

**TP 01 : Etude de l'effet inhibiteur de certains fongicides sur la croissance mycélienne des champignons**

Les maladies cryptogamiques sont considérées comme facteurs limitant de la production des céréales, des cultures maraîchères et forestières, car elles occasionnent des pertes considérables.

**Objectif du TP**

L'objectif de notre TP est de tester l'efficacité de certains fongicides (Manébe, propineb et la carboxine) sur trois souches fongiques isolées préalablement et d'évaluer la croissance in vitro des pathogènes.

**I- Matériel**

**✓ Matériel fongique (biologique)**

Les isolats fongiques ..... utilisés pour réaliser ce TP ont été obtenues à partir des lésions développées sur des aliments identifiés (tomates, pain et des pommes de terre).

**✓ Milieu de culture**

Un seul milieu de culture est utilisé pour évaluer la croissance mycélienne : la gélose OGA (La gélose Glucosée à l'Extrait de Levure et à l'Oxytétracycline (Oxytétracycline-Glucose-Agar).

**II- Méthode d'étude**

**a)- Ensemencement des souches**

Cette technique consiste à prélever des différentes boites de Petri contenant les différentes espèces de champignons, quelques filaments mycéliens ou bien une bouture de la colonie mycélienne formée sur le milieu OGA, à l'endroit où les hyphes sont les plus jeunes, et à la déposer à la périphérie des boites de Petri. Les boites sont ensuite mises à incuber à une température de 28°C. L'extension de la culture fongique s'observe après quelques jours pour les différentes espèces; on procède alors à des repiquages successifs en vue de l'obtention de cultures pures des champignons.

## b)- Etude de l'effet des fongicides sur la croissance mycéienne des champignons

- 1- Incorporer Les fongicides de synthèse aseptiquement, à la dose choisie, dans le milieu de culture OGA maintenu à une température de 40 à 45 °C.
- 2- Après écoulement et solidification du mélange (milieu de culture et fongicides), déposer au centre de boîtes de Pétri des disques d'agar de 6 mm de diamètre, portant l'agent pathogène,
- 3- Incuber les boîtes à une température de 25 °C correspondant à l'optimum de croissance mycéienne des souches fongiques.
- 4- Effectuer la mesure du diamètre moyen de chaque colonie, calculé à partir de deux diamètres perpendiculaires, après six jours d'incubation.
- 5- Des boîtes traitées de la même façon dont la même quantité de fongicide est remplacée par de l'eau distillée stérile constituent le témoin non traité.

### ➤ Evaluation de la croissance mycéienne

Pour évaluer la croissance mycéienne des souches fongiques, le diamètre des colonies est mesuré pour chaque espèce fongique. Le pourcentage d'inhibition de la croissance est calculé selon la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{Dt - Df}{Dt} \times 100 \quad \text{Où : Dt : diamètre des colonies témoins / Df : diamètre des colonies traitées.}$$

## c)-Etude de l'effet des fongicides sur la vitesse de croissance

La vitesse de croissance des espèces fongiques est étudiée sur le milieu OGA additionné ou non de fongicides aux concentrations choisies. Après 24 heures, la vitesse de croissance est mesurée et notée chaque jour pendant une semaine (la première mesure n'est pas prise en considération). La croissance mycéienne est exprimée en mm/j.