

**Université de Jijel**

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

**Département des sciences de l'environnement et sciences agronomiques**

**Module : Activités phytopharmaceutiques**

## **TP 02 : ESSAI DE LUTTE *in vitro* PAR LE GLYPHOSATE CONTRE DES CHAMPIGNONS TELLURIQUES PHYTOPATHOGENES**

### **Introduction**

Les maladies cryptogamiques sont considérées comme facteurs limitant de la production des céréales, des cultures maraîchères et forestières, car elles occasionnent des pertes considérables. La protection des végétaux vis-à-vis des champignons pathogènes peut être envisagée par l'application de fongicides. Des études récentes ont montré l'efficacité du Glyphosate, le seul herbicide organo-phosphoré capable d'inhiber la croissance mycélienne. Ces auteurs ont montré que l'application du glyphosate, ou de dérivés du glyphosate qui sont disponibles dans le sol, ou de glyphosate issu des exsudats racinaires ou des graines traitées, inhibe la croissance de ces champignons.

### **Objectif du TP**

L'objectif de notre TP est de tester l'effet *in vitro* d'un herbicide (glyphosate) sur la croissance mycélienne de deux souches de *Penicillium* isolées préalablement.

#### **I- Matériel**

##### **✓ Matériel fongique (biologique)**

Les isolats fongiques utilisés pour réaliser ce TP ont été isolés de sols de serres cultivées.

##### **✓ 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).

##### **✓ L'herbicide utilisé**

Le Round up est le nom commercial de notre herbicide, c'est un herbicide total dont la substance active principale est le glyphosate (N-phosphonomethyl-glycine). Ce dernier est un dérivé de la glycine. Le glyphosate nous a été fourni à la concentration de 36% (360g/L).

## ✓ **Choix des concentrations du Glyphosate**

Nous avons choisi pour notre expérimentation quatre molarités (0.5 – 1 – 1.5 et 2 mM)

## **II- Méthodes d'étude**

### **a)- Ensemencement des souches (voir TP précédent)**

### **b)- Etude de l'effet du glyphosate sur la croissance mycélienne des champignons**

- 1- Incorporer l'herbicide aseptiquement, aux différentes doses, 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 herbicide), déposer au centre des 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 mycélienne 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 d'herbicide est remplacée par de l'eau distillée stérile constituent le témoin non traité.

#### ➤ **Evaluation de la croissance mycélienne**

Pour évaluer la croissance mycélienne 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 :

$$I (\%) = \frac{D_t - D_f}{D_t} \times 100$$

Où :  $D_t$  : diamètre des colonies témoins /  $D_f$  : diamètre des colonies traitées.

### **c)-Etude de l'effet de l'herbicide sur la vitesse de croissance**

La vitesse de croissance des espèces fongiques est étudiée sur le milieu OGA additionné ou non de l'herbicide 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 mycélienne est exprimée en mm/j.

### **d)- Effet du glyphosate sur l'aspect de la colonie**

Ce TP consiste à visualiser l'aspect de la colonie à l'œil nu sur le milieu OGA en présence et en absence du glyphosate à différentes concentrations.