



*République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche
Scientifique*



Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi
Faculté Des Sciences Exactes et des Sciences de La Nature et de la Vie
Département des Sciences de La Nature et de la Vie

N°d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Thème :

**Effet des milieux de culture sur la croissance mycélienne et la
production des spores
chez quelques mycètes phytopathogènes.**

Présenté par :

BOULEMAIZ Oussama et SAADI Mouhamed Lamri et TAMRABET Bilal

Devant le jury :

Président : MECHERI Adam	MAA	Université Oum El Bouaghi
Rapporteur : HAMITOU Mokhtar	MCA	Université Oum El Bouaghi
Examinatrice : ABEDELSSAMED Amina	MCB	Université Oum El Bouaghi

Année universitaire : 2022-2023

Remerciements

Au terme de ce travail, nous devons remercier tout d'abord dieu qui nous a donné la force et le courage de suivre nos études et d'arriver à ce stade et à nos parents qui nous ont beaucoup soutenus pendant tous le long de notre parcours.

*Un grand merci à mon encadreur **Dr. HAMITOU Mokhtar***

qui nous a beaucoup aidé, soutenu et nous a permis d'arriver à ce niveau-là et pour ses excellents conseils et surtout pour son temps passé avec nous et sa patience, sans lui en n'aurait pas pu réaliser ce modeste travail et pour sa confiance en nous.

Nous tenons à exprimer notre sincère remerciement aux membres du jury Ms. MECHERI adam et Mdm. ABDELSSAMED amina pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'être membres de jury et de bien vouloir juger et examiner ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements toute l'équipe du laboratoire l'Université Larbi Ben M'Hidi pour l'accueil cordial et pour l'attention avec laquelle ils ont soutenu nous travail

Enfin, nous renouvelons nos remerciements à ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour réaliser ce travail sans oublier les enseignants qui ont contribué à notre formation.



DEDICACES

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier
comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me
guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force
pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir
et m'encourager.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mes très chers frères **Abdou**

et **Aness, Rami, Aniss, Memdouh**

Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout

réussite

A feu mon frère **Tayeb** Que Dieu ait pitié de lui

Et Merci à mes compagnons **Bilal et Moncef**

Et tout les amais de promo

OUSSAMA



DEDICACES

A la mémoire de mon père et ma mère

Je demande à Allah de leur accorder Sa miséricorde.

A mon très cher frère **Titou**, je n'arrivai jamais à te remercier comme il se doit

C'est grâce à votre encouragement,
votre bienveillance et votre présence à mes
côtés, que j'ai réussi ce respectueux parcours.

A toute ma famille, merci

Et tous mes amis et collègues que j'aime.

À tous les étudiants de la promo

A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer



BILAL



DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

Merci mon dieu de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la patience
d'aller jusqu'au bout du rêve

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail :

A ma mère celle qui m'a donné la vie,
le symbole de tendresse qui s'est sacrifiée
pour mon bonheur et ma réussite.

A mon père, école de mon enfance,
qui a été mon ombre durant toutes les
années des études et qui a veillé tout au long de ma vie
à m'encourager à médonner l'aide et à me protégé.

À mes chers amis

À mes chères binômes OUSSAMA et BILAL

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin
pour que ce travail soit
possible, je vous dis merci .

Moncef

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

DEDICACES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATION

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. DEFENITION DE CHAMPIGNON.....2

1.2. MORPHOLOGIE2

2. MODE DE VIE DES CHAMPIGNONS3

3. CLASSIFICATION5

3.1. CLASSIFICATION CLASSIQUE.....5

3.1.1. ASCOMYCOTINA.....5

3.1.2. BASIDIOMYCOTINA5

3.1.3. CHYTRIDIOMYCOTA.....6

3.1.4. ZYGOMYCOTINA6

3.1.5. DEUTEROMYCOTINA.....6

3.2. CLASSIFIATION MOLECULAIRE6

4. REPRODUCTION DES CHAMPIGNONS7

4.1. REPRODUCTION SEXUEE7

4.2. REPRODUCTION ASEXUEE8

6.1. FACTUER PHYSIQUE ET CHIMIQUE.....9

6.1.1. LA TEMPERATURE.....9

6.1.2. ACTIVITE D'EAU10

6.1.3. LE PH10

6.1.4. L'OXYGENE.....10

6.2. ELEMENTS NUTRITIFS10

LES MACROELEMENTS :	10
LES MICRONUTRIMENTS :	10
7. SPORULATION.....	10
EFFET DE CARBONE :	11
EFFET D'AZOTE :	11
EFFET DE TEMPERATURE :	11
EFFET DE LA LUMIERE :	11
EFFET D'AERATION :	11
8. CHAMPIGNONS FILAMENTEUX.....	11
9. LES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES.....	11
9.1. FACTEUR DES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES.....	12
A) DRECHSLERA SP.....	12
B) BOTRYTIS SP.....	15
<i>BOTRYTIS CINEREA</i>	16
C) <i>ALTERNARIA SP</i>	17
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
II. 1. MATERIELS.....	22
1. 1. LES SOUCHES DES MYCETES UTILISEES.....	22
1. 2. LES MILIEUX DE CULTURES UTILISES.....	22
II. 2. METHODES EXPERIMENTALES.....	22
2. 1. PREPARATION DE MILIEU DES DATES EXTRACT AGAR(DEA).....	22
2. 2. ISOLEMENT DE <i>BOTRYTIS CINEREA</i> A PARTIR D'UN ECHANTILLON DE FRAISE.....	23
2. 3. IDENTIFICATION MACROSCOPIQUE.....	24
2. 3. IDENTIFICATION MACROSCOPIQUE.....	24
2. 4. ÉTUDE DE L'IMPACT DES DIFFERENTS MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE ET LA PRODUCTION DE SPORES CHEZ LES CHAMPIGNONS ETUDIES.....	25
2. 4.1. ANALYSE DE L'EFFET DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE CHEZ LES CHAMPIGNONS ETUDIES.....	25

2. 4. 2. ÉTUDE DE L'EFFET DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DE SPORES CHEZ LES CHAMPIGNONS ETUDIÉS.....	25
2. 4. 2. 1. PREPARATION DES SUSPENSIONS DE SPORES	25
2. 4. 2. 2. COMPTAGE SUR CELLULE DE MALASSEZ.....	25

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1. 1. ISOLEMENT DE <i>BOTRYTIS SP</i> A PARTIR D'UN ECHANTILLON DE FRAISE	27
III. 1. 2. REDETIFICATION D' <i>ALTERNARIA SP. ET DRECHSLERA SP.</i>	27
III. 1. 3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA	27
CROISSANCE MYCELIENNE ET LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ LES MYCETES UTILISES.....	27
1. 3. 1. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE CHEZ LES MYCETES ETUDIÉS	27
1. 3. 1. 1. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE De <i>Drechslera sp.</i>	27
III. 1.3.1.2. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE DE <i>Botrytis sp.</i>	28
III. 1.3.1.3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE D' <i>Alternaria sp.</i>	29
III. 1. 3. 2. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA ..PRODUCTION DES SPORES CHEZ LES MYCETES UTILISES.	30
III. 1. 3. 2.1. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ <i>Drechslera sp.</i>	30
III. 1. 3. 2.2. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ <i>Botrytis sp.</i>	31
III. 1. 3. 2.3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ <i>Alternaria sp.</i>	31
III. 2 : DISCUSSIONS.....	32
CONCLUSION.....	35
REFERENCES.....	32
ANNEXES.....	42
RESUMES.....	48

LISTE DES FIGURES

N° de Figure	Titre de figures	Page
1	Schéma présent la reproduction asexuée et sexuée d'un champignon	9
2	Symptôme de net bloch on barley	13
3	PIÉTIN-HELMINTHOSPORIOSE DES CÉRÉALES	14
4	HELMINTHOSPORIOSE de blé	15
5	Symptômes des infections par <i>botrytis cinerea</i> chez les fraises	17
6	<i>Alternaria solani</i> sur feuilles	19
7	<i>Alternaria solani</i> sur tuberculos	19
8	<i>Alternaria helianthi</i> sur tournesol	20
9	<i>Alternaria helianthi black spot</i>	20
10	Un palmier des dattes (Oum El Bouaghi).	22
11	Des dettes chisses utilisés dans ce étude	22
12	Des fraises utilisées dans cette étude	23
13	La croissance mycélienne de <i>Drechslera sp.</i> Sur les milieux de culture étudiés : DEA(a) ; PDA (b), et MEA(c).	27

14	Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>Drechslera</i> sp	28
15	La croissance mycélienne de <i>Botrytis sp.</i> Sur les milieux de culture étudiés : PDA (a), MEA(b), et DEA(c).....	28
16	Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>Botrytis sp</i>	29
17	La croissance mycélienne de <i>Alternaria sp.</i> Sur les milieux de culture étudiés	29
18	Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne d' <i>Alternaria sp</i>	30
19	Influence des milieux de culture sur la sporulation de <i>Drechslera sp</i>	30
20	Influence des milieux de culture sur la sporulation de <i>Botrytis sp</i>	31
21	Influence des milieux de culture sur la sporulation de <i>Alternaria sp</i>	32

LISTE DES TABLEAUX

N° de tableau	Titre de tableau	Page
1	Diamètre de la colonie de <i>Drechslera sp</i> sur les différents milieux étudiés.....	60
2	Diamètre de la colonie de <i>Botrytis sp</i> sur les différents milieux étudiés.....	60
3	Diamètre de la colonie d' <i>Alternaria sp</i> sur les différents milieux étudiés.....	60
4	La production des spores chez <i>Drechslera sp</i>	61
5	La production des spores chez <i>Botrytis sp</i>	61
6	La production des spores chez <i>Alternaria sp</i>	61

LISTE DES ABREVIATION

Abréviation	Signification
PDA	Potato Dextrose Agar
MEA	Malt Extract Agar
DEA	Datte Extract Agar
G	Gramme
L	Litre
°C	Degré Celsius
ml	Millilitre
cm	Centimètre
µm	Micromètre
min	Minute
h	Heure
pH	Potentiel d'hydrogène



Introduction

INTRODUCTION

Les champignons apportent une énorme contribution à notre vie. Son également utilise pour production d'antibiotique, d'enzymes et protéines... etc.

Important décomposeur des détritux organiques, les champignons jouent un rôle important dans la dégradation de la matière biologique (Kevin., 2005).

Les champignons phytopathogènes sont des espèces des champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes.

Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne. A colonisation de l'hôte par les champignons phytopathogènes peut se faire selon deux modes principaux :

Biotrophe, ou nécrotrophe (Jim., 2005)

- Les principaux genres de champignons et pseudo-champignons phytopathogènes :

Champignons : Botrytis, Drechslera et Alternaria.

Pseudo-champignons oomycètes : Phytophthora, Pythium. Ce dernier est le plus commun et le plus redouté (Lydie., 2010)

La croissance de champignon diversifier selon le milieu de culture (PDA, MEA et DEA).

Et les principaux paramètres affectant la production mycélienne ou de spores sont la température, les éléments nutritifs et la photopériode (Basu et al., 2015 ; Li et al., 2008)

Objectif c'est étudier l'effet de milieu culture sur la croissance mycélienne et la production des spores chez des mycètes phytopathogènes.

Plant de travail réaliser dans 3 chapitres :

Chapitre I : Synthèse bibliographique, étude générale sur champignon et mycète phytopathogène

Chapitre II : Matériel et méthodologie, description protocole.

Chapitre III : Résultat et discussion, Analyse des résultats



CHAPITRE I
SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUES

I. 1. DEFINITION DE CHAMPIGNON

Fungi est le pluriel du mot fungus qui est dérivé du mot latin fungour qui signifie s'épanouir (Sinha., 2016).

Champignon est un organisme eucaryote uni - ou pluricellulaire et dépourvue chlorophylle (distingue nettement des végétaux ou métaphytes), Constituée d'un thalle (ou mycélium). Organisme hétérotrophe il se nourrit par absorption, sa paroi riche en chitine.

La reproduction se fait selon un mode asexue, mais aussi sexue dans certaine condition (Chabasse *et al.*, 1999)

Par leur mode de nutrition, les champignons diffèrent donc de toutes les plantes vertes. Ils obtiennent des aliments prêts à l'emploi d'une source externe. Tous les champignons sont donc hétérotrophes. Cependant, comme toutes les autres plantes, elles ne peuvent pas ingérer de nourriture solide mais l'absorbent directement à travers les membranes cellulaires soit en vivant comme saprophytes soit comme parasites. Ainsi, selon leur mode de nutrition, les champignons sont classés en deux catégories, les saprophytes et les parasites.

Les saprophytes poussent là où la matière organique morte abonde dans le substratum. Ce mode de vie est appelé saprophyte. Les parasites vivent dans ou sur les corps vivants d'autres organismes (plantes et animaux) et en tirent leur nourriture. Ce mode de vie est appelé parasitaire (Sinha, 2016).

1.2. MORPHOLOGIE**1.2.1. LA PAROI**

L'une des principales caractéristiques des champignons est la présence d'une "paroi". Qui entoure la cellule fongique et la protège des attaques de l'environnement.

Cette paroi est essentielle à la survie du champignon. Constituée d'un réseau tridimensionnel de polysaccharides décornant un noyau structural central composé de B1,3 glucanes et de chitine (Latgé., 2007).

Il existe des preuves solides que la chitine, les glucanes et les glycoprotéines sont liés de manière covalente et que la réticulation est un processus dynamique qui se produit au niveau extracellulaire. (Shaun *et al.*, 2006)

1.2.2. THALLE

Le thalle est la structure végétative présente chez tous les champignons. Il est composé de filaments appelés hyphes, qui s'associent pour former le thalle filamenteux ou le mycélium.

Il existe deux types de thalle : siphonné et septé.

Le thalle siphonné est caractéristique des Zygomycètes. Il se compose d'éléments tubulaires peu ou pas ramifiés, de diamètre large et irrégulier (environ 5-15 μm). Ce type de thalle n'est pas cloisonné, ce qui signifie qu'il ne présente pas de cloisons internes dans les hyphes.

Le thalle septé, quant à lui, est caractéristique des Ascomycètes, Basidiomycètes et Déutéromycètes. Il est constitué de filaments de diamètre étroit (environ 2-5 μm) et régulier.

Les hyphes de ce type de thalle sont divisés par des cloisons, appelées cloisons transversales, qui forment des compartiments individuels appelés articles. Ces cloisons peuvent être unicellulaires ou pluricellulaires (Badillet *et al.*, 1987).

2. MODE DE VIE DES CHAMPIGNONS

Tous les champignons, à l'exception des lichens, sont des hétérotrophes qui produisent de nombreuses enzymes capables de dégrader des molécules résistantes comme La cellulose (Dajoz, 2008). Les champignons peuvent être saprophytes (saprobe ou saprotrophes dans la littérature d'Angle-Saxonne), parasitaires (parasitic), ou symbiotiques (symbiotic) (Nasraoui *et al.*, 2003).

2.1. LES SAPROPHYTES

Saprophytes (du grec Sapro, pourrir, phuton, plante) ou se nourrissent de substrats organiques morts (Boullard, 1997). C'est l'un des trois principaux modes de nutrition hétérotrophe des champignons, les saprophytes utilisent la matière organique morte, qu'ils provoquent (avec l'aide de bactéries) pour décomposer : débris végétaux (feuilles et fruits tombés, bois mort, souches d'herbe, etc.), restes d'animaux, humus du sol (Ozenda, 2006).

Les moisissures dépendent des habitats humides et elles synthétisent une variété d'enzymes contenant de l'oxygène, ce qui leur permet de s'adapter à une variété de substrats.

Certaines moisissures altèrent diverses matières organiques mal entreposées ou exposées à l'humidité, et certaines moisissures se développent sur les matières alimentaires et

sécrètent des substances hautement toxiques pour les humains et les animaux, Telles que : les aflatoxines

(Bouchet *et al.*, 1999).

2.2. LES PARASITES

Les champignons sont parasites dans une partie de leur cycle de vie et saprophytes (dans les débris ou le sol de l'hôte) dans une autre partie (parasites facultatifs). D'autres champignons ont une activité parasitaire spécialisée (parasites obligatoires).

La forme la plus primitive de parasitisme est présentée par des facteurs opportunistes qui sont essentiellement saprotrophes et n'attaquent les tissus végétaux que dans des conditions défavorables à la plante (blessures, tissus anciens.) (Nasraoui *et al.*, 2003). Les champignons parasites sont des agents responsables de maladies fongiques animales et de la cryptogamose végétale, très nocives pour l'agriculture. (Ozenda, 2006). Parmi les maladies cryptogamiques les plus fréquemment rencontrées, le mildiou, le chancre, le charbon et la rouille sont souvent cités (Tourte *et al.*, 2005).

2.3. LES SYMBIOTIQUES

C'est une relation très bénéfique aux deux parties : elle peut être facultative ou obligatoire

(Florent, 1993).

Ces champignons sont liés, selon le cas :

- 1- A des algues ou des cyanobactéries, avec lesquelles ils forment des lichens ;
- 2- Aux racines ou racines fines de diverses plantes supérieures (arbres, fougères, bruyère, etc.), qui forment des structures appelées mycorhizes ;
- 3- A les bactéries et même aux animaux, des levures symbiotiques sont présentes dans le tissu adipeux de certains insectes (Ozenda, 2006).

▪ MYCORHIZES

Le mycorhize est une association symbiotique entre un champignon et les racines d'une plante, qui tire son origine des mots grecs "mukês" signifiant champignon et "rhiza" signifiant racine. En d'autres termes, il s'agit d'une racine qui a été colonisée par un champignon mycorhizien, ce qui a entraîné une modification de sa morphologie. En effet, le champignon entoure l'extrémité des radicelles avec un tissu dense de filaments appelé le mycélium. L'apparence des racines mycorhizées varie considérablement d'un champignon à l'autre (Egli *et al.*, 2002).

▪ LICHENS

Le terme lichen fait référence à une association symbiotique entre un champignon filamenteux, appelé "mycobionte", et au moins un organisme photosynthétique, appelé "photobionte", qui peut être une microalgue, une cyanobactérie, ou les deux. En général, aucun de ces organismes ne peut survivre seul. La plupart des champignons impliqués dans cette association appartiennent au groupe Ascomycota, bien que certains d'entre eux soient des Basidiomycota (Lutzoni *et al.*, 2009).

3. CLASSIFICATION**3.1. CLASSIFICATION CLASSIQUE**

La classification la plus couramment utilisée est celle de Hawksworth, Sutton et Ainsworth (1970), qui a été modifiée ultérieurement par Kwon Chung et Bennett (1992) ainsi que par Hoog (1995).

Les champignons sont répartis en quatre divisions distinctes, à savoir les Chytridiomycota, les Zygomycotina, les Ascomycotina et les Basidiomycotina, en fonction de leur mode de reproduction sexuelle. Lorsque le mode de reproduction sexuelle est inconnu, ces divisions sont généralement appelées Deuteromycotina ou fungi imperfecti (Chabasse, 2001)

3.1.1. ASCOMYCOTINA

Les champignons de l'Ascomycota subissent une méiose après la formation d'un zygote temporaire et produisent des méiospores à l'intérieur d'une structure appelée asque. Ils ont une compatibilité sexuelle bipolaire.

La plupart des champignons ascomycètes hyphales ont en commun une paroi cellulaire principalement composée de chitine et de glucane, ainsi que des pores septaux (Barr, 2001).

3.1.2. BASIDIOMYCOTINA

Le vaste ensemble d'espèces inclus dans le groupe actuel ne présente qu'un seul lien morphologique commun, à savoir le basidium sur lequel les spores sont portées. Un basidium se compose d'une cellule relativement grande, Généralement, elle a une forme légèrement claviforme, à partir de la partie supérieure libre de laquelle se développent quatre, moins fréquemment deux, fines excroissances appelées stérigmates ; chaque stérigmate porte une spore (Masse, 1910).

3.1.3. CHYTRIDIOMYCOTA

Les Chytridiomycota sont une catégorie de champignons caractérisés par leur capacité à générer des zoospores munies d'un unique flagelle dirigé vers l'arrière. Leur structure corporelle, appelée thalle, est typiquement de petite taille et présente une grande diversité (Powell, 2017).

3.1.4. ZYGOMYCOTINA

Les Zygomycètes constituent une classe de champignons peu remarquables au sein des Zygomycotina. Ils se reproduisent asexuellement par des spores non mobiles, chacune étant entourée d'une paroi spore. Leur processus de reproduction sexuée est assez distinctif, impliquant la fusion de deux gamétanges pour former une zygospore à paroi épaisse. Parmi les trois ordres identifiés dans cette classe, les Mucorales sont les plus nombreux (Ingold *et al.*, 1993).

3.1.5. DEUTEROMYCOTINA

Deuteromycotina représente une division majeure des champignons. Cependant, cette division est considérée comme une catégorie de regroupement générale. Elle englobe des espèces qui ne présentent pas de stade sexuel normal connu, ce qui rend difficile leur classification précise dans d'autres catégories. La plupart de ces champignons se reproduisent par des conidies, bien que certains d'entre eux se développent uniquement sous forme de mycélium, sans produire de spores (Ingold *et al.*, 1993).

3.2. CLASSIFICATION MOLECULAIRE

Cette section donne un aperçu des techniques de biologie moléculaire utilisées pour classer les champignons. Lorsque les caractéristiques morphologiques ne suffisent pas à identifier un champignon. Les méthodes de biologie moléculaire sont basées sur l'examen de gènes (loci), de fragments d'ADN spécifiques (espaceurs, introns, etc.). Par exemple, 5.8S (hautement conservé), 18S, 25S, etc... (Très conservés mais plus utiles que le 5.8S), les espaceurs (internes ou externes, régions non codantes et variables), ou les espaceurs intergéniques (IGS) séparant deux copies de l'ADN ribosomal (Verscheure *et al.*, 2002).

4. REPRODUCTION DES CHAMPIGNONS

Les structures de reproduction des champignons se forment habituellement lorsque le thalle a atteint un stade de développement suffisant et a accumulé une quantité adéquate de ressources alimentaires. La plupart des champignons possèdent deux modes de reproduction: La reproduction asexuée (également appelée reproduction imparfaite ou végétative, typique de l'anamorphe) et la reproduction sexuée (également appelée reproduction parfaite, caractéristique du téléomorphe) (Berdi *et al.*, 2009).

4.1. REPRODUCTION SEXUEE

Le processus de reproduction sexuée des champignons comprend une étape de plasmogamie,

Qui correspond à la fusion des cytoplasmes, suivie de la caryogamie, qui est la fusion des noyaux. Ensuite, une méiose, qui est une division réductionnelle (Lepoivre, 2003).

La fonction de la forme sexuée, également appelée téléomorphe, est de préserver l'espèce et elle apparaît généralement en fin de saison (Corbaz, 1990).

Lorsque les gamètes produits par un même thalle sont incompatibles, on parle d'hétérothallisme, tandis que dans le cas contraire, lorsque les gamètes sont compatibles,

On parle d'homothallisme (Lepoivre, 2003).

Il existe quatre types de spores sexuées :

A. L'oospore : Résulte de l'union de deux gamétanges morphologiquement différents, l'anthéridie et l'oogone, qui contiennent respectivement les gamètes mâles et femelles.

L'oogone donne naissance à l'oosphère (ou œuf) qui, après fécondation, se transforme en oospore à paroi épaisse. Ce type de spore est caractéristique du phylum des Oomycota.

B. La zygosporé : Résulte de l'union de deux gamétanges morphologiquement identiques formés sur des filaments parentaux de polarité opposée. Le gamétange récepteur, considéré comme femelle, forme la zygosporé, tandis que le gamétange donneur est considéré comme mâle. Les zygosporés sont spécifiques du phylum des Zygomycota.

C. L'ascospore : Il s'agit d'une endospore haploïde caractéristique du phylum des Ascomycota. Les ascospores se forment généralement au nombre de huit dans une structure appelée asque, située au sein d'une fructification ascogène comprenant également un péridium et des

paraphyses stériles. La formation de cette fructification résulte de la fécondation d'un ascogone par une anthéridie. L'ascome ou l'ascocarpe peut avoir différentes formes, telles qu'une cléistothèce fermée, un périthèce avec un ostiole, une apothécie avec une ouverture étalée ou un pseudothèce multiloculaire.

D. La basidiospore : C'est une spore exogène qui se forme sur une structure appelée baside. Les basides produisent généralement une tétrade de basidiospores haploïdes. Les basides et les basidiospores sont caractéristiques du phylum des Basidiomycota, dont la reproduction sexuée implique la fusion d'une spermatie avec une hyphé réceptive. Les basidiomes où basidiocarpes, qui sont des structures fructifères, se trouvent uniquement chez certains Basidiomycota (Prescott *et al.*, 2018).

4.2. REPRODUCTION ASEXUEE

La principale modalité de dissémination du parasite chez les champignons est la reproduction asexuée, qui peut résulter de la fragmentation du thalle ou d'une véritable sporulation. De manière générale, les spores produites par la reproduction asexuée sont appelées conidies (Lepoivre, 2003).

La forme asexuée, également connue sous le nom de forme imparfaite ou anamorphe, est responsable de la propagation (Corbaz, 1990).

Les champignons peuvent se reproduire de manière asexuée par différents mécanismes, notamment :

A. Fragmentation : Certains champignons se reproduisent en se fragmentant. Les parties du mycélium (le réseau de filaments qui constitue le corps principal du champignon) se détachent et donnent naissance à de nouveaux individus identiques.

B. Bourgeonnement : Certains champignons peuvent se reproduire par bourgeonnement, où de petites protubérances se forment sur le corps du champignon et se détachent pour former de nouveaux individus.

5. Sporulation : La sporulation est un processus courant chez les champignons. Ils produisent des structures de reproduction appelées spores, qui sont généralement libérées dans l'environnement. Les spores peuvent germer et former de nouveaux individus identiques à l'organisme parent

Il est important de noter que la reproduction asexuée permet aux champignons de se propager rapidement et efficacement dans des environnements favorables. Cependant, la reproduction sexuée, qui implique la fusion de gamètes provenant de deux individus différents, est également courante chez de nombreux champignons et contribue à la diversité génétique de l'espèce (Alexopoulos.,1996).

Caractéristiques des formes de reproduction sexuée et asexuée

Spore d'origine asexuée : forme des spores très variable, produit en très grand nombre, petite taille, sans substance, sans dormance. Spore d'origine sexuée : nombre limite de forme, petit nombre, grande taille, avec dormance (Lepoivre, 2003).

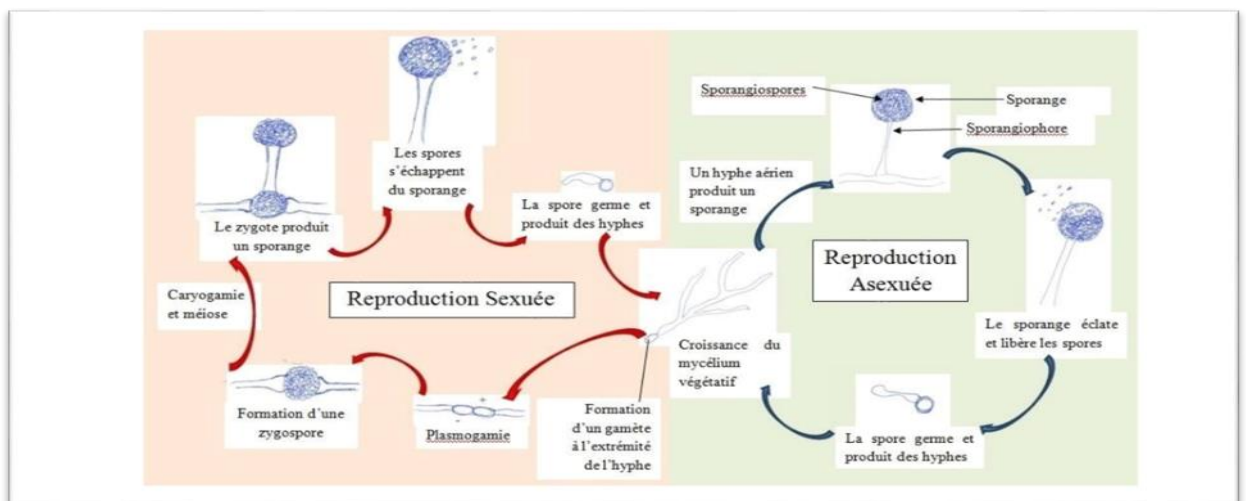


Fig. 1. Schéma présent la reproduction asexuée et sexuée d'un champignon

6. LES FACTEURS INFLUENCE A LA CROISSANCE DES CHAMPIGNONS

La croissance des champignons dépend d'un certain nombre de facteurs. Endogènes (liés à la souche) ou exogènes (caractéristiques physiques, chimiques) (Pitt *et al.*, 1997).

6.1. FACTUER PHYSIQUE ET CHIMIQUE

6.1.1. LA TEMPERATURE

La plupart des champignons sont mésophiles, avec des températures optimales de croissance comprises entre 25°C et 35°C (Berthier *et al.*, 1993). En général, la température optimale de croissance pour la plupart des champignons se situe autour de 25°C (Botton *et al.*, 1990).

D'autre part, certaines espèces de champignons sont psychrophiles et peuvent se développer à des températures relativement basses.

6.1.2. ACTIVITE D'EAU

L'importance de l'eau pour toutes les formes de vie, y compris les micro-organismes, est bien connue. Pour se développer sur certains substrats, les micro-organismes doivent utiliser l'eau disponible dans ces substrats pour effectuer leurs réactions métaboliques. Ainsi, l' a_w est le rapport entre la pression de vapeur d'eau (P) dans le substrat et la pression de vapeur d'eau (W) dans le substrat. Est la pression de vapeur de l'eau pure (P0) à la même température et à la même pression (Pitt *et al.*, 1997).

6.1.3. LE PH

Les champignons peuvent se développer à des PH compris entre 3 et 8 avec un optimum de croissance compris entre 5 et 6 (Duron, 1999).

6.1.4. L'OXYGENE

Les champignons sont des micro-organismes aérobies qui ont besoin d'oxygène pour se développer normale. En conséquence certains types de moisissures peuvent se développer dans une atmosphère pauvre en oxygène (Leszczowicz, 2001).

6.2. ELEMENTS NUTRITIFS

Parmi les éléments nécessaires aux organismes, on trouve des éléments appelés macroéléments ou macronutriments :

Les macroéléments : comprennent le carbone, l'oxygène, l'hydrogène, l'azote, le soufre et le phosphore, présents dans les molécules organiques telles que les glucides, les lipides, les protéines et les acides nucléique.

Les micronutriments : également connus sous le nom d'éléments traces, tels que le manganèse, le zinc, le cobalt, le molybdène, le nickel et le cuivre, sont essentiels pour la plupart des cellules. Ils constituent des composants de certaines enzymes et cofacteurs, facilitant la catalyse des réactions et assurant la stabilité de la structure des protéines (Prescott *et al.*, 2013).

7. SPORULATION

Les milieux qui favorisent la sporulation sont généralement formulés pour contenir de faibles concentrations de nutriments et ne peuvent pas soutenir la croissance mycélienne.

Effet de Carbone : Les champignons utilisent différentes sources de carbone pour se reproduire. Comme la croissance du mycélium, la reproduction asexuée est également souvent favorisée par les monosaccharides.

Effet d'azote : utilisant différentes sources d'azote pour la sporulation, favorisant la sporulation et le mycélium se développe bien. Par exemple, l'asparagine et les sels d'ammonium.

Effet de température : La sporulation asexuée ne diffère pas en réponse à la température se développent à partir de mycélium, mais se reproduisent sexuellement de la même espèce il y a souvent des exigences de température très spécifiques.

Effet de la lumière : La lumière stimule ou affecte la sporulation fongique en Inhibe les structures reproductives et la formation de spores.

Effet d'aération : La plupart des champignons ont besoin d'oxygène pour former des spores (Nasraoui, 2015).

8. CHAMPIGNONS FILAMENTEUX

Les champignons filamenteux sont constitués d'un appareil végétatif appelé thalle, qui est formé de filaments ou d'hyphes entrelacés les uns avec les autres. L'ensemble de ces hyphes constitue un réseau appelé mycélium. Les hyphes sont des structures tubulaires fines et diffuses, avec un diamètre variant entre 2 et 15 μm , et présentent une ramification plus ou moins prononcée (Lecellier, 2013).

9. LES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES

En raison de certaines caractéristiques de leur cycle biologique (comme l'asexualité partielle ou les cycles d'infection multiples pendant les saisons épidémiques), les champignons phytopathogènes sont des organismes qui peuvent s'adapter très rapidement aux changements environnementaux (Donald *et al.*, 2002). Il existe plusieurs cycles de vie au sein des groupes communément appelés champignons phytopathogènes (Agrios, 2005).

Alors que les symptômes des infections fongiques phytopathogènes des parties aériennes (feuilles, tiges et fruits) sont facilement observables et reconnaissables, les effets des champignons qui infectent les plantes par leur système racinaire sont plus difficiles à détecter (Coque *et al.*, 2020).

Les champignons phytopathogènes provoquent des maladies chez les plantes, ce qui peut avoir des conséquences négatives sur la productivité des cultures. Certains de ces champignons sont également documentés en tant qu'agents pathogènes chez l'homme, pouvant causer des infections chez les personnes immunodéprimées. De plus, les champignons produisent des mycotoxines sur les cultures, ce qui présente un risque significatif pour la santé humaine et animale (Salvatore *et al.*, 2021).

9.1. FACTEUR DES CHAMPIGNONS PHYTOPATHOGENES

Les facteurs de pathogénicité fongique désignent les composés produits lorsque les champignons phytopathogènes interagissent avec les plantes. Ces composés sont métabolisés par les champignons grâce à des réactions physiologiques et biochimiques, notamment lors des interactions moléculaires. Ces facteurs comprennent principalement des enzymes, telles que les enzymes dégradant la paroi cellulaire, ainsi que des toxines (Peng *et al.*, 2021).

A) *Drechslera* sp.

Les *Drechslera* sp. Appartiennent à l'ordre des Pleosporales, une classe de champignons dothidéomycètes. Autrefois, les maladies provoquées par les *Drechslera* sp. Étaient considérées comme des maladies des feuilles, de la couronne et des racines.

À une exception près, la plupart des maladies dues aux *Drechslera* se développent sur des graminées adaptées aux saisons fraîches, chaque espèce pathogène étant spécifique à un hôte particulier (Smiley *et al.*, 2005).

SYMPTOMES ET SIGNES

Les manifestations des maladies causées par *Drechslera* sur les pelouses varient en fonction de l'espèce hôte et de la hauteur de tonte. Au début, des petites lésions gorgées d'eau apparaissent sur les feuilles. Au fur et à mesure que la maladie progresse vers la phase de dépérissement, les lésions prennent une teinte uniformément brun rougeâtre à noire (éventuellement entourées d'un halo chlorotique) et se fusionnent, entraînant le flétrissement de toutes les feuilles et des gaines foliaires. *Drechslera* pénètre également les tissus de la couronne, les racines et les rhizomes, provoquant une pourriture brun foncé des parties souterraines (Smith *et al.*, 1989).

Les infections humaines causées par les organismes de l'espèce *Drechslera* sont rares et sont considérées comme des infections opportunistes. Seulement 10 cas d'infection humaine par ces organismes. Une étude décrit le cas supplémentaire d'une jeune femme en bonne

santé atteinte de pan sinusite chronique causée par *Drechslera* entraînant une obstruction nasale et une érosion osseuse (Rolston *et al.*, 1985).

Les colonies se développent rapidement, ont une texture similaire à du daim ou duvetuse, et sont de couleur brune à brun noir avec un revers noir. Les conidies, qui sont généralement de couleur claire à brun foncé, ont une forme cylindrique ou subcylindrique, sont droites et ont une paroi lisse. Elles se forment à l'extrémité par un pore (poroconidies) dans un conidiophore genouillé qui s'allonge de manière sympodiale. Les conidies sont divisées transversalement (phragmoconidies), avec le septum délimitant la cellule basale qui se forme en premier pendant la maturation des conidies (Ginnis *et al.*, 1986).

NET BLOTCH ON BARLEY (LA TACHE RETICULEE SUR L'ORGE)

Le *Drechslera teres* est un champignon ascomycète hémibiotrophe qui est responsable de la maladie de la tache réticulée sur l'orge.



Fig.2 : symptômes de Net blotch on barley

Cette maladie foliaire représente une menace majeure car elle affecte la production mondiale d'orge, surtout dans les régions où les périodes de temps humide sont prolongées et où la température varie entre 15 et 20 °C. Les symptômes de la tache réticulée se manifestent par l'expansion de lignes brunes réticulées accompagnées de nécrose et de chlorose des feuilles d'orge. Ces premiers symptômes apparaissent dès 48 heures après l'inoculation du pathogène (Backes, 2021).

PIÉTIN-HELMINTHOSPORIOSE DES CÉRÉALES

Drechslera sorokiniana est le champignon responsable de Cette maladie, qui affecte l'orge, est une infection du pied dont les symptômes deviennent plus visibles après la période

de floraison. L'infection commence au stade de la plantule et entraîne des lésions de couleur brun foncé sur les racines, le collet et les feuilles de base. Les attaques précoces au niveau des racines et du collet entraînent généralement la mort de la plante. L'infection peut également affecter les premiers entre-nœuds, entraînant une réduction de la circulation de la sève. Extérieurement, les entre-nœuds prennent une teinte gris-noir en raison de la sporulation dense du champignon. Plus tard, des taches allongées à ovales de couleur brun foncé apparaissent sur les feuilles. Ces lésions peuvent se développer et prendre un aspect gris (Nasraoui, 2008).



Fig.3 : Piétin-helminthosporiose des céréales.

MALADIE DES TACHES BRONZÉES (OU JAUNES) OU HELMINTHOSPORIOSE DU BLÉ

Cette maladie est causée par *Drechslera tritici-repentis*. Elle est observée sur le blé et se caractérise par l'apparition de petites taches allongées sur les feuilles. Ces taches sont initialement brun jaunâtre, puis deviennent de plus en plus bronzées en s'entourant d'une marge jaune clair. Par la suite, ces taches évoluent en lésions qui finissent par fusionner. Les feuilles prennent alors une teinte jaunâtre, se nécrosent progressivement de haut en bas et finissent par mourir (Nasraoui, 2008).



Fig.4 : Helminthosporiose du blé.

B) *Botrytis* sp

Le terme "Botrytis" tire son origine du grec et signifie "grappe de raisin", décrivant ainsi l'apparence du conidiophore portant les conidies. Le genre a été créé par Micheli en 1729 et a été l'un des premiers genres fongiques décrits. À l'origine, il regroupait un certain nombre de taxons apparentés et non apparentés, atteignant environ 380 taxons avant d'être redéfini par Whetzel en 1945 (Chilvers, 2003).

Le genre *Botrytis* (famille des Sclerotiniaceae) est l'un des taxons fongiques les plus anciens et les mieux étudiés. Selon une analyse taxonomique récente, il existe plus de 35 espèces de *Botrytis*, dont *B. cinerea* est le plus connu et bien étudié (Claudio *et al.*, 2019).

La moisissure grise est causée par des champignons du genre Ascomycètes *Botrytis* et est caractérisée morphologiquement par un mycélium blanc ou blanc-gris fin qui se produit sur la zone infectée, nécrotique ou en décomposition de la plante hôte (Jonathan *et al.*, 2021).

Les différentes espèces du genre *Botrytis* se retrouvent partout où les plantes hôtes poussent, que ce soit dans les régions tropicales, subtropicales ou encore dans les zones froides. De nombreux *Botrytis* montrent une germination conidienne, une infection, une croissance mycélienne et une conidiation rapides sous diverses conditions microclimatiques, ce qui pose des problèmes importants de gestion des maladies dans le monde entier (Elad *et al.*, 2007).

LES MALADIES

Cette maladie affecte un large éventail de plantes herbacées annuelles et vivaces, Y compris les plantes d'intérieur, les arbres, les arbustes, les légumes et les petits fruits Elle

entraîne des dommages sur les parties florales, les feuilles, les bourgeons, les jeunes plants, les tiges et les fruits. On peut observer la pourriture grise non seulement sur les fruits en maturation et récoltés, mais Aussi sur les jeunes fruits verts (Schuster, 2004).

La pourriture grise est provoquée par des champignons du genre *Botrytis*, appartenant à la classe des Ascomycètes. Elle se distingue morphologiquement par la présence d'un fin mycélium blanc ou gris-blanc qui se développe sur les parties infectées, nécrosées ou en décomposition de la plante (Spadaro *et al.*, 2020).

Une épidémie de *Botrytis* est caractérisée par une série de processus (pérennisation et infection, colonisation, conidiation et dispersion des conidies), dont chacun est influencé par l'hôte et l'environnement environnant. Pour la plupart des maladies induites par *Botrytis*, le pathogène se multiplie de manière abondante et asexuée grâce à la dispersion aérienne de conidies (Carisse, 2016).

Botrytis cinerea

B. cinerea présente une absence apparente de spécificité d'hôte et peut infecter plus de 1000 espèces végétales (Elad *et al.*, 2016). Est classé en tant que nécrotrophe, ce qui signifie qu'il a une préférence pour infecter et se développer sur des tissus endommagés ou en phase de sénescence, entraînant finalement la mort des tissus (Jarvis, 1962).

INFECTION DE LA FRAISE

La moisissure grise dans les fraises peut être le résultat d'infections primaires de *B. cinerea* sur les fleurs ouvertes, ou par la pénétration des tissus du réceptacle des fruits lors d'infections secondaires (Bristow *et al.*, 1986).

Lors des infections primaires, *B. cinerea* infecte les organes floraux pendant ou juste après la floraison, permettant aux hyphes de se développer dans le réceptacle. Les sources d'inoculum primaire varient des sclérotites qui survivent pendant l'hiver aux conidies ou au mycélium provenant de plantes infectées voisines (Jarvis, 1962).

Les infections secondaires peuvent également survenir par le phénomène de nidification, qui implique la pénétration directe des mycéliums se développant sur les organes végétaux adjacents tels que les feuilles et les fruits infectés (Braun *et al.*, 1988).

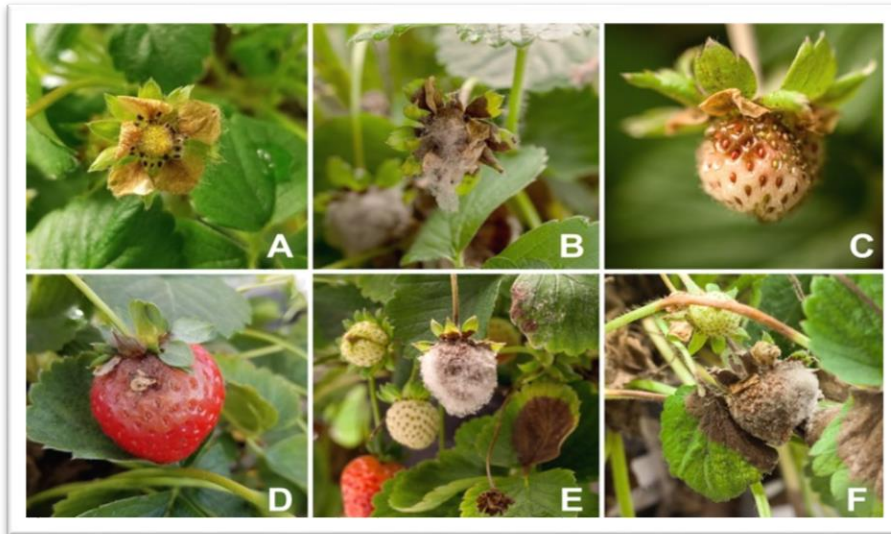


Fig.5 : Symptômes des infections par *Botrytis cinerea* chez la fraise.

LES BIENFAITS DE LA FRAISE

De nouvelles recherches fournissent des preuves substantielles permettant de classer les fraises comme des aliments fonctionnels offrant de nombreux bienfaits pour la santé, tant sur le plan préventif que thérapeutique. Les fraises, qui sont une source abondante de phytochimiques tels que l'acide ellagique, les anthocyanines, la quercétine et la catéchine, ainsi que de vitamines telles que l'acide ascorbique et l'acide folique, sont hautement classées parmi les sources alimentaires en termes de polyphénols et de capacité antioxydante (Basu *et al.*, 2014).

C) *Alternaria* sp.

La plupart des espèces d'*Alternaria* sont des saprophytes que l'on trouve couramment dans le sol ou sur les tissus végétaux en décomposition. Certaines espèces sont des agents pathogènes opportunistes qui, collectivement, provoquent diverses maladies ayant un impact économique sur de nombreuses cultures agronomiques importantes, notamment les céréales, les plantes ornementales, les cultures oléagineuses, les légumes tels que le chou-fleur, le brocoli, la carotte et la pomme de terre, ainsi que les fruits tels que la tomate, les agrumes et la pomme (Escrivá *et al.*, 2015).

Les *Alternaria* sp. Sont également bien connus en tant que pathogènes post-récolte. Certains *Alternaria* sp. Revêtent une importance clinique car ils sont réputés pour produire des

métabolites secondaires toxiques, parmi lesquels se trouvent de puissantes mycotoxines qui ont été liées au développement du cancer chez les mammifères (Pinto *et al.*, 2017).

Les deux caractéristiques majeures des espèces d'*Alternaria* sont la production de mélanine, notamment dans les spores, et la production de toxines spécifiques à l'hôte dans le cas des espèces pathogènes (Thomma, 2003).

DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE

Les colonies poussent rapidement, sont de couleur noire à olivâtre-noire ou grisâtre, et ont une texture veloutée à floconneuse. Microscopiquement, des chaînes acropleurales ramifiées (Blastocaténées) de conidies multicellulaires (Dictyoconidies) sont produites de manière sympodiale à partir de conidiophores simples, parfois ramifiés, courts ou allongés.

Les conidies sont obclavées, obpyriformes, parfois ovoïdes ou ellipsoïdales, souvent avec un court bec conique ou cylindrique, de couleur brun pâle, à paroi lisse ou verruqueuse. (De Hoog.,2019).

LES MALADIES

Les maladies végétales les plus répandues causées par *Alternaria* sont les taches foliaires et La défoliation, se caractérisant par des symptômes zonés concentriques typiques présentant des lésions nécrotiques brunes à noires entourées de zones chlorotiques sur les feuilles (Kinnonet *et al.*, 1999). Parmi eux:

Black mould of tomato

Black and Grey rot of citrus fruits

Black rot of olive

Black point of small-grain cereals

Black rot of carrots (Logrieco *et al.*, 2009).

L'ALTERNARIOSE

L'alternariose est une maladie fongique provoquée par le champignon *Alternaria solani*, qui affecte principalement les feuilles et les tubercules. Cette maladie pose un problème majeur dans de nombreuses régions chaudes et sèches où le mildiou, une autre maladie fongique causée par *Phytophthora infestans*, n'est pas aussi prévalent. Il existe plusieurs méthodes pour lutter contre l'alternariose (Daayf., 2016)

SYMPTOMES

Sur feuilles : Les feuilles présentent des taches nécrotiques distinctes, de tailles variées, principalement localisées sur les feuilles inférieures. On observe également la présence d'anneaux concentriques sur les taches les plus importantes.



Fig.6 : *Alternaria solani* sur feuilles

Sur tubercules : Les tubercules présentent des pourritures brunes à noires, qui sont très sèches et assez caractéristiques, accompagnées d'une dépression (Zachmann, 1987).

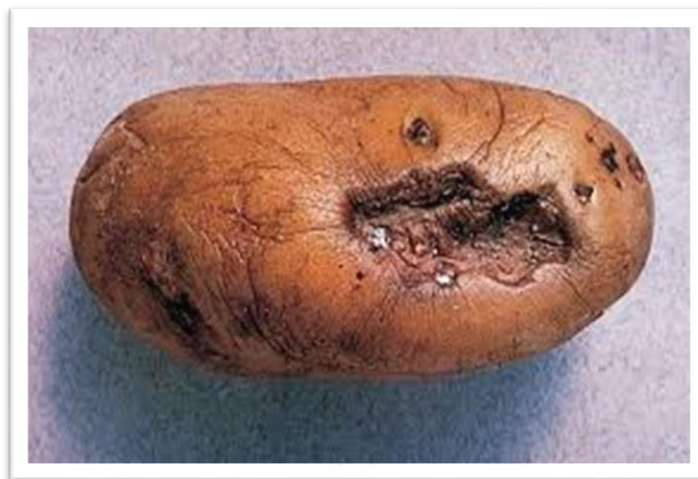


Fig.7 : *Alternaria solani* sur tubercule

ALTERNARIA BLIGHT

Est l'une des principales maladies affectant les cultures de tournesol au Brésil, est provoquée par le champignon nécrotrophe *Alternaria helianthi*. Le premier symptôme causé par les champignons nécrotrophes sur les feuilles est la chlorose, qui se développe, se propage et peut entraîner la destruction des organites par réaction enzymatique ou par les métabolites toxiques produits par le champignon pendant le développement de l'infection. Ce champignon a un impact négatif sur le processus de photosynthèse, en commençant par des altérations des chloroplastes, ce qui entraîne une dégradation de la chlorophylle et une réduction de la fixation du CO₂ (Calvet, 2005).



Fig.8: *Alternaria helianthi* sur tournesol.

ALTERNARIA BLACKSPOT

La tache noire de l'*Alternaria*, causée par les champignons *Alternaria brassicae* et *Alternaria raphani*, est une maladie d'une grande importance économique pour les crucifères, dans de nombreuses régions du monde, y compris dans l'ouest du Canada. Ce champignon provoque l'apparition de taches noires sur les tiges et les gousses du colza d'été (*Brassica napus* ssp. *Oleifera*) et du navet d'été (*Brassica campestris* ssp. *Oleifera*). En cas d'infection sévère, cela peut entraîner des dommages importants et des pertes de rendement, notamment un mûrissement prématuré, l'avortement des bourgeons floraux, la rupture des gousses et le flétrissement des graines (Bansal, 1990).



Fig.9 : Alternaria blackspot



CHAPITRE II
MATERIELES ET METHODES

II. MATERIELS ET METHODES**II. 1. MATERIELS****1. 1. LES SOUCHES DES MYCETES UTILISEES**

On a utilisé dans cette étude trois souches des mycètes :

1- *Alternaria sp.* et *Drechslera sp.* Qui ont été isolée à partir d'échantillons de blé.

2- *Botrytis cinerea* qui a été isolé dans cette étude à partir d'un échantillon de fraise de production locale.

1. 2. LES MILIEUX DE CULTURES UTILISES

On a utilisé dans cette étude les milieux de culture suivants : potato- dextrose – agar (PDA) ; malt extract agar (MEA), et dates extract agar (DEA)(Annexe).

II. 2. METHODES EXPREMENTALES**2. 1. PREPARATION DE MILIEU DES DATES EXTRACT AGAR(DEA).**

Les palmiers dattiers à Oum El Bouaghi produisent des dattes de mauvaise qualité (chisses), qui sont petites et immatures. Ces dattes sont souvent jetées, ce qui pose une menace pour l'environnement. Dans notre étude, nous avons exploré la possibilité d'utiliser ces fruits pour préparer un milieu nutritif destiné à la culture des champignons (Fig.10 et Fig.11).



Fig.10 : Un palmier des dattes (Oum El Bouaghi). Fig.11 : Des dattes (chisses) utilisés dans cette étude.

On a préparé le milieu des dattes dans les étapes suivantes :

- Prendre 300 g de dattes.
- Bien laver les dattes et les dénoyauter.
- Broyer les dattes jusqu'à obtenir une texture fine (effet mécanique).
- Faire bouillir ces dattes dans 1,5 litre d'eau distillée à 100°C pendant 30 minutes.
- Filtrer le mélange deux fois et obtenir environ 1 litre de solution.
- Dans un bécher, ajouter le mélange sur un agitateur pendant 10 minutes.
- Verser la solution dans des flacons de 200 ml et ajouter de l'agar-agar (20g divisé par le nombre de flacons), puis mélanger.
- Autoclaver le mélange à 121°C pendant 20 minutes (Bonneau, 2017).

2. 2. ISOLEMENT DE *Botrytis cinerea* A PARTIR D'UN ECHANTILLON DE FRAISE

On a acheté des fraises de production locale et nous avons laissé un échantillon pourri pendant trois jours dans des conditions appropriées, après pris un échantillon de la surface de la fraise par une anse de platine stérile et placés sur une boîte de Pétri contenant le milieu de culture potato-dextrose-agar (PDA).



Fig.12 : Des fraises utilisés dans cette étude

Avec trois répétitions les boîtes sont incubées à 25°C avec un suivi de croissance toutes les 24 heures pendant 7 jour (Benkada, 1994). Après avoir isolé le mycélium, nous l'avons repiqué sur le

milieu (PDA) jusqu'à ce que des colonies pures se soient développées. Et pour identifier l'isolat qui on a été purifier nous avons suivi les étapes suivantes :

2. 3. IDENTIFICATION MACROSCOPIQUE

Après avoir cultivé des souches pures sur un milieu de malt, nous avons examiné leurs caractéristiques morphologiques et culturelles en nous basant sur les critères suivants :

a. Texture :

- Laineuse : présence d'un mycélium aérien dense.
- duveteuse : présence d'un mycélium aérien de faible hauteur.

b. Topographie : elle peut être plane, surélevée

C. Couleur : on peut distinguer la couleur de la surface et celle du revers ainsi que la présence d'un pigment diffusible. Pour les champignons dématiés, la couleur peut être brune, grise ou noire, tandis que pour les champignons hyalins, elle peut être blanche ou une autre couleur verte

D. La vitesse de croissance : est évaluée en mesurant le diamètre de la colonie après 7 jours. On peut distinguer trois catégories de vitesse de croissance :

- Rapide (≥ 3 cm),
- Modérée (entre 1 et 3 cm)
- Lente (≤ 1 cm).

2. 4. IDENTIFICATION MICROSCOPIQUE

a) Les hyphes peuvent être de différentes natures : septés ou non, larges (diamètre supérieur à 4 μm) ou étroits (diamètre inférieur à 4 μm).

b) Les conidiophores peuvent être absents, simples ou ramifiés.

c) Les conidies peuvent être uni- ou pluricellulaires, isolées ou groupées en amas ou en chaînes, et avoir des formes variées, telles que ronde, ovale, en massue, etc.

d) organes de fructification : spores, chlamydospores (Philippe *et al.*, 2014).

2. 5. ÉTUDE DE L'IMPACT DES DIFFERENTS MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE ET LA PRODUCTION DE SPORES CHEZ LES CHAMPIGNONS ETUDIÉS**2. 5.1. ANALYSE DE L'EFFET DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE CHEZ LES CHAMPIGNONS ETUDIÉS**

Après avoir purifié et identifié *Botrytis sp* et réidentifié *Drechslera sp* et *Alternaria sp*, un disque de 8 mm a été prélevé sur une jeune colonie (âgée de 7 jours) de chaque champignon cultivé sur PDA. Le disque a ensuite été placé directement au centre d'une boîte de Pétri en verre contenant l'un des milieux suivants : PDA, MEA ou DEA, à l'aide d'une Anse de platine stérile. Les boîtes de Pétri ont été incubées avec trois répétitions.

2. 5. 2. ÉTUDE DE L'EFFET DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DE SPORES CHEZ LES CHAMPIGNONS ETUDIÉS.**2. 5. 2. 1. PREPARATION DES SUSPENSIONS DE SPORES**

Après que les mycètes ont complètement colonisé les boîtes de Pétri, trois disques ont été prélevés à partir de chaque colonie de mycètes étudiés et placés directement à l'aide d'une pince stérile dans un tube à essai stérile contenant de l'eau distillée stérile avec 2% de tween 80. La suspension a été homogénéisée en utilisant un vortex. À partir de cette suspension de spores des mycètes étudiés, une goutte a été prélevée à l'aide d'une micropipette stérile et déposée entre la lamelle et la cellule de Malassez. La capillarité a permis l'entrée du liquide dans l'espace entre la cellule et la lamelle. Les rigoles ont été remplies et les cellules ont été autorisées à se sédimer pendant 5 minutes avant de procéder au comptage.

2. 5. 2. 2. COMPTAGE SUR CELLULE DE MALASSEZ

Avant de procéder au comptage, il est recommandé d'effectuer une observation à l'objectif x10 pour repérer le quadrillage et vérifier que les cellules à compter sont uniformément réparties. Si des éléments chevauchent les lignes du quadrillage, il convient de compter tous ceux qui chevauchent les lignes à gauche et en haut, mais de ne compter aucun élément qui chevauche les lignes à droite et en bas. Après usage, la cellule de Malassez et la lamelle plane doivent être nettoyées en les laissant tremper dans un bain d'eau de Javel diluée pendant 10 à 15 minutes, puis rincées à l'eau du robinet et à l'eau distillée. Pour les sécher, il est recommandé d'utiliser un linge fin ou un papier absorbant non pelucheux, sans frotter, puis de les laisser sécher à l'air libre pendant quelques minutes. Le comptage

est effectué à l'aide d'une cellule de Malassez, en procédant à trois comptages par suspension pour chaque essai. Les valeurs sont exprimées en nombre de spores par unité de surface (mm²). Si deux disques sont pris par suspension, il est possible de compter sans faire de dilution.

On a pris trois disques par suspension et dans ce cas on peut compter sans faire la dilution.

La dilution si la charge des spores élevé. Dimension de la grille : 2 x 2,5mm

- Profondeur de la grille : 0,2 ± 0,002mm- Volume de la grille : 1µl

- Surface du plus petit carrée : 0,0025mm².

- Dimensions de la cellule (en mm) : 26x32

Quadrillage :

-Superficie totale : 5 mm² (dimensions 2 x 2,5 mm)

-100 rectangles de 0,20 x 0,25 mm

Se composant de :

-25 champs divisés en 20 carrés de 0,05 x 0,05 mm - superficie 0,0025 mm² chacun

-25 champs divisés en 5 rectangles de 0,20 x 0,05 mm - superficie 0,01 mm² chacun

-25 champs divisés en 4 rectangles de 0,25 x 0,05 mm - superficie 0,0125 mm² chacun

-25 champs sans division de 0,20 x 0,25 mm - superficie 0,05 mm² chacun.

*Pour l'obtenir de nombre total de sporulation pour chaque mycète et dans les différents milieux :

$N (v1) 0.001ul (v2)$

10 ml(c2) x

N : le nombre des spores dans la cellule

10ml : le volume de suspension

0.001 µl (v2) : le volume total

$X = c2 \times v2/v1$ le nombre avec l'écriture scientifique ...x 10⁵

Pour la surface du cercle (le disque) : πr^2 r = 0,5 $\pi r^2 = 1,57$.Nombre de spores x 10⁵ / cm²=

$X/3disq$ (Guezlane *et al.*, 2008 ; Kalai *et al.*, 2012).



CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSIONS

III. RESULTATS ET DISCUSSION**III. 1. RESULTATS****III. 1. 1. ISOLEMENT DE *Botrytis sp* A PARTIR D'UN ECHANTILLON DE FRAISE**

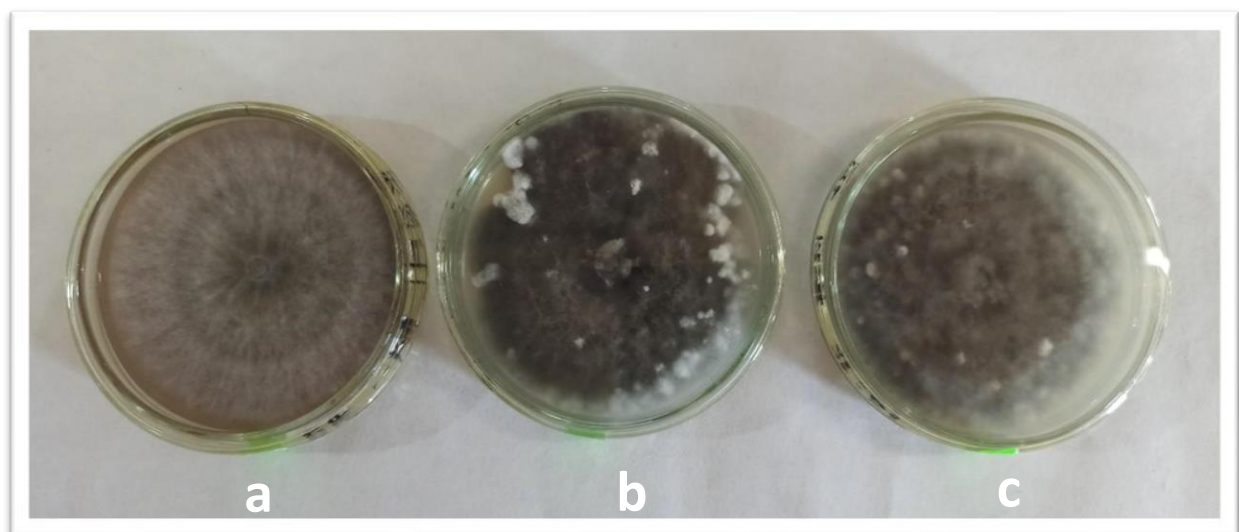
Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques suivantes ont été observées après l'isolement et l'identification, ce qui a abouti à l'obtention de colonies pures de *Botrytis cinerea* (Voir Annexe...).

III. 1. 2. REDETIFICATION D'*Alternaria sp.* Et *Drechslera sp.*

Suite au repiquage des souches d'*Alternaria sp.* Et *drechslera sp.* Sur le milieu de culture MEA afin de confirmer leur identification, des colonies pures ont été obtenues, présentant les caractères macroscopiques et microscopiques suivants (Annexe...).

III. 1. 3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE ET LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ LES MYCETES UTILISES**1. 3. 1. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE CHEZ LES MYCETES ETUDIES****1. 3. 1. 1. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE De *Drechslera sp.***

Après la mesure de diamètre de la colonie de *Drechslera sp.* Sur les différents milieux de cultures étudiés pendant 7 jours on a obtenu les résultats suivants (Fig.12 et 13).



▪ Fig.13 : La croissance mycélienne de *Drechslera sp.* Sur les milieux de culture étudiés : DEA(a) ; PDA (b), et MEA(c).

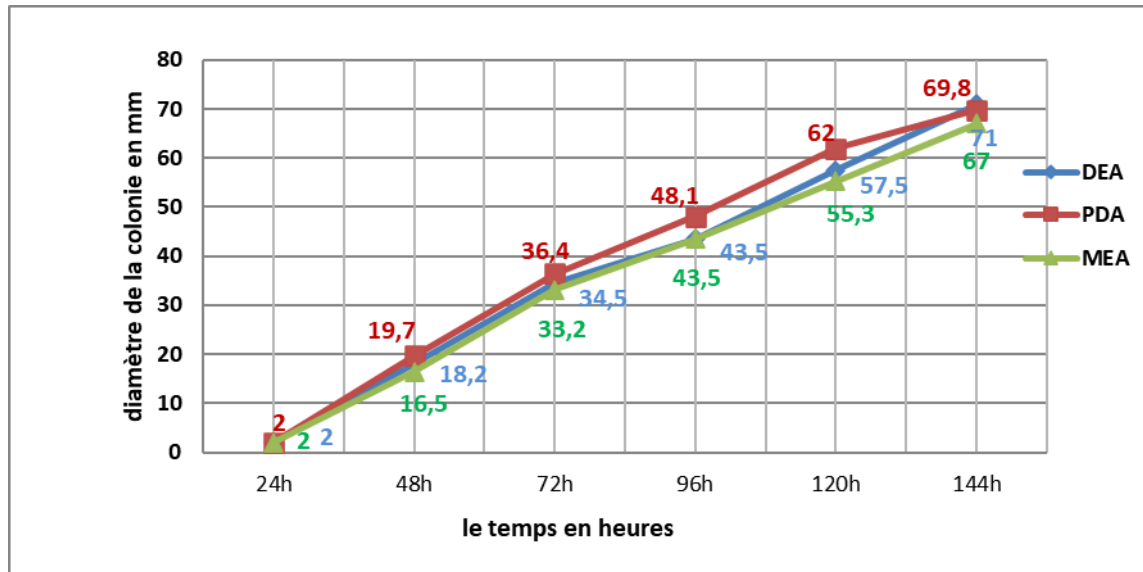


Fig.14 : Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *Drechslera sp.*

D'après les figures (12 , 13) et le tableau (1), il est évident que *Drechslera sp* a montré une croissance optimale initialement sur le milieu PDA, suivi par le milieu DEA, puis le milieu MEA, à la fin, le milieu DEA a surpassé le milieu PDA

III. 1.3.1.2. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE DE *Botrytis sp.*

Les résultats suivants ont été obtenus après avoir mesuré le diamètre de la colonie de *Botrytis sp* sur différents milieux pendant une période de 7 jours (Tableau et Figure).

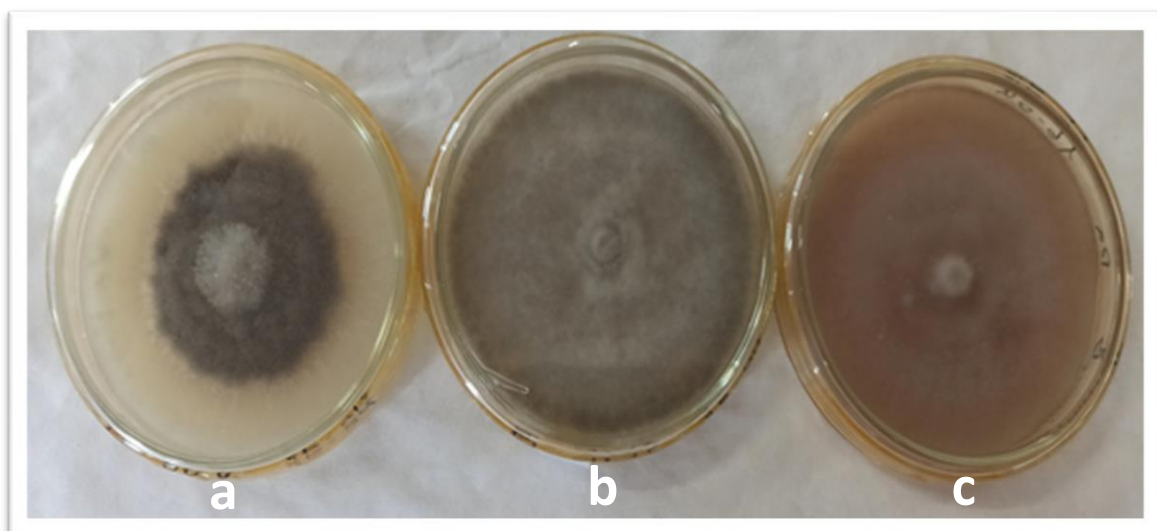


Fig.15 : La croissance mycélienne de *Botrytis sp.* Sur les milieux de culture étudiés : PDA (a), MEA(b), et DEA(c) ;

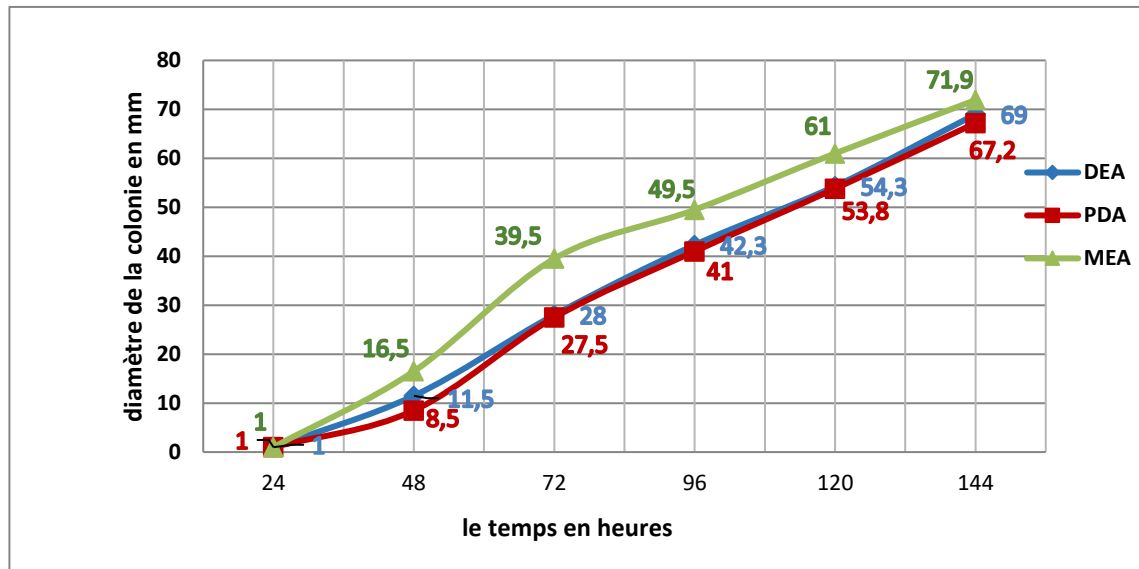


Fig.16 : Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *Botrytis sp*

D'après les figures (14 , 15) et le tableau (2), il est évident que *Botrytis sp* a montré une croissance optimale sur le milieu MEA, suivi par le milieu DEA, puis le milieu PDA.

III. 1.3.1.3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA CROISSANCE MYCELIENNE D'*Alternaria sp.*

Voici les résultats obtenus après la mesure du diamètre de la colonie d'*Alternaria sp* sur divers milieux pendant une période de 7 jours, comme indiqué dans (le tableau et la figure ci-dessous)

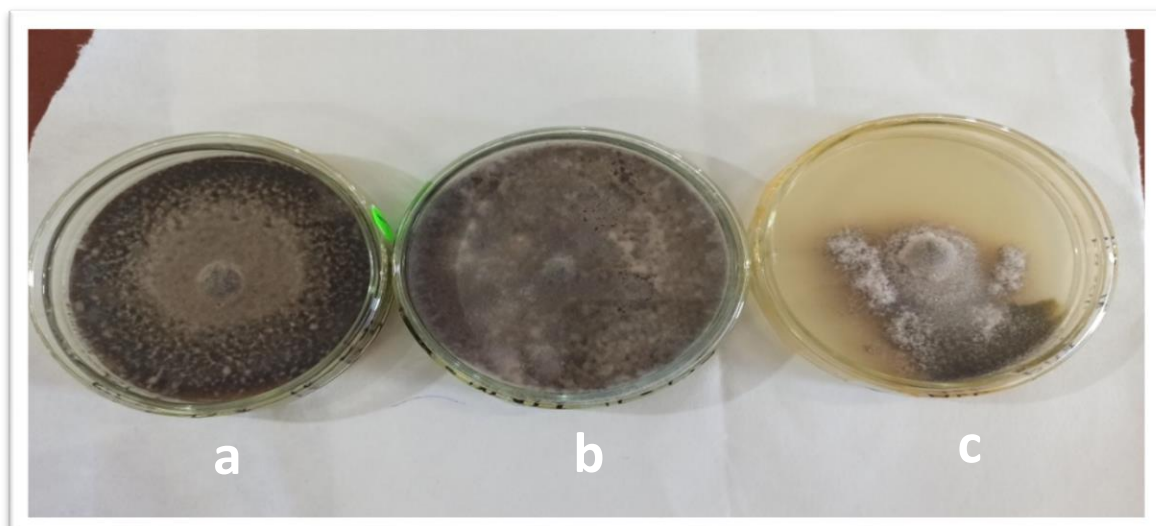


Fig.17 : La croissance mycélienne de *Alternaria sp.* Sur les milieux de culture étudiés : DEA(a) ; MEA (b), et PDA (c).

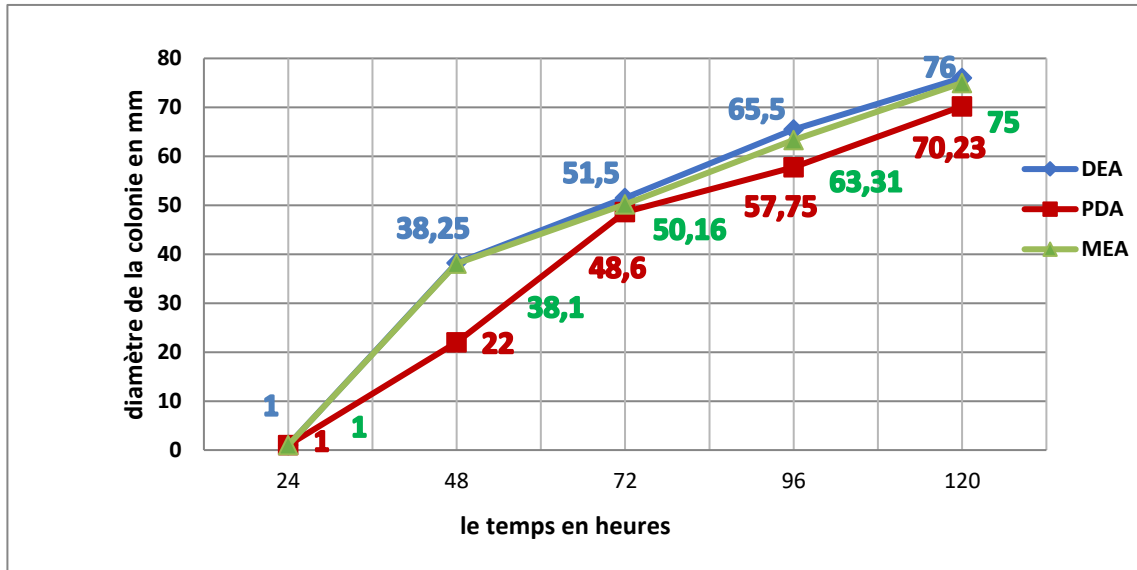


Fig.18 : Influence des milieux de culture sur la croissance mycélienne d'Alternaria sp

D'après les figures (16, 17) et le tableau (3), il est évident que *Alternaria sp* a montré une croissance optimale sur le milieu DEA, suivi par le milieu MEA, puis le milieu PDA.

III. 1. 3. 2. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ LES MYCETES UTILISES.

Après une incubation de 7 jours à 25°C sur les différents milieux de culture étudiés, voici les résultats du comptage des spores générées par les mycètes étudiés.

III. 1. 3. 2.1. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ *Drechslera sp.*

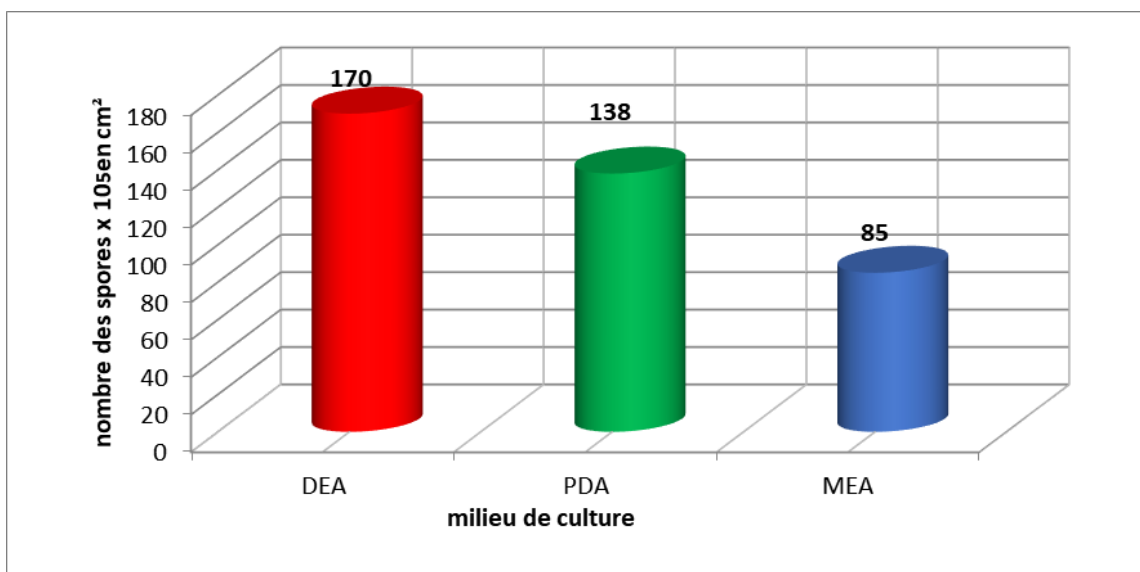


Fig.19 : Influence des milieux de culture sur la sporulation de *Drechslera sp.*

Selon les données présentées dans la figure 18 et le tableau 4, il est évident que la production optimale de spores par *Drechslera sp* est observée dans le milieu DEA, avec une densité de 170×10^5 spores par cm^2 . Ensuite, le milieu PDA présente une production de spores de $138 \times 10^5 / \text{cm}^2$, tandis que le milieu MEA montre une production de 85×10^5 spores par cm^2 .

III. 1. 3. 2.2. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ *Botrytis sp.*

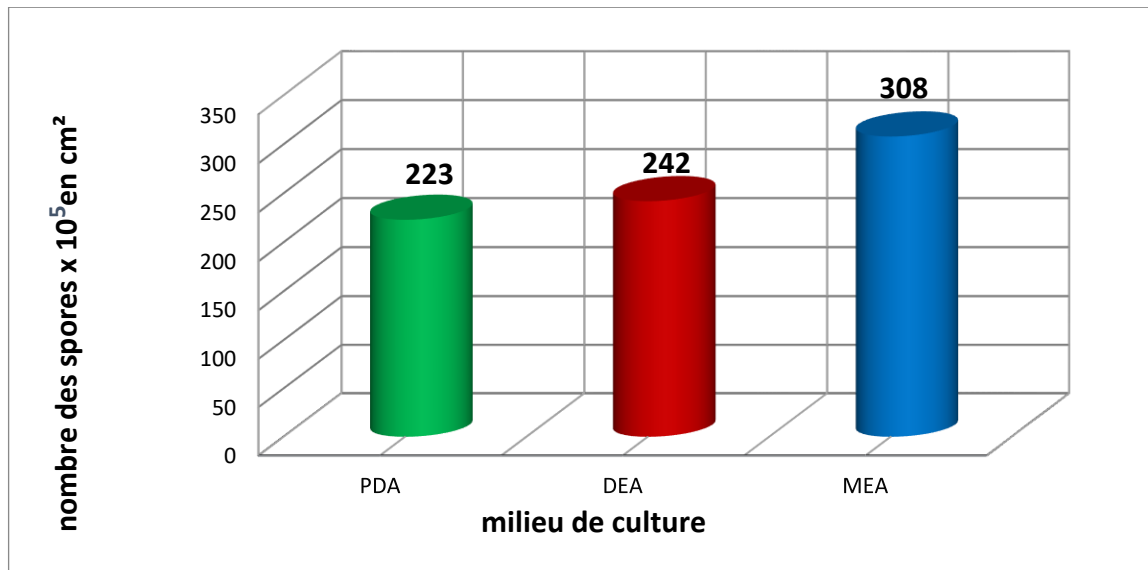


Fig.20 : Influence des milieux de culture sur la sporulation de *Botrytis sp.*

D'après les résultats présentés dans la figure 19 et le tableau 5, il est clair que la production de spores optimale de *Botrytis sp* est observée dans le milieu MEA, atteignant une densité de 308×10^5 spores par cm^2 . Ensuite, le milieu DEA présente une production de spores de $242 \times 10^5 / \text{cm}^2$, tandis que le milieu PDA affiche une production de 223×10^5 spores par cm^2 .

III. 1. 3. 2.3. ETUDE DE L'INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE SUR LA PRODUCTION DES SPORES CHEZ *Alternaria sp.*

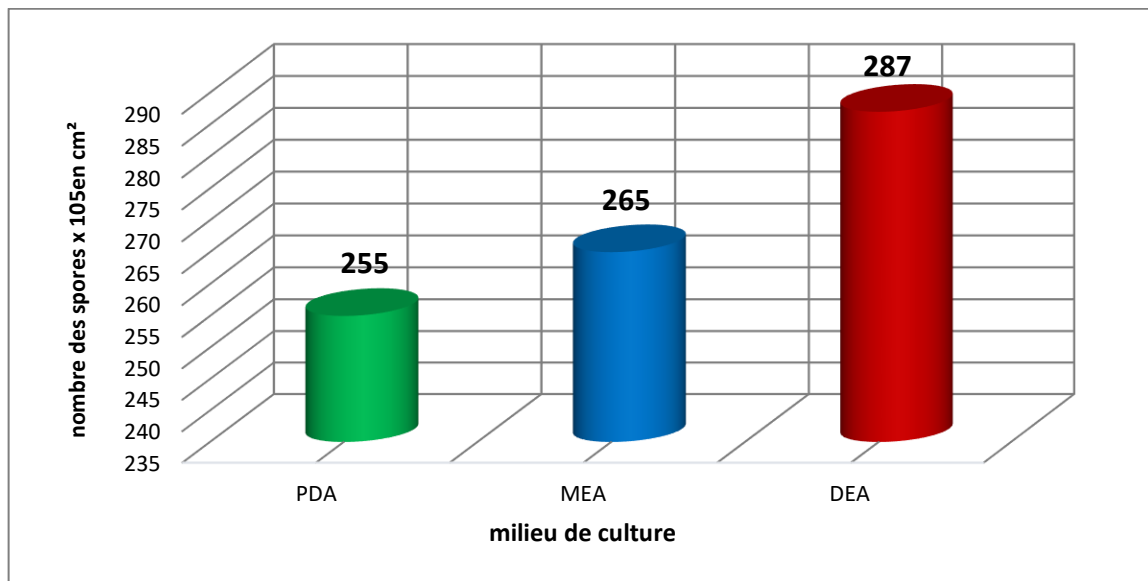


Fig.21 : Influence des milieux de culture sur la sporulation de *Alternaria sp.*

D'après les données fournies dans la figure 20 et le tableau 6, il est clairement démontré que La meilleure production de spores d'*Alternaria sp* se trouve dans le milieu DEA, avec une densité de 287 x 10⁵ spores par cm². Ensuite, le milieu MEA présente une production de spores de 265 x 10⁵ / cm², tandis que le milieu PDA montre une production de 255 x 10⁵ spores par cm².

III. 2 : DISCUSSIONS

III.2.1 : ESTIMATION DE LA CROISSANCE MYCELIENNE ET DE LA SPORULATION.

Ce projet de recherche se concentre sur l'étude de l'impact des différents milieux de culture sur la croissance mycélienne des champignons et leur capacité à produire des spores. Les expériences réalisées ont démontré que le choix du milieu de culture a une influence sur ces deux aspects.

En analysant les graphiques et l'histogramme, il est évident que les trois échantillons de champignons ont connu une croissance optimale dans le milieu de culture DEA. Pour *Drechslera sp*, le milieu de culture PDA a favorisé une bonne croissance grâce au glucose et à l'amidon présents dans l'extrait de pomme de terre, qui ont servi de nutriments pour les champignons. Cependant, *Botrytis sp* et *Alternaria sp* ont montré une croissance un peu plus faible.

Le milieu de culture MEA a favorisé une bonne croissance de *Botrytis sp* en raison de sa haute teneur en hydrates de carbone provenant du malt, ce qui accélère la croissance du champignon. Cependant, les autres échantillons ont montré une croissance un peu plus faible dans ce milieu.

(Alba Zaremski ; Hubert de Franqueville ; Frédéric Breton 2011)

Pour leur croissance, les champignons ont besoin de substances nutritives présentes dans leur environnement, avec lesquelles ils entrent en contact direct. Les nutriments de petite taille, tels que les sucres simples et les acides aminés, peuvent être directement absorbés par les champignons. En revanche, les nutriments constitués de gros polymères insolubles, tels que la cellulose, l'amidon et les protéines, doivent d'abord être dégradés avant d'être utilisés par les champignons.

(Nasraoui., 2015)

Le milieu de culture PDA est le plus couramment utilisé et économique pour la culture des champignons. Le milieu de culture MEA, quant à lui, contient toutes les substances nutritives nécessaires à la croissance des champignons et favorise une bonne croissance, mais à un coût plus élevé.

Les résultats finaux ont permis de conclure que la croissance optimale du mycélium et une bonne production de spores ont été observées dans le milieu de culture DEA (nouveau milieu). Cela ne signifie pas que la croissance dans les autres milieux n'était pas perceptible ou n'existait pas, mais elle était très similaire entre ces deux milieux, avec cependant un pourcentage significativement plus élevé dans le milieu de culture DEA.

D'un point de vue économique, le milieu de culture DEA est peu coûteux car il est considéré comme un déchet et n'est pas largement utilisé, en particulier car il ne nécessite pas d'additifs significatifs. De plus, il produit de meilleurs résultats.

III. 2.2 : PRODUCTION DES SPORES

Concernant la production de spores, plusieurs facteurs nutritionnels influencent ce processus, tels que la source de carbone, la source d'azote et les microéléments (Timnick *et al.*, 1951). Certains champignons ont des exigences spécifiques en termes de sources de carbone et d'azote pour pouvoir sporuler (Engelkes *et al.*, 1997 ; Gao *et al.*, 2007). Les résultats des expériences ont confirmé que les trois échantillons de champignons ont présenté une croissance optimale de spores dans le milieu de culture DEA, bien que la sporulation dans les deux autres milieux ait été légèrement inférieure. Cela est dû aux variations des concentrations de carbone et d'azote présentes dans les milieux utilisés. Et étant donné que les trois échantillons sont soumis aux mêmes conditions environnementales (température, lumière, aération ...). Donc, les concentrations de carbone et d'azote sont les seuls facteurs qui contrôlent la sporulation.

Les résultats précédents sont soutenus par la recherche de Chantal, (2007), a évalué *in vitro* l'effet de différents éléments minéraux sur la croissance et le développement d'*Helminthosporium solani* L'augmentation des concentrations d'azote et de calcium dans le milieu de culture a généralement

diminué la croissance mycélienne mais stimulé la production de conidies viables, tandis que l'augmentation des concentrations de Phosphore et de potassium a eu l'effet contraire.

Ting, *et al.*, (1996), ont trouvé que les milieux standards pour la culture d'*Epicoccum nigrum* et *Sclerotinia sclerotiorum* permettent une croissance radiale plus rapide que les milieux contenant une seule source d'hydrate de carbone et un seul acide aminé.

Les résultats obtenus par Mehta *and al.*, (2015), indiquent que le *Fusarium oxysporium* est capable de se développer, sporuler bien sur des milieux complexes que sur des milieux synthétiques, mais à des degrés variables. Le milieu PDA s'avère plus favorable à la sporulation, alors que le milieu Czapeck-Dox Agar (CDA) et Czapeck-Dox Agar (CDA) s'avèrent favorables à la croissance mycélienne. Ces résultats indiquent également que la croissance mycélienne et la sporulation, qui sont deux moyens de développement du champignon, n'ont pas les mêmes exigences nutritionnelles.



CONCLUSION

CONCLUSION

Notre étude visait à déterminer le milieu optimal offrant les meilleures conditions de production de biomasse pour les champignons phytopathogènes, car certains de ces champignons produisent des composés secondaires d'importance médicale et industrielle, Ainsi que pour lutter contre d'autres champignons pathogènes.

À partir des résultats de l'étude sur l'impact des différents milieux de culture sur la croissance et la reproduction des champignons phytopathogènes, nous avons constaté une variation de la vitesse et de la densité de croissance mycélienne d'un milieu à l'autre.

Ainsi, il est apparu que le milieu idéal pour la croissance, la reproduction et la sporulation de ces champignons était le nouveau milieu étudié, appelé DEA.

Le milieu de culture DEA est riche en nutriments dont les champignons ont besoin, Qu'ils soient sous forme de petites ou de grandes molécules, notamment des sucres simples.

Sur le plan économique, il est peu coûteux car il utilise des déchets non consommés, Cependant, des études futures sont encore nécessaires pour obtenir davantage de résultats.



REFERENCES

- Agrios, G.N. (2005). Plant pathology., Academic Press. San Diego., 390pp.
- Alaoui, K., Chafik, Z., Khoulati, A., Mikdam, H., Saalaoui, E., and Kharmach, E. (2022). Effets de différents milieux de culture sur la croissance et la conservation *in vitro* de *Phytophthora infestans*., **10** : 244-252.
- Alba, Z., Hubert, F., Frédéric, B. (2011). Rapport du projet GANODIV.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996). Introductory Mycology (4th ed.). John Wiley & Sons (Page 282-283).
- Backes, A., Vaillant-Gaveau, N., Esmaeel, Q., Ait Barka, E., and Jacquard, C. (2021). A biological agent modulates the physiology of barley infected with *Drechslera teres*., *Scientific Reports*., **11**(1) : 8330.
- Badillet, G., de Briève, C., et Guého, E. (1987). Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique. vol II. Ed VARIA. Paris.
- Bansal, V. K., Seguin-Swartz, G., Rakow, G. F. W., and Petrie, G. A. (1990). Reaction of Brassica species to infection by *Alternaria brassicae*., *Canadian Journal of Plant Science*. **70**(4): 1159-1162.
- Barr, M.E. (2001). Ascomycota. In: McLaughlin, D.J., McLaughlin, E.G., Lemke, P.A. (eds) Systematics and Evolution. The Mycota, vol 7A. Springer, Berlin, Heidelberg.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-10376-0_8
- Basu, A., Nguyen, A., Betts, N. M., and Lyons, T. J. (2014). Strawberry as a functional food: an evidence-based review. *Critical reviews in food science and nutrition*., **54**(6):790–806.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2011.608174>.
- Basu, S., Bose, C., Ojha, N., Das, N., Das, J., Pal, M., et Khurana, S. (2015). Evolution of bacterial and fungal growth media. *Bioinformation*, **11**(4), 182-184. doi:10.6026/97320630011182

- Berdi, S., Boukadoum, R., & Bouziane, Z. E. (2009). Etude bibliographique de l'antagonisme entre les champignons (Doctoral dissertation, Université de Jijel).
- Bonneau, C. (2017). Impact des conditions de culture in vitro sur le développement fongique. Optimisation de la croissance et de la sporulation. Mention. Biologie et Technologie du Végétal., 23pp.
- Botton, B., Breton, A., Fevra, M., Gautider, S., Guy, P. H., Larpent, J. P., Reymond, P., Sanglier, J. J., Vayssiery, Y. et Veau, P.(1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Edition Masson, Paris., p :442.
- Bouchet, P., Guignard, J.L., et Villard. (1999). Les champignons. In « Les champignons : mycologie fondamentale et appliquée » Ed. Masson. Paris 11^{er} édition., pp :1-36.
- Boullard, B. (1997). Gerre et pais dans le règne végétale., 324pp.
- Bouزيد, N.(2015).les champignons et pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées. p: 40-48.
- Bowman, S. M., and Free, S. J. (2006). The STRUCTURE and synthesis of the fungal cell wall. *Bio Essays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*, **28**(8):799–808. <https://doi.org/10.1002/bies.20441>.
- Braun, P.G., and Sutton, J.C. (1988). Infection cycles and population dynamics of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. *Can. J. Plant Pathol.* 10(2), 133–141.
10.1080/07060668809501745.
- Bristow, P. R., McNicol, R. J., and Williamson, B. (1986) Infection of strawberry flowers by *Botrytis cinerea* and its relevance to grey mould development. *Ann. Appl. Biol.*, **109**(3): 545–554.
- Calvet, N. P., Ungaro, M. R. G., and Oliveira, R. F. (2005). Virtual lesion of *Alternaria*

- blight on sunflower/lesión virtual de alternaria en girasol/dommage virtuel d'*Alternaria* sur le tournesol. *Helia.*, **28**(42): 89-100.
- Carisse, O. (2016). Epidemiology and Aerobiology of *Botrytis* spp ..In: Fillinger, S., Elad, Y. (eds) *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-23371-0_7.
- Chabasse, D.(2001). Classification des champignons d'intérêt médical. *Encycl. Méd. Chir. Maladies Infectieuses*. 8-088-B-10.(Elsevier, Paris). 15 pp.
- Chantal, N.(2007). Effet de différents éléments minéraux sur la croissance et le développement du champignon *Helminthosporium solani*, agent responsable de la gale argentée de la pomme de terre. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître es Sciences(M. Sc.). Université Laval, Québec, 58p.
- Claudio, A.,Valero, J., Javier, V., Martijn, S., Jan, A. L., and Van K.(2019). <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5580-x>.
- Coque, J. J. R., Álvarez-Pérez, J .M., Cobos, R., González-García, S., Ibáñez, A.M., Diez Galán, A., Calvo-Peña, C.(2020). Advances in the control of phytopathogenic fungi that infect crops through their root system. *Adv Appl Microbiol.*, **111** :123-170.
doi : 10.1016/bs.aambs.2020.01.003. Epub 2020 Feb 10. PMID: 32446411.
- Corbaz, R. (1990). Maladies des plantes et leurs agents. In « Principe de phytopathologie ». Ed. Press polytechnique et universitaires romande Suisse 1 er Edition. pp :1-19.
- Daayf, F., & El Hadrami, A. (2016). *Alternaria Diseases of Crucifers: Biology, Ecology and Disease Management*. Springer.
- Dajoz, R. (2008). *La biodiversité, l'avenir de la planète et de l'homme*. 275 ISBN : 978-2-7298-36719.
- De Hoog, G.S., Guarro, J., & Gené, J. (2019). *Atlas of Clinical Fungi* (3rd ed.). Utrecht, The

- Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Dominique Chabasse., Claude Guiduen., *et al.* (1999) - Mycologie médicale. Ed. p :1.
- Duron, B.S.(1999). Le transport maritime des céréales. Mémoire de D.E.S.S. Université d'Aix-Marseille. 81 pp.
- Egli, S., et Brunner, I. (2002). Les mycorhizes. Notice pour le praticien. 3(8).
- Elad, Y., Pertot, I., Cotes Prado, A. M., and Stewart, A. (2016). Plant Hosts of *Botrytis* spp in: *Botrytis – The Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems*, (Fillinger, S. and Elad, Y., eds). pp. 413–486. Cham: Springer International Publishing; 10.1007/978-3-319-23371-0_20.
- Engelkes, C., Nucló, R., and Fravel, D. (1997). Effect of carbon, nitrogen, and C: N ratio on growth, sporulation, and biocontrol efficacy of *Talaromyces flavus*., *Phytopathology*. **87**(5) :500–505.
- Florent, J. (1993). Les moisissures. In « microbiologie industriel, les microorganismes d'intérêt industriel ». Ed. Lavoisier Tee et Doc. Paris. pp : 112-162.
- Gao, L., Sun, M. H., Liu, X. Z., Che, Y. S. (2007). Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi., *Mycol Res*. **111**(1) :87–92.
- GEORGE, M.(1910). Ed Text-Book of Fungi including morphology, physiology, pathology, classification, etc., 324pp.
- Guezlane, T. N., Kahlouche, B., Athmani, G. S. (2008). Microbiologie-Travaux pratique. Office des Publications Universitaires. Alger., pp :103- 105.

- Ingold, C.T., and Hudson, H. J. (1993). Deuteromycotina. In: The biology of fungi. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1496-7_6.
- Ingold, C.T., and Hudson, H. J. (1993). Zygomycotina and Mastigomycotina. In: The Biology of Fungi. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1496-7_3.
- Deacon, J. W.(2013). Fungal Biology., Ed .280pp.
- Jarvis, W.R. (1962) The infection of strawberry and raspberry fruits by *Botrytis cinerea*., Fr. Ann. Appl. Biol., **50**(3):569–575.
- Jim, D.(2005). « Chapter 14: Fungi as plant pathogens », Blackwell Publishing, (consulté le 4 octobre 2014).
- Jonathan., K.Richards., Chang-Lin Xiao., and Wayne. M. Jurick**
2021.<https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-20-0475-IA>
- Kalai, G. L., Bahri, B. A., Hadjlaoui, M. R. and Boubaker, A. (2012). Comparaison of growth, sporulation germination and pathogenicity of tow Tunisian isolates of *Phomatracheiphila*, the causal agent of mal secco. *Tunisian Journal of Plant Protection.*, 7(1): 1-17.
- Kevin, K. (2005).Fungi : Biology and Applications.Ed. 12pp.
- Latgé, J. P. (2007). The cell wall: a carbohydrate armour for the fungal cell. *Molecular Microbiology.*, **66** : 279-290. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2007.05872.x>.
- Lepoivre, P. (2003). Phytopathologie : Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte, pp :111-140.
- Li, Y., Wadsö, L., et Larsson, L. (2008). Impact of temperature on growth and metabolic efficiency of *Penicillium roqueforti* – correlations between produced heat, ergosterol content and bio

- mass. *Journal of Applied Microbiology*, 106(5), 1494-1501. doi:10.1111/j.1365-2672.2008.04110.x
- Luttrell (1978), Ellis (1971, 1976), McGinnis (1980), McGinnis *et al.* (1986b), Sivanesan (1987), Rippon (1988), de Hoog *et al.* (2000, 2015). Also see Descriptions for *Bipolaris*, *Curvularia* and *Exserohilum*.
- Lutzoni, F., and Miadlikowska, J. (2009). Lichens. *Current Biology*, **19**(13): R502-R503.
- Marjolaine, V., Georges, L., Michel, M.. (2002). *Biotechnol . Agron. Soc. Environ.* **6** (3): 131–142.
- Martin, I. C. (2003). Epidemiology of *Botrytis* spp. associated with neck rot of onion (*Allium cepa* L.) in northern Tasmania, Australia. 11pp.
- McDonald, B. A., and Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, **40**:349-379.
- Mechta N., Azouaoui-Ait kettout T. et Rahmania F.(2015). *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*: effets du milieu de culture sur la croissance mycelienne, la sporulation et la production de l'acide fusarique. *Algerian journal of arid environment*, 88(2): 82-90.
- Nasraoui, B., et Lepoivre, P. (2003). Les champignons phytopathogènes. In « *Phytopathologie* » Ed. DeBoek université Bruxelles.pp:111-143.
- Nasraoui, B. (2008). Principales maladies fongiques des céréales et des légumineuses en Tunisie. Kef : Centre de Publication Universitaire.
- Ozenda, P. (2006). *Les végétaux organisation et diversité biologique*. 2eme édition-Dunod. Paris., 503pp.
- Peng, Y., Li, S. J., Yan, J., Tang, Y., Cheng, J. P., Gao, A. J., Yao, X., Ruan, J. J., and Xu, B. L.(2021). Research progress on phytopathogenic fungi and their role as biocontrol agents. *Front Microbiol.*, 12 :670135. Doi : 10.3389/fmicb.2021.670135. PMID:

34122383 ; PMID : PMC8192705.

Pfohl-Leszkowicz, A. (2001). Définition et origines des mycotoxines in Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque, Ed. Tec & Doc., pp :3-14.

Philippe, D., et Guy, S. G. (2014). Identification des champignons d'importance médicale. Institut National de Santé Publique. Québec., 57pp.

Pitt, J. I., Hocking, A.D.(1997). Fungi and food spoilage (2nd ed.): Blackie Academic and Professional. London.

Powell, M. J. (2017). Chytridiomycota. In: Archibald, J., Simpson, A., Slamovits, C. (eds) Handbook of the Protists. Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-28149-0_18.

Prescott, J. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., and Woolverton, C. (2013). Microbiologie (4ème édition ; traduit par COYETTE, J et MERGEAY, M). Bruxelles: De Boeck, pp:138.

Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., and Woolverton, C. J. (2018). Microbiologie. De Boeck Supérieur.

Ralph, D., *et al.*(2012). « The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology », *Molecular Plant Pathology.*, **13**(4):414–430.

Rolston, K. V., Hopfer, R. L., and Larson, D. L. (1985). Infections caused by *Drechslera* species: case report and review of the literature. *Reviews of infectious diseases*, **7**(4), 525–529.

<https://doi.org/10.1093/clinids/7.4.525>.

Salvatore, M. M., and Andolfi, A.(2021). Phytopathogenic Fungi and Toxicity. *Toxins* , **13**:689. <https://doi.org/10.3390/toxins13100689>.

Schuster, J. (2004). Focus on plant diseases. Grey mould, Botrytis.

<http://www.urbanext.uiuc.edu/focus/graymold.html>.

Sinha, A. K. (2016). Botany for degree students fungi. Ed. S Chand & Co Ltd.p

6ISBN-10: 8121928265.

Smiley, R. W., Dernoeden, P. H., and Clarke, B. B.(2005). Compendium of turfgrass diseases.

St. Paul, MN: The American Phytopathological Society.

Smith, J. D., Jackson, N., and Woolhouse, A.R. (1989). Fungal Diseases of Amenity

Turfgrasses. New York, NY: E. & F.N. Spon.

Spadaro, D., Torres, R., Errampalli, D., Evertt, K., Ramos, L., and Mari, M. (2020). Pome

fruits. Pages 55-112 in: Postharvest Pathology of Fresh Horticultural Produce. L. Palou

and J. L. Smilanick, eds. CRC Press, Boca Raton, FL.

Timnick, M. B., Lilly, V.G., and Barnett, H. L.(1951). The effect of nutrition on the

sporulation of *Melanconium fuligineum* in culture. Mycologia., **43**(6) :625–634.

Ting, Z., Reeleder, R. D., and Sparace, S. A.(1996). Influence of nutrients on growth of

Epicoccum nigrum. Can. J. Microbiol. 42: 647-654.

Tourte, Y., Bordonneau, M., Henry Met Tourte, C. (2005). Le monde des végétaux

organisation, physique et Génomique. Dunod. Paris. 384pp.

Elad, Y., *et al.*,()Botrytis: Biology, Pathology and Control. pp 2.

Zachmann, R. (1987). l'alternariose de la pomme de terre. d'information. 115.

Les sites Internet :

https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/868728/tab/taxo

https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/883091/tab/taxo

https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/884263/tab/taxo#

REFERENCES

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6637890/figure/mpp12794-fig-0001>

<https://www.socimed.com/cellule-malassez-double.html>



ANNEXES

ANNEX 1. LES MILIEUX DE CULTURE

1-1 : MILIEU DE POMME DE TERRE - DEXTROSE – AGAR (PDA)

- Pomme de terre..... 200g.
- Glucose 20g
- Agar-agar 20g
- Eaux distillé.....1000ml

Autoclavage : 20 min à 121°C (Alaoui *et al.*, 2022).

1-2 : MILIEU DE MALT EXTRACT AGAR (MEA)

- Extrait de malt20g
- Agar-agar.....20g
- Eaux distillé.....1000ml

Autoclavage : 20 min à 121°C (Alaoui *et al.*, 2022).

1-3 : MILIEU DES DATTES AGAR (DEA)

- Datte.....300g
- Agar-agar.....20g
- Eaux distillé.....1000ml

Autoclavage : 20 min à 121°C (Alaoui *et al.*, 2022)

ANNEX 2: Diamètre de la colonie d'*Alternaria sp* sur les différents milieux étudiés.

Milieu de culture	Diamètre de la colonie d' <i>Alternaria sp</i> en mm après				
	24	48	72	96	120
PDA	1	22	48.6	57.75	70.23
MEA	2	38.1	50.16	63.31	75
DEA	2	38.25	51.5	65.5	76

ANNEX 3: Diamètre de la colonie de *Drechslera sp* sur les différents milieux étudiés.

Milieu de culture	Diamètre de la colonie de <i>Drechslera sp</i> en mm après					
	24	48	72	96	120	144
PDA	2	19.7	36,4	48,1	62	69,8
MEA	2	16,5	33,2	43,5	55,3	67
DEA	2	18,2	34,5	43,8	57,5	71

ANNEX 4: Diamètre de la colonie de *Botrytis sp* sur les différents milieux étudiés.

Milieu de culture	Diamètre de la colonie de <i>Botrytis sp</i> en mm après					
	24	48	72	96	120	144
PDA	1	8.5	27.5	41	53.8	67.2
MEA	1	16.5	39.5	49.8	61	71.9
DEA	1	11.5	28	42.3	54.3	69

ANNEX 5: la production des spores chez *Drechslera sp*

Milieux de culture	Nombre de spores x 10 ⁵ / cm ²
PDA	138
MEA	85
DEA	170

ANNEX 6: la production des spores chez *Botrytis sp*

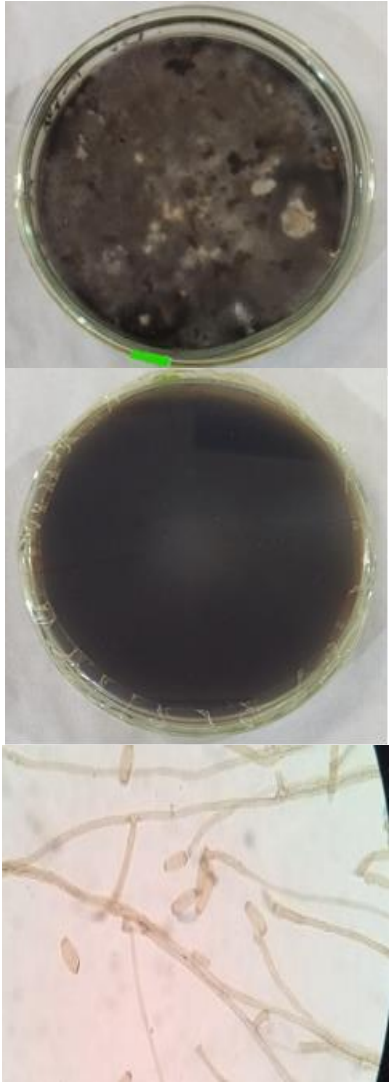
Milieux de culture	Nombre de spores x 10 ⁵ / cm ²
PDA	223
MEA	308
DEA	242

ANNEX 7: la production des spores chez *Alternaria sp*

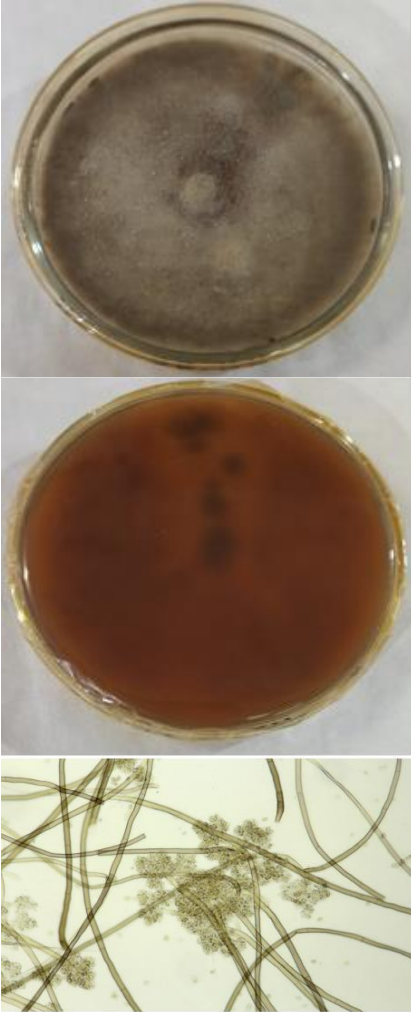
Milieux de culture	Nombre de spores x 10 ⁵ / cm ²
PDA	255
MEA	265
DEA	287

ANNEX 8. Identification des mycètes étudiés.

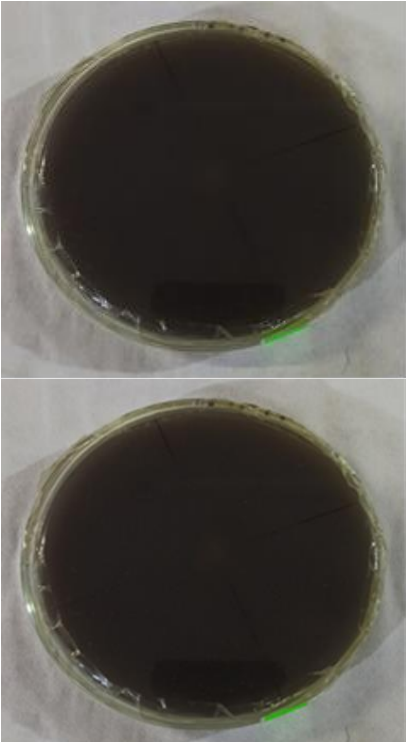
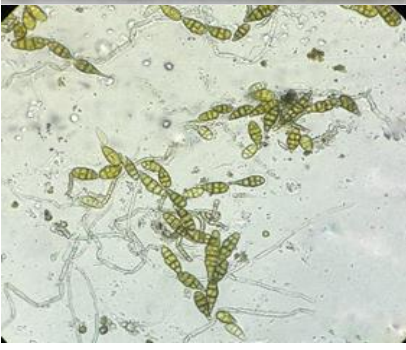
a) *Drechslera* sp 8

Classification de mycète	Champignons	Caractères
<p>Kingdom : Fungi</p> <p>Division : Deuteromycota</p> <p>Class: Hyphomycètes</p> <p>Order : Moniliales</p> <p>family : Moniliaceae</p> <p>Genus : <i>Drechslera</i></p> <p>species : sp.</p>		<p>Caractères cultureux :</p> <p>Les colonies :</p> <p>Recto :</p> <p>Cotonneuse et granuleuse.</p> <p>Gris et blanc</p> <p>Verso : Noire</p> <p>Croissance : Lente</p> <p>Caractères microscopiques :</p> <p>Mycélium</p> <p>Conidies</p>

b) *Botrytis sp*

Classification de mycète	Champignons	Caractères
<p>Règne :Fungi</p> <p>Sous-Règne</p> <p>Dikarya</p> <p>Phylum</p> <p>Ascomycota</p> <p>Sous-Phylum</p> <p>Pezizomycotina</p> <p>Classe</p> <p>Leotiomycetes</p> <p>Ordre</p> <p>Helotiales</p> <p>Famille</p> <p>Sclerotiniaceae</p> <p>Genre</p> <p>Botrytis</p>		<p>Caractères cultureux :</p> <p>La colonie :</p> <p>Cotonneuse et feutrée</p> <p>Recto :</p> <p>Blanche et brune</p> <p>Verso :</p> <p>Marron</p> <p>Croissance :</p> <p>Très rapide</p> <p>Caractères microscopiques :</p> <p>Mycélium</p> <p>Conidies</p>

c) *Alternaria* sp

Classification de mycète	Domaine	Caractères
<p>Kingdom : Fungi Division : Deuteromycota Class: Hyphomycètes Order : Moniliales family : Moniliaceae Genus : <i>Alternaria</i> species : sp.</p>	 	<p>Caractères cultureux :</p> <p>Les colonies Poudreuse. Recto : Brune</p> <p>Verso : Noire</p> <p>Croissance : Lente</p> <p>Caractères microscopiques : Mycélium Conidies</p>

Résumé :

L'objectif de la présente investigation est d'étudier l'influence du milieu de culture sur la croissance mycélienne et la production des spores chez trois mycètes : *Botrytis cinerea*, *Drechslera sp.* et *Alternaria sp.* On a utilisé dans cette étude trois milieux de culture : milieu d'extrait de pomme de terre dextrose agar (PDA), milieu d'extrait de malt agar (MEA) et un nouveau milieu qui a été préparé pour la deuxième fois à partir d'extrait des fruits de palmier trouvés à Oum El Bouaghi, qui sont généralement jetés : extrait des dattes agar (DEA). On a utilisé la mesure de diamètre de la colonie se développer sur le milieu solide pour mesurer la croissance des mycètes. Les résultats obtenus en sixième jour ont montré que le meilleur milieu pour la croissance de *Drechslera sp.* a été le milieu de DEA avec 71 mm suivi par le milieu PDA avec 69,8 mm et à la fin le milieu MEA avec 67 mm.

Quant à *B.cinerea* , il a donné en sixième jour la meilleure croissance sur le milieu DEA avec 70,1mm suivi par PDA et MEA avec 68,7 mm chacun. Quant à *Alternaria sp.* Le meilleur milieu de sa croissance en sixième jour a été le DEA avec 76 mm suivi par MEA et PDA avec 50,16 et 48,6 mm chacun respectivement. On a utilisé la Méthode de comptage sur la cellule de Malassez pour compter les spores des mycètes générés sur les milieux de culture étudiées. Les résultats ont montré que le milieu DEA était le meilleur milieu pour la production des spores chez *Drechslera sp.*

et *Alternaria sp.*. Alors que la sporulation de *B.cinerea* sur le milieu MEA était bien supérieure à sa production sur les deux autres milieux de culture restants.

Mots clés : Croissance mycélienne ; diamètre de la colonie ; *Botrytis cinerea* ; *Drechslera* ;

DEA ; Cellule de Malassez.

Abstract:

The objective of this investigation is to study the influence of culture media on mycelial growth and spore production in three fungi: *Botrytis cinerea*, *Drechslera sp.*, and *Alternaria sp.* Three culture media were used in this study: potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA), and a new medium prepared for the second time using extract from palm fruit found in Oum El Bouaghi, which are typically discarded: date extract agar (DEA). The colony diameter measurement on the solid medium was used to assess fungal growth. The results obtained on the sixth day showed that the best medium for the growth of *Drechslera sp.* was the DEA medium with 71 mm, followed by PDA with 69.8 mm, and finally MEA with 67 mm. As for *B. cinerea*, it exhibited the best growth on the DEA medium with 70.1 mm on the sixth day, followed by PDA and MEA with 68.7 mm each. In the case of *Alternaria sp.*, the best medium for its growth on the sixth day was DEA with 76 mm, followed by MEA and PDA with 50.16 mm and 48.6 mm, respectively. The Malassez cell counting method was used to count the spores of the fungi generated on the culture media under investigation. The results showed that the DEA medium was the best medium for spore production in *Drechslera sp.* and *Alternaria sp.* On the other hand, the sporulation of *B. cinerea* on the MEA medium was significantly higher than its production on the other two remaining culture media.

Keywords: Mycelial growth; colony diameter; *Botrytis cinerea*; *Drechslera*; DEA; Malassez cell.

الملخص:

يهدف هذا البحث لدراسة تأثير الوسط الغذائي على نمو الميسيليوم وإنتاج الأبواغ لثلاثة عزلات فطرية وهي:

Botrytis cinerea و *Drechslera sp.* و *Alternaria sp.*.. أستعمل في التجربة ثلاثة أوساط زرع وهي وسط مستخلص البطاطس الأجارى (PDA)، ووسط مستخلص المالت الأجارى (MEA) والوسط الثالث تم تحضيره لأول مرة من ثمار النخيل المتواجدة بأبواب البواقي والتي ترمى عادة: مستخلص تمر آجار (DEA). أعتد لقياس الزيادة في نمو الفطر بقياس قطر المستعمرة النامية على الوسط الصلب. أظهرت نتائج التجربة في اليوم السادس أن أحسن وسط لنمو فطر *Drechslera sp.* كان وسط مستخلص DEA بـ 71 ملم متبوعا بوسط PDA بـ 69,8 ملم واحتل المرتبة الثالثة وسط MEA بـ 67 ملم، أما بالنسبة لفطر *B.cinerea* فكان أحسن نمو في اليوم السادس على وسط DEA بـ 70,1 ملم، متبوعا بوسطي PDA و MEA بـ 68,7 ملم لكل منهما. أما فيما يخص فطر *Alternaria sp.* فقد سجل أحسن نمو له في اليوم السادس من التجربة على وسط DEA بـ 76 ملم متبوعا بوسطي MEA و PDA بقطر نمو مقداره 75 ملم و 70,23 مم لكل منهما على التوالي. اعتمدت طريقة العد على شريحة *Malassez* لقياس عدد أبواغ الفطريات المدروسة وأظهرت نتيجة العد، أن وسط DEA كأحسن وسط لإنتاج الأبواغ عند الفطرين *Drechslera sp.* و *Alternaria sp.*، في حين كان تبوغ *B.cinerea* على وسط MEA أكثر بكثير عن إنتاجه على الوسطين المتبقين.

كلمات مفتاحية: نمو الميسيليوم؛ قطر المستعمرة؛ *Botrytis cinerea*؛ *Drechslera*؛ DEA؛ شريحة *Malassez*.

Résumé : L'objectif de la présente investigation est d'étudier l'influence du milieu de culture sur la croissance mycélienne et la production des spores chez trois mycètes : *Botrytis cinerea*, *Drechslera* sp. et *Alternaria* sp. On a utilisé dans cette étude trois milieux de culture : milieu d'extrait de pomme de terre dextrose agar (PDA), milieu d'extrait de malt agar (MEA) et un nouveau milieu qui a été préparé pour la deuxième fois à partir d'extrait des fruits de palmier trouvés à Oum El Bouaghi, qui sont généralement jetés : extrait des dattes agar (DEA). On a utilisé la mesure de diamètre de la colonie se développer sur le milieu solide pour mesurer la croissance des mycètes. Les résultats obtenus en sixième jour ont montré que le meilleur milieu pour la croissance de *Drechslera* sp. a été le milieu de DEA avec 71 mm suivi par le milieu PDA avec 69,8 mm et à la fin le milieu MEA avec 67 mm. Quant à *B.cinerea* , il a donné en sixième jour la meilleure croissance sur le milieu DEA avec 70,1mm suivi par PDA et MEA avec 68,7 mm chacun. Quant à *Alternaria* sp. le meilleur milieu de sa croissance en sixième jour a été le DEA avec 76 mm suivi par MEA et PDA avec 50,16 et 48,6 mm chacun respectivement. On a utilisé la Méthode de comptage sur la cellule de Malassez pour compter les spores des mycètes générés sur les milieux de culture étudiés. Les résultats a montré que le milieu DEA était le meilleur milieu pour la production des spores chez *Drechslera* sp. et *Alternaria* sp.. Alors que la sporulation de *B.cinerea* sur le milieu MEA était bien supérieure à sa production sur les deux autres milieux de culture restants.

Mots clés: Croissance mycélienne ; diamètre de la colonie ; *Botrytis cinerea* ; *Drechslera* ; DEA ; Cellule de Malassez.

ملخص:

يهدف هذا البحث لدراسة تأثير الوسط الغذائي على نمو الميسيليوم وإنتاج الأبواغ لثلاثة عزلات فطرية وهي: *Botrytis cinerea* و *Drechslera* sp. و *Alternaria* sp. . أستعمل في التجربة ثلاثة أوساط زرع وهي وسط مستخلص البطاطس الأجارى (PDA)، ووسط مستخلص المالت الأجارى (MEA) والوسط الثالث تم تحضيره لأول مرة من ثمار النخيل المتواجدة بأبواب البواقي والتي ترمى عادة: مستخلص تمر آجار (DEA). أعتد لقياس الزيادة في نمو الفطر بقياس قطر المستعمرة النامية على الوسط الصلب. أظهرت نتائج التجربة في اليوم السادس أن أحسن وسط لنمو فطر *Drechslera* sp كان وسط مستخلص DEA بـ 71 ملم متبوعا بوسط PDA بـ 69,8 ملم واحتل المرتبة الثالثة وسط MEA بـ 67 ملم، أما بالنسبة لفطر *B.cinerea* فكان أحسن نمو في اليوم السادس على وسط DEA بـ 70,1 ملم، متبوعا بوسطي PDA و MEA بـ 68,7 ملم لكل منهما. أما فيما يخص فطر *Alternaria* sp فقد سجل أحسن نمو له في اليوم السادس من التجربة على وسط DEA بـ 76 ملم متبوعا بوسطي MEA و PDA بقطر نمو مقداره 75 ملم و 70,23 مم لكل منهما على التوالي. اعتمدت طريقة العد على شريحة Malassez لقياس عدد أبواغ الفطريات المدروسة وأظهرت نتيجة العد، أن وسط DEA كأحسن وسط لإنتاج الأبواغ عند الفطرين *Drechslera* sp و *Alternaria* sp ، في حين كان تبوغ *B.cinerea* على وسط MEA أكثر بكثير عن إنتاجه على الوسطين المتبقين.

الكلمات المفتاحية: نمو الميسيليوم؛ قطر المستعمرة؛ *Botrytis cinerea* ؛ *Drechslera* ؛ DEA ؛ شريحة Malassez.