mais n'améliorant pas toujours le spectre d'action du mélange. D'autre part, la sélection d'hybrides somatiques (obtenus par fusion de protoplastes de deux souches de *T. harzianum* permet de contrôler un large spectre d'agents pathogènes du sol, dont *Pythium Rhizoctonie solani*, *Fusarium spp.* (Lepoivre, 2003).

Une autre limitation importante de l'utilisation de *Trichoderma* est le potentiel pathogène contre les champignons cultivés et les plantes, la pourriture de stockage causée par des isolats de *Trichoderma*. A été observé sur patates douces, agrumes et pommes. Près de 32 espèces de plantes sensibles au *Trichoderma viride* ont été identifiées, mais toutes les souches de *Trichoderma viride* ne sont pas pathogènes.

La propension pathogène de *Trichoderma* envers les champignons d'élevage (principalement le Shiitake) et les plantes est une autre contrainte majeure à son utilisation. On n'a constaté que les isolats de *Trichoderma spp.* Produisent des pourritures de stockage sur les patates douces, les agrumes et les pommes. Il existe près de 32 espèces végétales sensibles à *T. viride*, mais toutes les souches de *T. viride* ne sont pas pathogènes ou n'ont pas le même spectre d'hôtes sensibles. Dans ce cas, des tests de pathogénicité contre la plante doivent être effectués une fois qu'une souche antagoniste a été choisie. La lutte biologique doit prouver qu'elle n'est pas nuisible à la santé humaine. Les espèces de *Trichoderma* sont pour la plupart non pathogènes pour l'homme, bien que certains isolats de *T. viride* et *T. koningii* se soient révélés pathogènes chez les personnes immunodéprimées. Des concentrations élevées de *Trichoderma spp.* Ont été associées à des allergies.

Enfin, le genre *Trichoderma* produit un grand nombre de métabolites secondaires, qui doivent tous être étudiés pour leurs propriétés toxicologiques et écotoxicologiques : Les souches de *T. viride*, par exemple, produisent des gliotoxines avec une faible DL(50) de 25 à 50 mg/kg rat (Iepoivre, .2003).

Chapitre IV : Origan

IV-1 *Origanum vulgare* L

Le mot origan est dérivé du mot latin *origanum*, qui est dérivé du mot grec *origanon* lorsqu'on le décompose étymologiquement, on découvre *ors*, qui signifie montagne, et *ganos*, qui signifie éclat, ce qui renvoie à une apparence riante, d'où le sens "qui plaît sur la montagne." L'origan a effectivement embelli les hauts plateaux méditerranéens. Les montagnes abondent sur tout le pourtour méditerranéen, assurant leur attractivité (Dubois et al., 2005 in Bouhaddouda, 2016). *Origanum* est un genre composé d'environ 70 espèces, sous-espèces, variétés et hybrides présentant un large éventail de caractéristiques morphologiques (longueur de la tige, disposition de l'arrangement, nombre et longueur des branches, formes des feuilles, etc.) (Kintzios, 2002). *Origanum vulgare* L. est l'espèce la plus répandue et la plus connue de la famille des Lamiaceae. (Spada et Perrino, 1996).



Figure 3: La plante d'origanum vulgare.

IV-2 Description botanique

L'origan est une herbe vivace qui pousse de 30 à 60 cm de haut et dont le feuillage et les fleurs sont piquants lorsqu'on les écrase. Il peut être identifié par son odeur et sa saveur phénoliques (Arvy et Gallouin, 2003 ; Teuscher et al., 2005).

Les feuilles opposées, ovales et espacées sont portées par des tiges dressées, typiquement rougeâtres et velues. Elles ne présentent pas de glandes sécrétrices évidentes. Les inflorescences sont des grappes de fleurs blanches ou roses. Chaque fleur se trouve à l'aisselle d'une bractée ovale, et elle est plus grande que le calice. Ce calice est entouré d'un tube

persistant et d'un gamosépale. Les akènes sont les composants du fruit. Les fleurs s'épanouissent de mai à octobre (B aissa, 1991 ; Teuscher et al, 2004 ; Figueredo, 2007).

IV-3 Position systématique

D'après Guignard (1996), la systématique d'*Origanum vulgare* est la suivante :

Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Gamopétales
Ordre	Tubiflorales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i>

IV-4 Propriétés de l'origan

L'origan est une plante essentiellement médicale qui jouit d'un grand engouement populaire en Algérie, où elle est connue sous le nom de "zaâter" (Baba Aissa, 1990). Il est utilisé en tisane par les habitants pour traiter divers maux, notamment les rhumatismes, la toux, le rhume et les problèmes digestifs (Erdogan et Belhattab, 2010). Cette plante remplit une variété de fonctions, notamment :

- Activité antibactérienne et antifongique.
- Activité antioxydante.
- Activité antispasmodique.
- Activité anti-glycémique.
- Activité anti-inflammatoire.
- Activité antiparasitaire.
- Activité nématocide.

IV-5 Quelques activités de l'origan

IV-5-1 Activité antioxydante

Les propriétés antioxydantes de l'origan n'ont été étudiées que dans quelques études. Certaines études ont indiqué que les extraits alcooliques d'origan peuvent réduire la peroxydation des lipides, l'oxydation des LDL humaines et éliminer les radicaux libres (Dorman et *al.*, 2003 ; Chun et *al.*, 2005). La présence de polyphénols est suggérée comme étant un facteur majeur de cette activité. Les huiles essentielles d'origan avaient de puissantes propriétés antioxydantes qui sont équivalentes au tocophérol et au BHT (Butylated hydroxytoluène). L'action antioxydante des huiles essentielles est fréquemment négligée. On leur attribue fréquemment la présence de thymol et de carvacrol dans les huiles essentielles (Kulisic et *al.*, 2004).

IV-5-2 Activité antimicrobienne

L'origan aurait également de nombreuses propriétés antibactériennes. En effet, il a été démontré que l'extrait méthanolique d'origan supprime la croissance des bactéries appartenant à l'espèce *Helicobacter* (Chun et *al.*, 2005). D'autres chercheurs ont découvert que l'hydrolat d'origan inhibe la croissance d'*E. Coli ATCC 25922*, de *Staphylococcus aureus ATCC 2392* et de *Yersinia enterocolitica ATCC 1501* (Sagdiç, 2003). Il a également été démontré que les huiles essentielles de cette plante ont une activité antibactérienne et antifongique contre une variété de bactéries et de champignons, ainsi qu'une inhibition de la croissance et du développement des spores de levure dans les aliments (Baydar et al, 2004, Bendahou et al, 2008; Sahin et al, 2004).

Partie

expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes.

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département d'agronomie de l'université d'Akli Mohan Oulhadj de Bouira pendant une durée de 3 mois (mars, avril, mai 2022)

I- Matériels

I-1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail est constitué de :

- Blé dur : des grains de semence de deux variétés ont été utilisés variété semitor et variété Oued El Bared qui ont été fournis par la CCLS de Sétif. Ce matériel a été utilisé pour les tests de pathogénicité et pour le test d'antagoniste *in vivo*
- Origan : Des plants d'origan en provenance de la région de Tikjeda ; les parties utilisées sont les feuilles pour produire l'extrait aqueux.

I-2 Matériel fongique :

I-2-1 Agents phytopathogènes : Pour notre recherche, nous avons utilisé quatre souches fongiques qui sont *Fusarium verticillioides*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. lateritium*

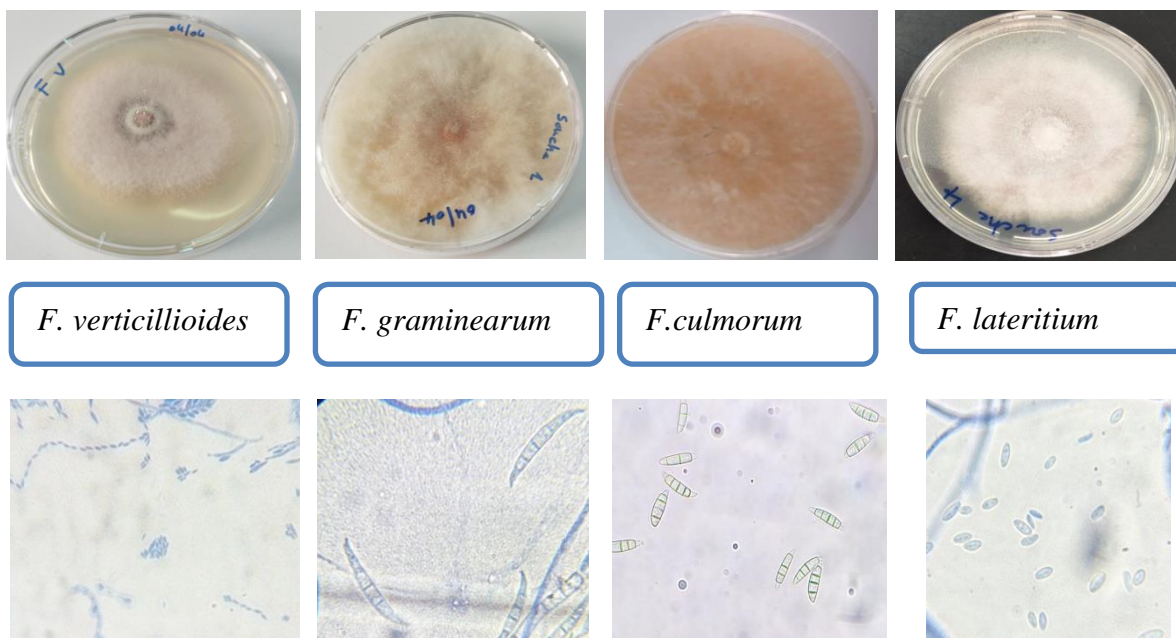


Figure 4: Aspect macroscopique (en Haut) et microscopique (en Bas) des souches de *Fusarium* utilisées

Les souches de *Fusarium* utilisées ici ont été toutes isolées à partir des céréales au niveau des laboratoires des sciences agronomiques de la Faculté de la Nature et de la Vie de l'Université de Bouira, à l'occasion des travaux de master précédant (Harmali et Meniche, 2021).

I-2-2 Agent antagoniste. La souche fongique utilisée comme antagoniste dans cette étude est une souche de *Trichoderma sp* isolées à partir des céréales

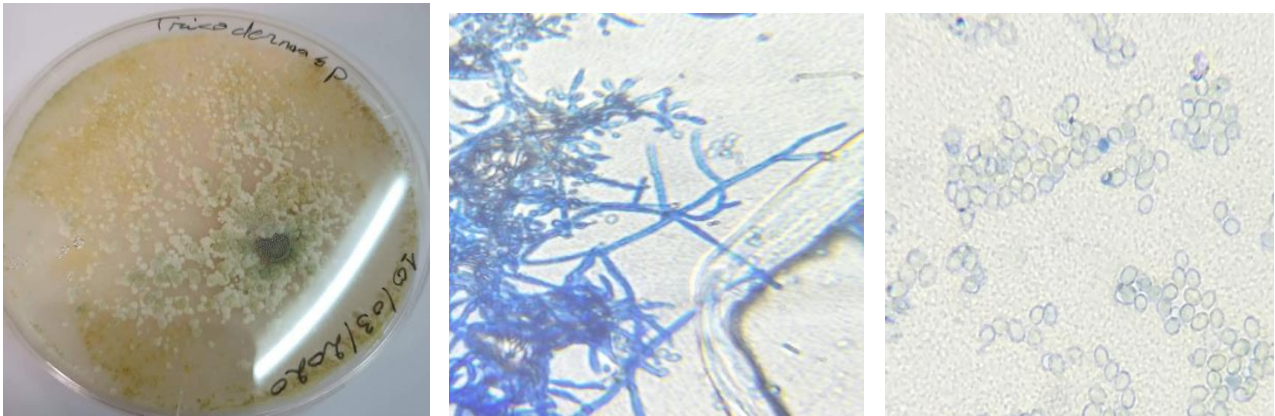


Figure 5: Aspect macroscopique et microscopique de *Trichoderma sp.* À gauche : colonie sur le milieu PDA ; au centre : mycélium et spore (Gx40) ; à droite : spores (Gx100)

II- Méthodologie

II-1 Préparation d'un milieu PDA

Le milieu de culture PDA a été utilisé dans cette étude, c'est un milieu favorable pour la croissance et la sporulation d'une large gamme de champignons notamment les champignons phytopathogènes.

Afin de préparer un litre de milieu PDA, On a pesé 42 g de milieu PDA déshydraté, et on l'a mélangé avec 1L d'eau distillée, le milieu est ensuite, mis sous agitation sur une plaque chauffante .Après homogénéisation, le répartie dans des flacons fermant à vis puis autoclavé à 120 °C pendant 20mn. Après refroidissement à 60 °C environ, le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire.

II-2 Evaluation de la pathogénicité des souches de *Fusarium* sur blé dur

II-2-1 Effet des quatre souches des *Fusarium* sur la germination et la croissance de la coléoptile (essai sur les boites de Pétri)

Afin d'évaluer la pathogénicité des souches de *Fusarium* utilisé dans cette étude, on a utilisé la semence de deux variétés de blé dur (Semitor et Oued El Bared),

Pour chaque variété de blé et pour chaque traitement (souche de *Fusarium* ou témoin), un nombre de 100 graines a été stérilisées superficiellement par trempage dans une solution de l'eau de javel à 2 % pendant 8 min, puis rincées deux fois avec de l'eau distillée stérile. Les graines ainsi traitées sont mise dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre tapissées de papier absorbant stérile en triple couche à raison de 25 graines par boites de Pétri

Pour la préparation de l'inoculum, ont utilisé le protocole de Bouanaka et *al.* (2021). Chaque souche de *Fusarium* a été cultivé sur milieu PDA à 26°C pendant 15j. Puis un volume de 10 ml d'eau distillée stérile avec 0,01% (v/v) de Tween-80 est ajouté à la partie aérienne de champignon, la surface de boites de Pétri est ensuite gratté soigneusement jusqu'à ce que toute la partie superficielle du champignon ait été récupérée. La suspension de mycélium et des spores et des fragments de milieu de culture ainsi obtenue est ajustée à 25ml avec d'eau distillée stérile additionnée de 0,01% (v/v) de Tween-80, puis filtrée à travers une double couche de la gaze médicale stérile. Un volume 5 ml de la suspension d'inoculum est pulvérisé sur chaque boite de Pétri contenant les 25 grains de blé. Les boîtes de Pétri ont été ensuite incubées à 26°C dans l'obscurité totale (Bouanaka et *al.*, 2021) des boites témoin ont été

préparé de la même façon en substituant la suspension d'inoculum avec de l'eau distillée stérile avec 0,01% (v/v) de Tween-80 .

Les notations concernant le taux de germination des graines, la longueur et le poids de coléoptile ont été comptées 5 jours après l'inoculation.



Figure 6: Test de pathogénicité des souches de *Fusarium* (essai sur les boîtes de pétri) originale (2022)

II-2-2 Effet des souches de *Fusarium* sur la germination et la croissance plantule de blé (Essai sur les pots)

Le substrat utilisé pour planter les graines de blé est constitué des quantités égales de terre, terreau et sable. Ce substrat a été stérilisé dans une étuve à 120°C pendant 4h puis réparti dans des pots de 8cm de diamètre préalablement troué pour permettre l'évacuation de l'excès de l'eau d'irrigation .

Des grains de semence de la variété Semitor ont été utilisés dans ce test, ils ont été désinfectés et rincés avec le même protocole utilisé pour le test précédent (test de pathogénicité dans les boîtes de Pétri), les grains sont ensuite répartis de façon homogène dans les pots à raison de 7 grains par Pots.

La suspension de l'inoculum a été préparée de la même façon que le test précédent, à l'aide d'une micro pipette, on pulvérise 200µl de cette suspension sur chaque graine puis on recouvre avec le substrat. Pour chaque traitement on a utilisé 5 pots et 35 graines. Les pots sont placés ensuite dans une zone exposée à la lumière et arrosés régulièrement.

Après une période de 15 jours, on déterre les plants, et on mesure le taux de levée, la longueur de la tige, ainsi que le poids de la partie aérienne, et les symptômes observés.



Figure 7: Préparation des pots pour le test de pathogénicité. Original (2022)

II-3 Evaluations de l'activité antifongique de *Trichoderma sp* vis-à-vis des souches de *Fusarium*

II-3-1 Essais de confortation directe

La technique utilisée est celle décrite par Benhamou et chet (1996). Cette technique consiste à placer dans la même boîte de pétri (8.5 cm de diamètre) contenant le milieu PDA, deux explants de l'agent antagoniste (*Trichoderma sp*) et de l'agent cible (ici *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum* ou *Fusarium lateritium*) placé à une distance de 3cm l'un de l'autre.. L'incubation est réalisée à 26°C à pendant 7 jours. Des boîtes témoins contenant l'agent pathogène seul ou l'antagoniste seul sont incubées dans les mêmes conditions.

Des mesures journalières de diamètres des colonies ont été effectuées, le taux d'inhibition est ensuite calculé selon la formule suivante (Datta et al. (2004.).

$$\text{Taux d'inhibition} = (\text{R témoin} - \text{R test}) / \text{R témoin} \times 100$$

Taux d'inhibition de la croissance du mycélium en pourcentage (%).

R témoin : diamètre en cm du champignon phytopathogène témoin

R test : diamètre en cm du champignon phytopathogène dans essai antagoniste

II-3-2 Essais d'antagoniste sur grain de blé

Pour réaliser ce test, on a désinfecté les grains de blé de variété Oued El Bared par de l'eau de javel à 2% pendant 8 min. puis on les a rincés deux fois avec de l'eau distillée stérile. Les grains sont ensuite mis dans des boîtes de Pétri contenant de papier absorbant à raison de 25 grains par boîte et à raison de 4 boîtes par traitement.

Pour préparer l'inoculum de l'antagoniste *Trichoderma sp.*, 2 boîtes de Pétri contenant une culture de 10 jours ont été utilisées, un volume 10 ml d'eau distillée additionnée de tween 80 est versé à la surface de chaque boîte, puis grattés soigneusement jusqu'à ce que toute la partie superficielle du champignon ait été récupérée. La suspension obtenue à partir des boîtes de Pétri est ensuite ajustée à 50ml avec d'eau distillée stérile additionnée de Tween-80. Concernant l'inoculum de *Fusarium*, il a été préparé de la même façon que dans le test de pathogénicité à l'exception que le volume de la suspension est ajusté ici à 12.5ml.

Dans chaque de boîte de Pétri contenant les grains de blé, un volume de 2.5 ml de l'antagoniste est pulvérisé, puis les boîtes sont incubés à l'obscurité pendant 24h. Après cette période un volume de 2.5 ml de la suspension de *Fusarium* considéré est ajouté à chaque boîte test. Pour les boîtes témoin *Fusarium*, seulement 2.5 ml de suspension de *Fusarium* est ajouté avec 2.5ml de l'eau distillée (avec 0.01% tween) ; et la même procédure est appliquée pour préparer le témoin *Tichoderma sp.*

Les boîtes de pétri sont ensuite laissées à 26°C à l'obscurité. Les notations sont prises après une période de 5 jours, et elles ont concerné : le pourcentage de germination, la présence ou non de mycélium, la longueur et le poids de coléoptiles.

II-4 Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'origan sur la souche *Fusarium verticillioides*

II-4-1 Préparation des extraits aqueux de l'origan

Les feuilles de l'origan séchées sous l'ombre à l'abri de soleil pendant quatre semaines sont broyées à l'aide d'un Moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. L'extrait aqueux de plante est obtenu en laissant macérer 30 g de la poudre dans 300 ml de l'eau distillée pendant 24 h sous agitation. L'extrait ainsi obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre, le filtrat est conservé dans des flacons en verre ambré dans le réfrigérateur à 4°C (Gbagbo et al., 2013)



Figure 8 : Feuilles de l'origan. original
(2022)

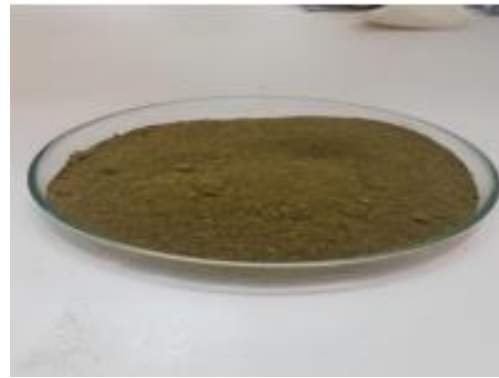


Figure 9 : Poudre de l'origan. originale
(2022)

II-4-2 Préparation des milieux gélosés à base d'extrait aqueuse avec différente dose :

Trente millilitre (30 ml) de l'extrait aqueux sont additionnés au mélange de 4.2g de PDA déshydraté et 70 ml d'eau distillée dans le but de préparer 100 de milieu PDA, c'est la dose 30% d'extrait. Le mélange est ensuite agité et homogénéisé. Trois autres doses ont été préparés de la même façon, il s'agit de la dose de 20 %, 10% et 5%; Les milieux ainsi préparé sont stérilisés à l'autoclave à 120 C pendant 20 mn. Après refroidissement à 60 °C environ, le milieu gélosé est réparti dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre en condition aseptique sous la hotte à flux laminaire.

II-4-3 Effet de l'extrait sur la croissance radiale

Sur une culture de *Fusarium verticillioides* ag, te de 10jours, trois disques mycéliens de taille identique (5 mm) sont délimités à l'aide d'un emporte-pièce. Chaque disque est ensuite déposé au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA avec les différentes doses de l'extrait de l'origan. Les boîtes ainsi inoculées sont incubées à 26°C. Le témoin est réalisé dans les mêmes conditions sans extrait aqueux les mesures ont été enregistrées à partir de 2 jours jusqu'à 6 jours.

Les diamètres des colonies mycéliennes (en cm) sont mesurés chaque jour. Un diamètre moyen est calculé.

II-4-4 Effet de l'extrait sur la sporulation

Des suspensions mycéliennes ont été préparées à partir de la souche de *Fusarium verticillioides* cultivée sur le milieu PDA + extrait aqueux. Les suspensions sont obtenues en

ajoutant 20 ml d'eau distillée stérile (+0.01% tween) à la surface aérienne de colonie fongique et en grattant. Les suspensions sporales sont ensuite diluées pour le comptage sur la cellule malassez. Le comptage des spores a été réalisé avec un microscope optique au grossissement (X40)

Chapitre II : Résultats et discussions

II-1 Evaluation de la pathogénicité des souches de *Fusarium*

II-1-1 Résultats de l'essai de pathogénicité sur grande blé (essai sur boîtes de Pétri)

Le tableau 06 résume le pourcentage de germination, la longueur et le poids moyens de la coléoptile obtenus 4 jours après l'inoculation des grains de blé dur (variété Simeto) avec les souches de *F.culmorum*, *F.graminearum*, *F.lateritium*

Dans les gains de blé témoin (non inoculé avec le *Fusarium*), Le pourcentage de germination est de 53%, la longueur et poids moyen de la coléoptile sont de 0.73 cm et 8.1 mg respectivement. Dans le cas des grains inoculés avec *F.culmorum*, seulement 17% des grains arrive à germer, et on constate une diminution dans la longueur et le poids moyens de la coléoptile. La même constatation a été faite pour les grains inoculés avec *F.graminearum* mais avec un taux de germination plus élevé (37%). Enfin la souche *F.lateritium* cause également une diminution du taux de germination des grains mais elle est moins agressive vis à vis de la coléoptile.

Tableau 6: Résultats de test de pathogénicité des souches de *Fusarium* chez le blé dur variété Simeto (essai sur boîtes de Pétri)

	Pourcentage de germination (%)	Poids moyen de coléoptile (mg)	Longueur moyenne de coléoptile (cm)
Témoin	53	8.1	0,73
<i>F.graminearum</i>	37	2.6	0,41
<i>F.culmorum</i>	17	2.2	0,47
<i>F.lateritium</i>	32	4.1	0,48

L'effet de 3 souches sur les grains de blé s'accompagne avec le développement de mycélium et la présence des nécroses au niveau de la coléoptile (Figure 10).

Le taux de germination chez la variété Simeto est inférieur à celui rapporté par d'autres auteurs. Benmounah et Brinis (2018) et Nour et Brinis (2016) ont trouvé des taux de germination pour cette variété supérieurs à 85%.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Brennan *et al.* (2003) qui ont montré que *F. culmorum* et *F. graminearum* ont presque le même degré de pathogénicité vis-à-vis de coléoptile, causant ainsi plus de 89,3 % de réduction de la croissance de la coléoptile par rapport au témoin non inoculé. Ces auteurs précisent que *F. graminearum* est l'espèce la plus agressive, provoquant une réduction de 96 % du taux de croissance de coléoptile.

Para rapport aux travaux déjà réalisés en Algérie, ces résultats obtenus par Abdellah – Nekache et al (2019) montrent que *F. culmorum* est le plus agressive dans les essais sur les grains de blé *in vitro*.



Figure 10: Coléoptiles saines (à gauche témoin) et coléoptile nécrosé (à droite . *F.graminearum*)

II-2 Résultats de test de pathogénicité sur les pots

Les résultats de tests de pathogénicité des souches de Fusarium obtenus après 15 jours de la date de semis des grains de blé dur variété Simeto sont regroupés dans le tableau 0

Tableau 7: Résultats de test de pathogénicité des souches de Fusarium chez le blé dur variété Simeto (essai sur pots)

	Pourcentage de levée (%)	Longueur moyenne de des plantules (cm)	Poids moyen plantules (mg)
Témoin	60	16,46	165.7
<i>F.graminearum</i>	2	0,3	0
<i>F.culmorum</i>	5,7	1,34	5
<i>F.lateritium</i>	22,8	5,95	66.2

Le pourcentage de levée chez le témoin est de 60%, alors que la longueur et le poids moyen sont de 16.46 cm et 165.7mg respectivement. L'inoculation des gains avec les souches de *F. culmorum* et *F. graminearum* a conduit à une diminution catastrophique des pourcentages de germination ainsi que les autres paramètres étudiés. La souche la moins agressive est celle de *F.lateritium* avec un taux de levée de 22.8% et une longueur et poids moyen de plantules de 5.95cm et 66mg respectivement (figure 11).



Figure 11: Résultats de test de pathogénicité sur les pots (de droite à gauche : Témoin, *F.lateritium* , *F. culmorum*,, *F. graminearum*) originale (2022)

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Lemmouchi (2012) eu qui trouvé que les souches de *F.graminearum* et *F. culmorum* sont les plus agressive sur le blé dur lors des essais de pathogénicité sur les pots.

II-2-1 *F.graminearum*

Dans le test confrontation directe à l'absence de *Trichoderma sp*, le moyen de diamètre de *F.graminearum* il augmente de 1.31 cm dans le premier jour jusque à 5.03 cm après le troisième jour (figure 12), par contre en présence de *Trichoderma sp*, le moyen de diamètre de *F.graminearum*, la vitesse de croissance est modifiée, ainsi le diamètre passe de 1.41 cm dans le premier jour jusque à 2.4 cm après le troisième jour ce qui correspond à un taux d'inhibition de 52.28%

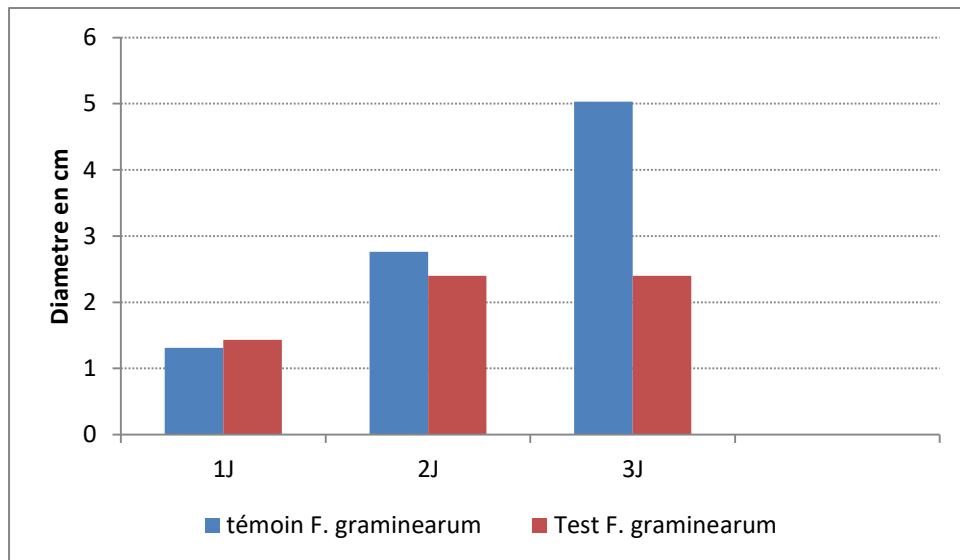


Figure 12: Effet de *Trichoderma sp* sur la croissance radiale de *F.graminearum*

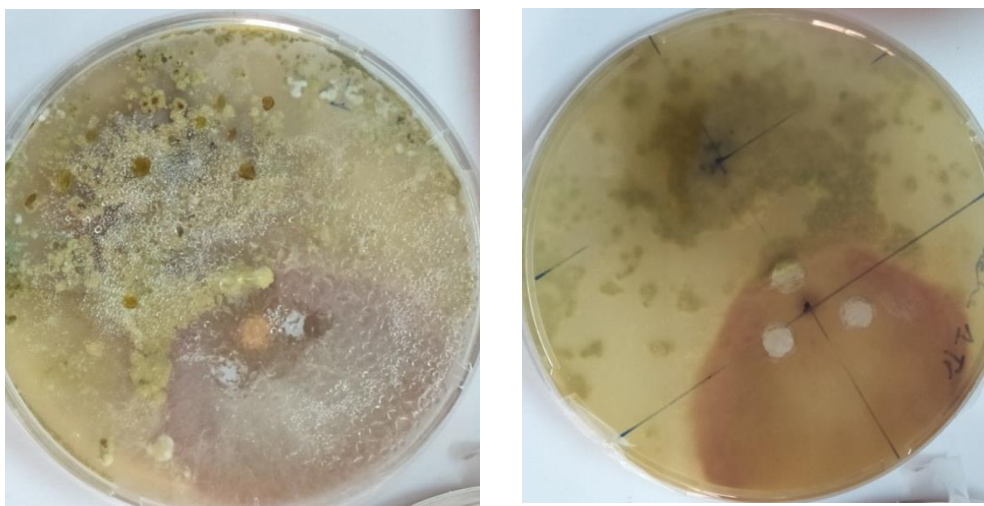


Figure 13: Confrontations *Trichoderma sp* – *F.graminearum* sur PDA (gauche : face, droite ;revers). originale (2022)

II-2-2 *F.culmorum*

En absence de *Trichoderma sp* le diamètre moyen des colonies de *F.culmorum* formé sur le milieu PDA est de 1.40 cm après un jour d'incubation à 26°C, et il passe à 6.23 cm après le 3 jours. (Figure 14) En présence de *Trichoderma sp*, le diamètre moyen des colonies de *F.culmorum* est de 1.43 cm dans le premier jour, et il passe à 3.1 cm après 3

jours d'incubation, ce qui indique que la souche de *Trichoderma sp* a exercé un effet inhibiteur sur la croissance radiale de *F. culmorum* (taux d'inhibition = 50.24%).

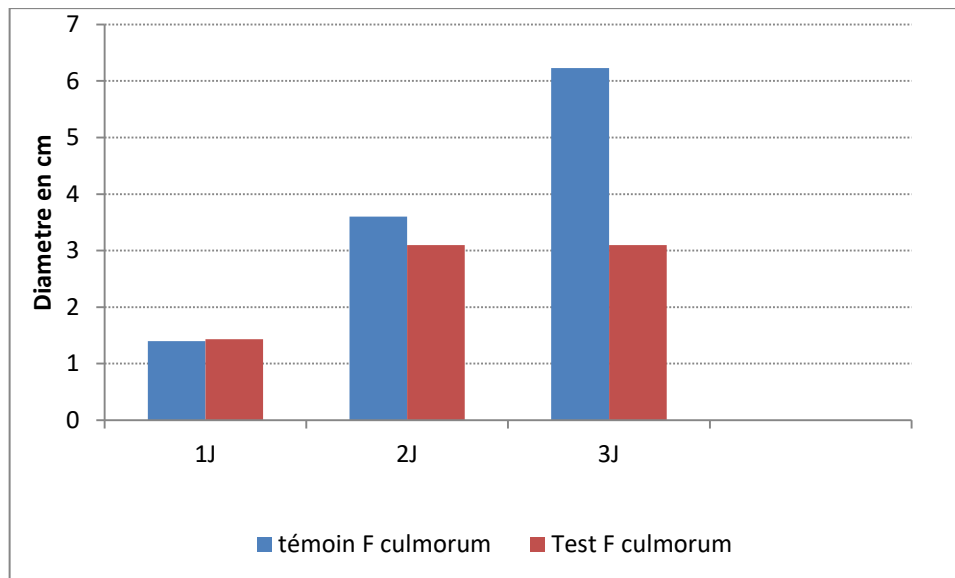


Figure 14: Effet de *Trichoderma sp* sur la croissance radiale de *F.culmorum*.

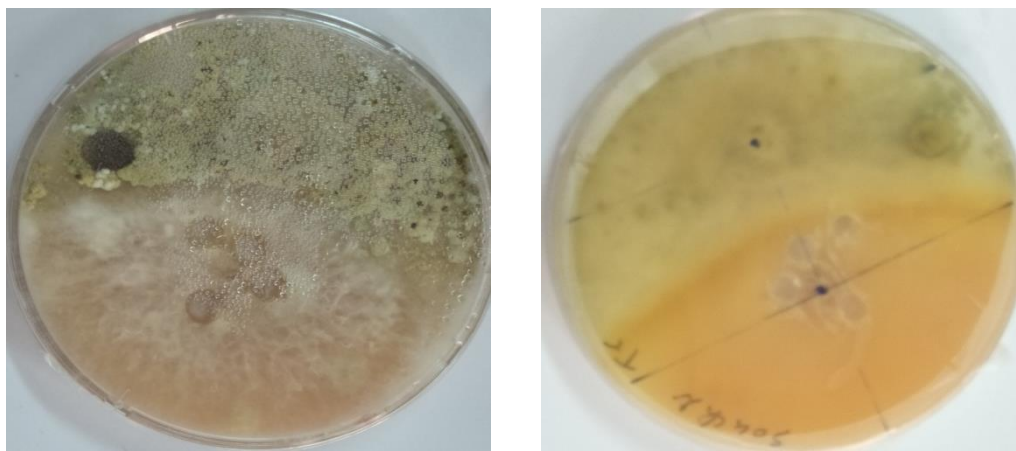


Figure 15: Confrontations *Trichoderma sp* – *F.culmorum* sur PDA (gauche : face, droite ; revers). originale (2022)

II-2-3 *F.lateritium*

Les résultats de test de confrontation avec *F. lateritium* sont illustrés dans la figure 16 et la figure 17. En absence de l'antagoniste *Trichoderma sp*, le diamètre moyen des colonies est de 0.73 cm dans un jour d'incubation et il atteint 2.36 cm après 3 jours d'incubation. d'autre part, en présence de *Trichoderma sp*, le diamètre des colonies de *F. lateritium* est de 0.66

cm après un jour d'incubation et passe à 1.93 cm au 3^{ème} jour. Ce qui correspond à un taux d'inhibition de 18.22%.

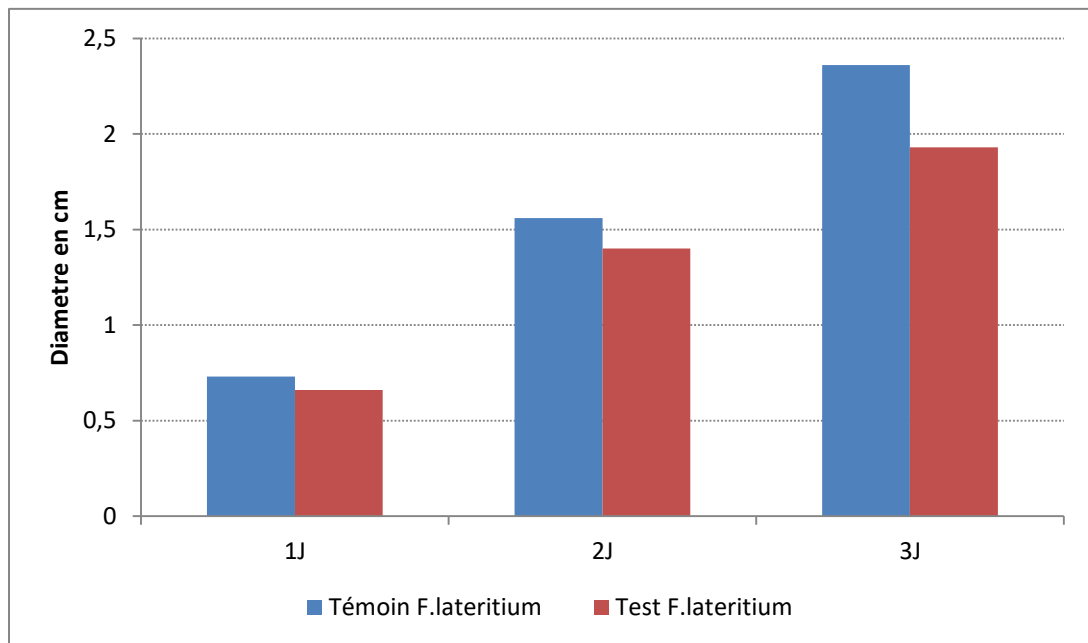


Figure 16: Effet de *Trichoderma sp* sur la croissance radiale de *F.lateritium*.

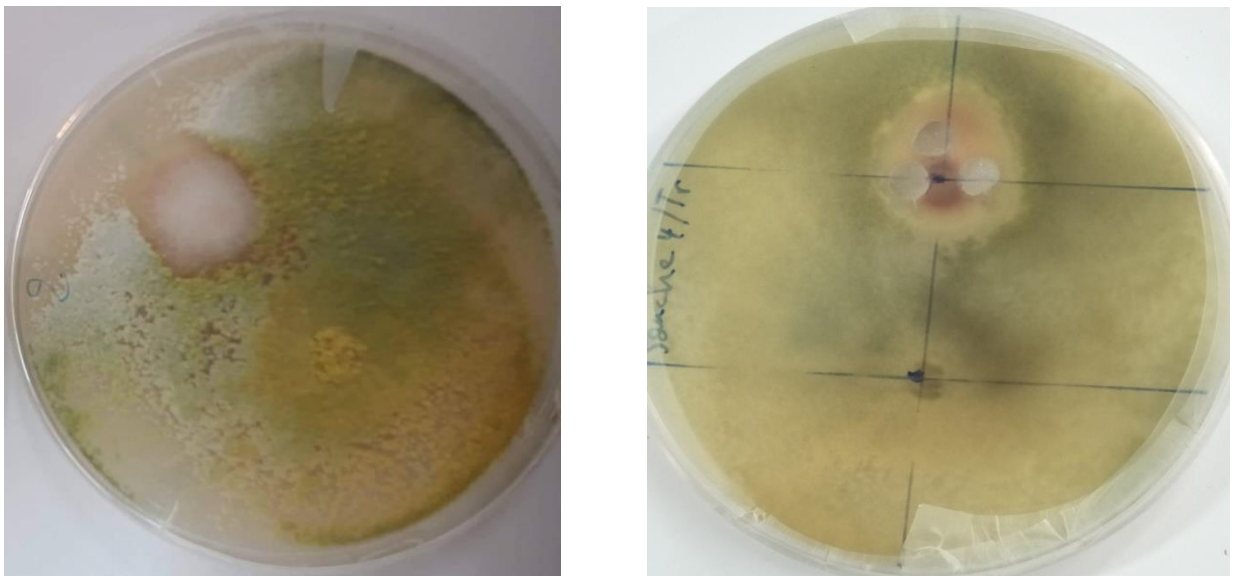


Figure 17: Confrontation *Trichoderma sp* – *F.lateritium* sur PDA (gauche : face, droite ; revers). (Originale ,2022)

II-3 Résultats de test d'antagoniste sur grain du blé

Afin de réaliser ce test, les grains de blé dur variété Oued El Bared sont prétraités avec l'antagoniste *Trichoderma sp*, puis laissés germer pendant 24h, après cette période, on ajoute les quatre souches de *Fusarium*. Les lots des grains témoins sont prétraités avec de l'eau distillée. Les résultats obtenus après 4 jours d'incubation sont résumés dans le tableau 8

Tableau 8: Effet de l'antagoniste *Trichoderma sp* sur les souches de *Fusarium* (essai sur grains de blé dur).

	Pourcentage de germination (%)		Longueur moyenne de coléoptile (cm)		Poids moyen de coléoptile (mg)	
	ptED	ptTR	ptED	ptTR	ptED	ptTR
Témoin	98	44	2,76	1,90	28	24
<i>F.graminearum</i>	86	54	2,02	2,16	18	22
<i>F.culmorum</i>	89	52	2,64	2,07	23	25
<i>F.lateritium</i>	96	60	2,64	1,96	25	24
<i>F. verticillioides</i>	82	54	3,02	1,82	26	21

ptED : prétraitement avec eau distillée ; **ptTR** : prétraitement avec *Trichoderma sp*

Le pourcentage de germination des grains prétraités avec de l'eau distillée seule est de 98% ; la longueur et le poids moyens de la coléoptile sont de 2.76 cm et 28 mg respectivement. L'inoculation des grains prétraités avec de l'eau distillée par les quatre souches de *Fusarium* diminue le pourcentage de germination de 2 à 16% et diminue également les deux autres paramètres, la plus grande diminution de pourcentage de germination est observé pour *F. verticillioides* alors que la plus grande des deux autres paramètres est observée pour *F.graminearum*.

Concernant les grains prétraités avec la souche *Trichoderma sp* seules, on constate que celle-ci exerce un effet négatif sur la germination, le pourcentage diminue considérablement (de 98% à 44%), un effet négatif est constaté également sur les deux autres paramètres. Concernant les grains inoculés avec les souches de *Fusarium*, le prétraitement avec *Trichoderma sp* n'améliore pas le pourcentage de germination chez ces grains, mais au

contraire il le diminue encore. La seule amélioration remarquée concerne la longueur et le poids moyens de la coléoptile des grains inoculé avec *F. graminearum*.

II-4 Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait aqueux d'origan sur la souche *Fusarium verticillioides*

En absence de l'extrait aqueux de l'origan, le diamètres des colonies de *F. verticillioides* passe de 1.03 cm après un jour d'incubation à 6.93 cm au bout de 8^{ème} jour, par contre en présence de l'extrait de l'origan avec la dose de 30 %, le diamètre de ce champignon devient 0.6 cm au 1^{er} jour et 5.73 au 8^{ème} jour ce qui correspond à des taux d'inhibition allant de 17 à 76% (annexe). Avec la dose de 20 % le diamètre des colonies au 1^{er} jour est de 0.6 cm, il passe à 3.93 cm dans le 5^{ème} jour ; ce qui correspond à des taux d'inhibition qui peuvent arriver jusqu'à 55% . Pour les dose d'extraits égale à 10%, l'effet inhibiteur de la croissance radiale des colonies est faible (taux entre 0 et 35.9%) : On n'a pas enregistré d'effet inhibiteur de la croissance radiale pour la dose 5%. La diminution de la croissance radiale pour la dose 30% et 20% est accompagnée par une diminution de concentration en spores (Tableau 09), la diminution la plus élevée est enregistrée pour la dose en extrait la plus élevée (30%)

Tableau 9: Concentrations en spores produites par *F. verticillioides*.

	Témoin	Dose 01 (30%)	Dose 02 (20%)	Dose 03 (10%)
Nombre de spores (x 10⁵ spores /ml)	152	70	99	185

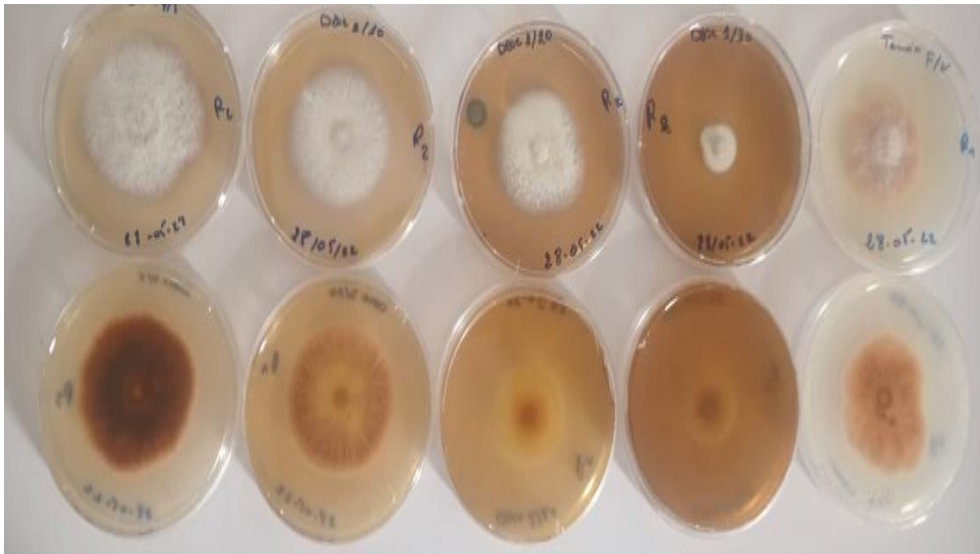


Figure 18: Colonies de *F. verticillioides* développés sur le milieu PDA avec les différentes doses.

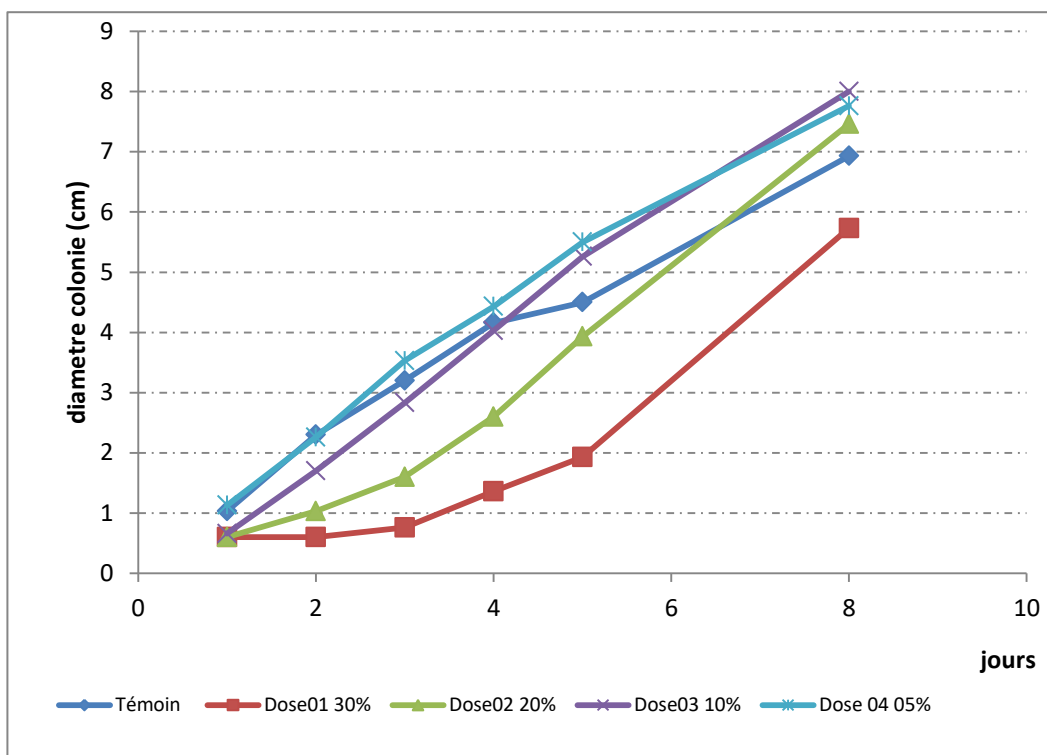


Figure 19: Evolution de la croissance radiale de *F. verticillioides* dès le milieu PDA avec les différentes doses

Pour évaluer l'effet de *Trichoderma* sur les agents de la fusariose du blé, on a choisit une souche isolée à partir de blé, la souche a montré un bon effet inhibiteur de la croissance radiale des souches de *Fusarium* testée ; ces résultats sont en accord avec ceux rapporté par Abdallah (2010); Matrerase et al (2012). Dans ces derniers (Materase et al., 2012), les auteurs ont utilisé dix isolats appartenant au genre *Trichoderma* comme agents de lutte biologique contre deux isolats de *F. culmorum* et *F. graminearum*. ; les résultats obtenus ont indiqué que l'isolat *Trichoderma gamsii* était le plus efficace. Ils ont alors suggérer que cette espèce représente un bon candidat dans la lutte biologique contre la fusariose de l'épi du blé.

L'expérience de confrontation directe menée par plusieurs auteurs a montré que tous les isolats de *Trichoderma* étaient capables d'inhiber la croissance mycélienne des souches de *Fusarium*, avec des taux différents de souche à autre (Khan et al., 2006 ; Bounaka et al,2021).

Dans notre travail, on a trouvé que l'extrait aqueux de l'origan à des concentrations \geq 20% possède des taux d'inhibition supérieur à 50%. Des résultats similaires ont été obtenus par Bellili et Slimani (2017)

Conclusion

Conclusion

Les problématiques liées à la présence et au développement de *Fusarium* est, aujourd'hui, non négligeables pour des raisons aussi bien épidémiologiques qu'économiques. La fusariose connue dans l'agriculture est considérée comme un phytopathogène grave chez les plantes, notamment chez les phytopathologistes

Les souches de *Fusarium* utilisées dans cette étude sont quatre et elles sont toutes phytopathogène sur le blé, leurs effets sur la germination et sur la croissance de la coléoptile montre qu'il existe une variabilité dans l'agressivité. Les espèces les plus agressives sont *F.culmorum.*, *F graminearum.*

Le test de confrontation directe a mis en évidence le pouvoir inhibiteur de la souche *Trichoderma* sp utilisée. Les meilleurs pourcentages d'inhibition sont obtenus pour *F graminearum* et *F. culmorum.*

La méthode de la dilution des extraits dans le milieu de culture solide nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'extrait aqueux de l'origan vis-à-vis du *Fusarium verticillioides* pour des doses supérieures à 20%.

Donc, suite à ces résultats positifs au laboratoire, nous pouvons conclure que l'extrait de l'origan précitée est intéressante et peuvent être expérimenté in vivo pour leur utilisation dans la lutte contre *Fusarium verticillioides.*

References

bibliographies

- Abdallah-Nekache N, Laraba I, Ducos C, Barreau C, Bouznad Z, Boureghda H (2019) Occurrence of fusarium head blight and fusarium crown rot in Algerian wheat: identification of associated species and assessment of aggressiveness. *Eur J Plant Pathol* 154(3):499–512
- Akinsanmi, O.A., Backhouse, D., Simpfendorfer, S. et Chakraborty, S. 2006. Pathogenic variation of *Fusarium* isolates associated with head blight of wheat in Australia. *Journal of Phytopathology* 154 513-521.
- Arvy M.P., Gallouin F., 2003. *Epices, aromates et condiments*. Ed. Belin, Paris. 412 p.
- Baba Aissa F., 1991. *Les plantes médicinales d'Algérie: identification, description, principes actifs, propriétés et usage traditionnel des plantes communes en Algérie*. Ed. Bouchène et Ad. Diwan, Alger. p: 121.
- Ballois N., 2012. *Caractérisation de la diversité des espèces de fusarium et de leur potentiel mycotoxinogène sur céréales françaises*. Master Fage Biologie et Ecologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement. Spécialité. BIPE. 36p.
- Baydar H., Osman S., Ozkan G, Karadoan, T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control*. 15:169-172.
- Bellili Y , Slimani F, 2017. *Etudes de l'effet de quelques plantes médicinales sur Fusarium verticillioides*. Mémoire de master , université de Bouira 67p
- Bendahou M, Muselli A, Grignon-Dubois M, Benyoucef M, Desjobert JM, Bernardini F, Costa J. 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* desf. Essential oil and extracts obtained by microwave extraction comparison with hydro distillation. *Food Chem*, 106, 132–139.
- Benmounah H., Brinis L., 2018. *Etude de quelques expressions morpho-physiologiques chez trois génotypes de blé dur pour la sélection à la tolérance au déficit hydrique*. *Rev. Sci. Technol., Synthèse* 37: 78-86
- Bissett, J. 2004. Commentaires de l'adresse internet suivante : [http : //www. Medicalglossary .org/fungi_ mitosporic _ fungi_ definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html).
- Bissett, J. 1991. Commentaires de l'adresse internet suivante : [http : //www. Medicalglossary .org/fungi_ mitosporic _ fungi_ definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html).
- Bissett, J. 1992. Commentaires de l'adresse internet suivante : [http : //www. Medicalglossary .org/fungi_ mitosporic _ fungi_ definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html).

- Bissett, J. 1984. Commentaires de l'adresse internet suivante : [http : //www.Medicalglossary .org/fungi_ mitosporic _ fungi_ definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html).
- Bottalico, A., Perrone, G., 2002. Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with head blight in small-grain cereals in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 108, 611-624.
- Bouanaka H, Bellil I* , Harrat W, Boussaha S, Benbelkacem Khelifi D. 2021. On the biocontrol by *Trichoderma afroharzianum* against *Fusarium culmorum* responsible of fusarium head blight and crown rot of wheat in Algeria . *Egyptian Journal of Biological Pest Control* (2021) 31:68
- Bouanaka H, Bellil I, Khelifi D. 2021. Multiple methods for varietal resistance assessment of durum wheat cultivars against *Fusarium culmorum* the causal agent of Fusarium Head Blight and Crown Rot in Algeria. *Physiol Mol Plant Pathol.* 115:101683.
- Bouhaddouda N., 2016. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar –Annaba, 205p.
- Brennan, J. M., Fagan, B., van Maanen, A., Cooke, B. M., Doohan, F. M. (2003). Studies on in vitro growth and pathogenicity of European *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology*, 109, 577–587
- Brennan, J. M., Fagan, B., van Maanen, A., Cooke, B. M., et Doohan, F. M. 2003. Studies on in vitro growth and pathogenicity of Eurprean *Fusarium* fungi. *European Journal of Plant Pathology* 109: 577-587.
- Brown, Urban, Van de Meene Aml, Hammond-Kosack, 2010: The infection biology of *Fusarium graminearum*: Defining the pathways of spikelet to spikelet colonization in wheat spikes. *Fungal biology* ,114, 555-571.
- Chun SS, Vatter DA, Lin YT, Shetty K (2005). Phénolique antioxydants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobien activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochem*, 40, 809–816.
- Control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease.* 87, pp: 04-10.
- Crostan, R. P, Williams, J. T. 1981. A world survey of wheat genetic resources. *IBRGR Bulletin/80/59*, 37 pages. In: Etude de la contribution des paramètres phéno morphologiques dans l'adaptation du blé dur (*Triticum durum Desf*) dans l'étage

- bioclimatique semi-aride. Mazouz, L. 2006. Mémoire de Magister. Fac. Sci. agro/université El-hadj LakhderBatna.72p.
- Crystel H., 2014. Le marché du blé dur. Service Agronomie-EconomieEnvironnement. Comité technique de blé dur, Ouest Océan, Février, Vouillé 79. ARVALIS. 25p.
 - Datta B.S., Das A.K. ET Ghosh S.N., 2004: Fungal antagonists of some plant pathogens. Mycopathology, 1: 15 - 17.
 - Djaouti M., 2010. Renforcement des capacités des acteurs de la filière céréales en Algérie dans le cadre d'un partenariat Nord-Sud. Cas de la wilaya de Sétif. Série 'Master of science' N°106. Thèse Master science, CIHEAM. IAMM. 106, 142p.
 - Dorman HJD, Peltoketoa A, Hiltunena R, Tikkanen MJ (2003). Characterisation of the antioxidant properties of deodourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chem, 83, 255–262.
 - DPVCT [Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques] , 2017.Index des produits phytosanitaires à usage agricole. DPVCT, Edition 2017, 230p.
 - Erdogan O.I, Belhattab R., 2010. Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare subsp. glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. Ind. Crop. Prod. 32: 566–571.
 - FAO 2021 : <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr>
 - Figueredo G., 2007. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse de Doctorat, Université Clermont-Ferrand, France.
 - Guignard J.L., 1996. Abrégés en botanique. 10 ème éd. Ed. Masson, Paris. 278 p.
 - Hamadache, A. 2013.éléments de phytotechnie générale -Grandes cultures – Tome 1 : le blé. 256 p.
 - Harlan, J.R. 1975. Our vanishing genetics resources. Science, 188,618-621 p.
 - Henry, Y., De Buyser, J. (2001). L'origine des blés. In : Belin.Pour la science. De la graine à la plante. Ed Belin. Paris .69-72 p.
 - Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological
 - ITIS .Integrated Taxonomic Information System, 2022. Report *Triticum* L. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42236#null . Consulté le 10/06/22.

- Khan MR, Fischer S, Egan D, Doohan FM (2006) Biological Control of Fusarium Seedling Blight Disease of Wheat and Barley. *Phytopathol.* 96(4):386–394.
- Kintzios S.E., 2002. Profile of the multifaceted prince of the herbs. In: Kintzios S.E. *Oregano – The Genera Origanum and Lippia*. Ed. Taylor & Francis, London. pp: 3–8.
- Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, Milosa M, (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem*, 85, 633–640.
- Lemmouchi N . 2012. Contribution hno., Synthèse 32: 22 -29tocka *Fusarium* Link responsable des pourritures racinaires des céréales dans la région de Batna : isolement, identification et pathogénie des espèces. Thèse de Magister en Agronomie : *Ecole Nationale Supérieure Agronomique*, 80p
- Lepoivre, ph. ,2003. in de Boeck .phytopathologie .rue des minimes 39, b_1000 Bruxelles ,306p.
- Lery, F. (1982). *L’agriculture au Maghreb ou pour une agronomie méditerranéenne*. Ed. Maisonneuve et Larose. Paris. 338 p.
- Martin L., Yves D. et Sylvie R., 2007. Fusariose de l’épi chez le blé et l’orge. CÉROM Saint-Bruno-de-Montarville, bulletin technique : phytopathologie : 2. (1). 5p.
- Mascher F., Michel V. et Browne RA., 2005. Sélection de variétés de blé et de triticales résistantes à la fusariose sur épi. *Revue suisse Agric.* 189-194.
- Matarese, F., Sarrocco, S., Gruber, S., Seidl-Seiboth, V. et Vannacci, G. 2012. Biocontrol of Fusarium head blight interactions between Trichoderma and mycotoxigenic Fusarium. *Microbiology* 158: 98-106.
- Matarese, F., Sarrocco, S., Gruber, S., Seidl-Seiboth, V. et Vannacci, G. 2012. Biocontrol of Fusarium head blight: interactions between Trichoderma and mycotoxigenic Fusarium. *Microbiology* 158: 98-106.
- Mathieu CB., Nathalie S., Denis Pageau M Sc. et Sylvie R., 2012. Pour en savoir plus sur la Fusariose. 7p.
- Metcalf D. A. Wilson, C. R., 2001. The process of antagonism of *Sclerotium cepivorum* in white rot affected onion roots by *Trichoderma Koningii*. *Plant Pathologie* 50: 249-257.
- Mishra, P.K., Fox, R.T.V. et Culham, A. 2003. Inter-simple sequence repeat and aggressiveness analyses revealed high genetic diversity, recombination and long range dispersal in *Fusarium culmorum*. *Annals of Applied Biology* 143: 291-301.

- Nour A., L. Brinis L, 2016 Effet du stockage sur la vigueur et la viabilité des semences de deux variétés de blé dur (*Triticum durum*, Desf). Rev. Sci. Technol., Synthèse 32: 22 -29
- Ocaña-Fuentes, A.; Arranz-Gutiérrez, E.; Señorans, F.J.; Reglero, G., 2010. Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essential oils: Anti-inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. Food Chem. Toxicol, 48, 1568–1575.
- Odenbachet. (1 9 8 5). In Kellou K.2003. Sauvetage d'embryons Issus des croisement *Triticum durum* Desf.X *Aegilops geniculata* Roth. Et *T.durum* Desf.X *Agropyron Repens*.L.Pal. Beauv. Memo Mag, Fac.Sci. Univ Mentouri.
- Oka Y, Nacar S, Putievsky E, Ravid U, Yaniv Z, Spiegel Y., 2000. Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. Phytopathologie; 90:710–715.
- Palazzini, J. M., Ramirez M. L., Torres, A. M. et Chulze, S. 2007. Potentiel biocontrol for *Fusarium* head blight and deoxynivalenol production in wheat. Crop Protection 26: 1702-1710.
- Pirgozliev SR., Edwards SG., Hare MC. ET Jenkinson P., 2003. Strategies For the control of *Fusarium* head blight in cereals / European Journal of Plant Pathology. 109. 731–742.
- Prescott JM., Burnett PA., Saari EE., Ransom J., Bowman J W., Milliano do., Singh RP. ET Bekele G., 1987. Maladies at. ravageurs du blé : Guide d'identification au champ. CIMMYT. Mexico, D.F., Mexico. 135p.
- Qu, B., Li, H.P., Zhang, J.B., Huang, T., Carter, J., Liao, Y.C. et Nicholson, P. 2008. Comparison of genetic diversity and pathogenicity of *Fusarium* head blight pathogens from China and Europe by SSCP and seedling assays on wheat. Plant Pathology 57 642-651
- RAP. Réseau d'avertissements phytosanitaire 2017, leader en gestion intégrée des ennemies de cultures. Bulletin d'information, grande culture, N°6, 2017,2-4p
- Richard M., 2004. La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique.1-3. <http://www2.gnb.ca/content/dam/gnb/Departments/10/pdf/Agriculture/FieldCropsGrandesCultures/FUSAR>
- Rifai Ma, 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol Pap 116: 1-116.

- Sagdic O, 2003. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm Wiss Technol*, 36, 467–473.
- Sahin F, Gulluce M, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M, Agar G, Ozer G., 2004. Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the eastern Anatolia region of Turkey. *Food Control*, 15, 549–557.
- Samuels G. J. ; Petrini O., Manguin S., 1994. Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. *Mycologie*, 1994, 86 : 421-435.
- Sandoval-Denis M, Sutton DA, Cano-Lira JF, Gené J, Fothergill AW, Wiederhold NP, Guarro J. Phylogeny of the clinically relevant species of the emerging fungus *Trichoderma* and their antifungal susceptibilities. *J Clin Microbiol*. 2014;52(6):2112-2125
- Shores, M., Yedidia, I. Chet, I., 2005. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathologie* 95, 76–84.
- Sivan, A., Chet, I., 1989. Degradation of Fungal Cell Walls by Lytic Enzymes of *Trichoderma harzianum*
- Smiley, R.W., Gourlie, J.A., Easley, S.A., et Patterson, L.M. 2005. Pathogenicity of fungi associated with the wheat crown rot complex in Oregon and Washington. *Plant Disease* 89: 949-957.
- Spada P. & Perrino P., 1996. Conservation of Oregano species in national and international collections: an assessment. In: *Oregano: proceedings of the IPGRI International workshop on Oregano*, 8–12 May. Valenzano, Italy. pp: 14–23.
- Strange RN., Smith H., 1971. A fungal growth stimulant in anthers which predisposes wheat to attack by *Fusarium graminearum*. *Physiological Plant Pathology* 1. 141-150.
- Suty, L., 2010. La lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologiques. Ed. Educagri. P 44-45.
- Teusher E., Anton R. Lobstein A., 2005. *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc, Paris, 522.
- Trail F., 2009. For blighted waves of grain : *Fusarium graminearum* in the postgenomics era. *Plant Physiology*, 149(1). 103-110.

- Tronsmo, A. and Hjeljord, L., 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: Harman G. E., Kubicek C.P. (eds.). *Trichoderma* and *Gliocladium*, Vol. 2, Enzymes, biological control and commercial application, pp.129-151. Taylor and Francis Ltd, London, UK.
- Vinale F, Sivasithamparam K, El G, Ruocco M, Woo S, Lorito M., 2007 *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism. *Nat Prod Commun* 7:1545–1550.
- Wegulo S., Jackson T A., Baenziger S., Carlson M. et Hernandez J., 2008. Fusarium Head Blight of Wheat. University of Nebraska Lincoln, Extension. 8p
- Wu, A.B., Li, H.P., Zhaco, C.S. et Liao, Y.C. 2005. Comparative pathogenicity of *Fusarium graminearum* isolates from China revealed by wheat coleoptile and floret inoculations. *Mycopathologia* 160: 75-83.
- Yedidia, I., Benhamou,N., Chet, I., 1999. Introduction of defense responses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(3), 1061-1070.
- Yu, J.-B., Bai, G.-H., Zhou, W.-C., Dong, Y.-H. et Kolb, F. L. 2008. Quantitatif trait loci for *Fusarium* head blight resistance in recombinant inbred population of Wangshuibai/ Wheaton. *Phytopathology* 98: 87-94.
- Yuen, G.Y.et Schoneweis, S. D. 2007. Stratégies for managing *Fusarium* head bilght and deoxynivalenol accumulation in wheat. *international journal of food microbiology* 119 :126-130.
- Zillinsky FJ., 1983. *Maladies communes des céréales à paille : Guide d'identification*. Mexico, CIMMYT.28-40

Annexe

Taux d'inhibition enregistrés avec les différentes doses de l'extrait aqueux de l'origan

jours	1J	2J	3J	4J	5J	8J
Dose01 30%	41.7	73.9	76.3	67.3	57.1	17.3
Dose02 20%	41.7	55.2	50.0	37.5	12.7	/
Dose03 10%	35.9	26.1	11.6	3.1	/	/
Dose 04 05%	/	1.7	/		/	/

Résumé

L'objectif de ce travail est d'essayer d'évaluer deux solutions de lutte biologiques contre la fusariose de blé , il s'agit d'une souche de *Trichoderma sp* et des extraits aqueux de l'origan.. Les souches de *Fusarium* utilisées dans cette étude sont quatre et elles sont toutes phytopathogène sur le blé, leurs effets sur la germination et sur la croissance de la coléoptile montre qu'il existe une variabilité dans l'agressivité. Les espèces les plus agressives sont *F.culmorum.*, *F graminearum*. Le test de confrontation directe a mis en évidence le pouvoir inhibiteur de la souche *Trichoderma sp* utilisée. Les meilleurs pourcentages d'inhibition sont obtenus pour *F gaminearum* et *F. culmorum*. La méthode de la dilution des extraits dans le milieu de culture solide nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique de l'extrait aqueux de l'origan vis-à-vis du *Fusarium verticillioides* pour des doses supérieures à 20%.

Mots clés : lutte biologique, *Fusarium*, *Trichoderma*, Origan, extrait aqueux, Blé

Abstract

The objective of this work is to try to evaluate two biological control solutions against wheat Fusarium wilt, it is a strain of *Trichoderma sp* and aqueous extracts of oregano.. *Fusarium* strains used in this study are four and they are all phytopathogenic on wheat, their effects on germination and on coleoptile growth show that there is variability in aggressiveness. The most aggressive species are *F. culmorum.*, *F graminearum*. The direct confrontation test demonstrated the inhibitory power of the *Trichoderma sp* strain used. The best inhibition percentages are obtained for *F gaminearum* and *F. culmorum*. The method of diluting the extracts in the solid culture medium allowed us to demonstrate the antifungal power of the aqueous extract of oregano against *Fusarium verticillioides* for doses greater than 20%.

Keywords: biological control, *Fusarium*, *Trichoderma*, Oregano, aqueous extract, Wheat

ملخص

الهدف من هذا العمل هو محاولة تقييم اثنين من حلول مكافحة البيولوجية ضد ذبول القمح الفيوزاريوم ، وهو سلالة من *Trichoderma sp* ومستخلصات مائية من الزعتر. تظهر التأثيرات على النباتات وعلى نمو الفطر أن هناك تبايناً في العدوانية. أكثر الأنواع عدوانية هي *F. culmorum.* ، *F graminearum*. أظهر اختبار المواجهة المباشرة القوة المثبطة لسلالة *Trichoderma sp* المستخدمة. تم الحصول على أفضل نسب تثبيط لـ *F gaminearum* و *F. culmorum*. سمحت لنا طريقة تخفيف المستخلصات في وسط الاستزراع الصلب بإثبات القوة المضادة للفطريات للمستخلص المائي للأوريغانو ضد *Fusarium verticillioides* لجرعات أكبر من 20%.

الكلمات المفتاحية: مكافحة البيولوجية، الفيوزاريوم ، الترايكوديرما ، الزعتر ، المستخلص المائي ، القمح