



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Micriobiologie Appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé

**Identification et biocontrôle des champignons phytopathogènes transmis
par les semences des légumineuses alimentaires.**

Présenté par : AITOUR Khaoula

Le : 12/06/2024

BELAL Nour El Houda

BOUSMINA Nousseiba

Jury d'évaluation :

Président : Dr. ABDELAZIZ Ouidad (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. HARRAT Wahiba (MRB -INRAA Constantine).

Examineur(s) : Dr. ALMI Hiba (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Année universitaire
2023 - 2024**

Résumé

Les légumineuses sont des denrées alimentaires importantes pour la population mondiale. En cours de culture, les légumineuses peuvent être exposées à diverses agressions, notamment les maladies fongiques, qui représentent probablement de l'ordre de 70% à 80% des maladies affectant les légumineuses. Notre étude consiste à isoler et identifier les champignons présents au niveau de 13 échantillons de semences (le pois chiche, le petit pois, la lentille et la fève). Aussi, réaliser des tests de biocontrôle *in vitro* sur les champignons phytopathogènes isolés en utilisant un *T. afroharzianum* qui est connu pour son effet inhibiteur des champignons pathogènes. Le nombre de genre fongique identifiés est de sept genres identifiés sur l'ensemble des échantillons soit « *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium* et *Stemphylium* ». Les résultats de ce test sont intéressantes vues que les taux d'inhibition atteint les 85%.

Mots clés :

Fabacées ; semences ; lutte biologique ; *Trichoderma afroharzianum* ; champignons

Abstract

Legumes are important food commodities for the global population. During cultivation, legumes can be exposed to various aggressions, including fungal diseases, which probably account for about 70% to 80% of diseases affecting legumes. Our study aims to isolate and identify the fungi present in 13 seed samples (chickpea, green pea, lentil, and fava bean). Additionally, conducting in vitro biocontrol tests on the isolated phytopathogenic fungi using *T. afroharzianum*, known for its inhibitory effect on pathogenic fungi. A total of seven fungal genera were identified across all samples, including *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium*, and *Stemphylium*. The results of this test are promising, with inhibition rates reaching up to 85%.

Key words:

Leguminosae; seeds; biological control; *Trichoderma afroharzianum*; fungi

المخلص

تعتبر البقوليات من الأغذية الهامة للسكان العالمي. خلال زراعتها، يمكن أن تتعرض البقوليات للعديد من الهجمات، بما في ذلك الأمراض الفطرية، التي تمثل ربما حوالي 70% إلى 80% من الأمراض التي تؤثر على البقوليات. تتمثل دراستنا في عزل وتحديد الفطريات الموجودة في 13 عينة من البذور (حمص، بازلاء، عدس وفول). كما نقوم بإجراء اختبارات السيطرة الحيوية في المختبر على الفطريات الفيتوباثوجينية المعزولة باستخدام *T. afroharzianum* الذي يعرف بتأثيره المثبط على الفطريات الضارة. تم تحديد 7 أجناس فطرية على جميع العينات وهي *Aspergillus*، *Penicillium*، *Rhizopus*، *Alternaria*، *Mucor*، *Fusarium*، *Stemphylium* من هذا الاختبار مثيرة للاهتمام لأن نسبة التثبيط وصلت إلى 85%.

الكلمات المفتاحية :

Trichoderma afroharzianum ؛ البقوليات، ؛ بذور؛ المكافحة البيولوجية ؛ الفطريات

Remerciements

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu de nous avoir guidées sur le droit chemin, et en nous donnant la force, le courage et la patience pour achever ce modeste travail. Nous exprimons notre profonde gratitude à Dr. ALMI Hiba pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury, nous apprécions le temps précieux qu'elle a consacré à l'évaluation de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier Dr. ABDELAZIZ Wided pour avoir aimablement accepté d'examiner ce travail. Sa rigueur et son expertise sont précieuses pour l'évaluation de notre recherche.

Nous remercions chaleureusement et sincèrement notre respectable encadrant Dr. HARRAT Wahiba pour son soutien inestimable et son encadrement exceptionnel tout au long de la préparation de ce mémoire. Sa patience, ses conseils avisés et sa disponibilité constante ont été déterminants pour la réussite de ce travail.

En expression de notre gratitude à toutes les personnes qui ont contribué à ce travail, de près ou de loin, que ce soit par de l'aide, les paroles ou les conseils. Leur soutien et leur collaboration ont été essentiels pour mener à bien ce projet.

Dédicace



Je souhaite dédier ce travail à mes parents, ABDELKARIM et MASSOUDA, qui occupent une place inestimable dans mon cœur. Leur soutien indéfectible et leurs prières ont été des piliers essentiels qui m'ont permis d'atteindre ce stade.

Je dédie ce travail à mes chères sœurs, MARYEM, ROKAYA et ZINEB. J'ai la chance d'avoir des sœurs qui m'apportent tout le soutien et l'amour.

Je dédie également ce travail à mes frères, ABDELFATEH, ABDERRAHIM et MOHAMED. Ils m'ont soutenu et renforcé ma volonté tout au long de ce parcours.

Enfin, je n'oublie pas mes petits anges, la joie de mon cœur, MAHDI, HIDAYA, HADIL, SAJED et CHAHIN je vous souhaite plein de succès.

Mes deux binômes NOUSSEIBA et NOUR

Merci à tous de m'avoir poussé à avancer dans mon parcours éducatif.

Khaoula

Dédicace

Avec un énorme plaisir, Je dédie ce travail :

A mes parents, qui m'ont toujours soutenu et encouragé tout au long de mes études. Merci pour votre amour inconditionnel et votre foi en moi.

Je souhaite dédier aussi ce travail à mon frère :

MOHAMED ZEHR EL DINNE qui a su m'épauler et m'encourager tout au long de mon parcours. Ton soutien a été inestimable.

A ma meilleure amie YOUSRA BAUCHE, qui a partagé avec moi les joies et les défis de ces années d'études. Merci pour votre amitié qu'été un véritable cadeau.

A mon adorable cousine KHAWTAR, qui sut m'écouter, m'encourager à poursuivre mes rêves. Merci pour votre amour et votre dévouement.

A toute la famille de BELAL

Mes deux binômes NOUSSEIBA et KHAOULA

Nour El Houda

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents qui ont fait de nombreux sacrifices et qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour arriver là aujourd'hui.

À mon Frère, qui a toujours été là pour moi, dans les mauvais moments comme dans les bons durant ces années d'études.

Je souhaite de dédie aussi ma chérie CHAIMA qui a toujours cru en moi et m'encourager à poursuivre mes efforts et rêves.

A mon cousine MARIA, Mon binôme NOUR et KHAOULA et ma copine ROA votre amitié avait été un véritable cadeau.

Nousseiba

TABLE DES MATIERES

LISTES DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

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

Partie I : Revue bibliographique

Chapitre 1. Notions sur les légumineuses

1. Définition des légumineuses	4
2. Classification systématique	4
3. L'origine des légumineuses	4
4. Les catégories et les morphologies	4
4.1 Le pois	5
4.1.1 Caractéristiques botaniques	5
4.1.2 Types de pois	5
4.1.3 Exigences de la culture.....	5
4.2 Pois chiche	6
4.2.1 Caractéristiques botaniques	6
4.2.2 Types de pois chiche	7
4.2.3 Exigences de la culture.....	7
4.3 La Fève	7
4.3.1 Caractéristiques botaniques	7
4.3.2 Types de fève.....	8
4.3.3 Exigences de la culture.....	8
4.4 Les lentilles	8
4.4.1 Caractéristiques botaniques	9
4.4.2 Types de la lentille.....	9
4.4.3 Exigences de la culture.....	10
5. Conservation des grains après récolte	10
6. Importance des légumineuses	11
6.1 Nutrition.....	11
6.5 Santé	12
6.6 L'environnement	12
7. Les légumineuses dans le monde et en Algérie	12

Chapitre 2. Les Champignons

1. Généralités	Error! Bookmark not defined.
----------------------	-------------------------------------

2.	Catégories des champignons.....	Error! Bookmark not defined.
2.1.	Levures	Error! Bookmark not defined.
2.2.	Les champignons filamenteux.....	Error! Bookmark not defined.
3.	Reproduction des champignons	Error! Bookmark not defined.
3.1.	Reproduction asexuée.....	Error! Bookmark not defined.
4.	Mode de vie des champignons.....	Error! Bookmark not defined.
4.1.	Saprophytisme.....	Error! Bookmark not defined.
4.2.	Endophytisme.....	Error! Bookmark not defined.
4.3.	Symbiose.....	Error! Bookmark not defined.
4.4.	Parasitisme	Error! Bookmark not defined.
5.	Champignons phytopathogènes	15
6.	Les modes de contamination fongique des semences	15
6.1.	Contamination par les champignons des sols.....	15
6.2.	Contaminations internes	15
6.3.	Contaminations externes.....	16
6.4.	Contamination par les débris végétaux	16
6.5.	Contamination après la récolte.....	16
7.	Exemples des champignons transmis par les semences	16
7.1.	<i>Aspergillus spp.</i>	16
7.2.	<i>Fusarium spp.</i>	17
7.3.	<i>Alternaria spp.</i>	19
7.4.	<i>Penicillium spp.</i>	20

Chapitre 3. Lutte biologique

1.	Généralités	21
2.	Définition de la lutte biologique	21
3.	Objectifs de la lutte biologique.....	21
4.	Méthodes Principales de lutte biologique.....	22
5.	Lutte microbiologique	22
6.	Utilisation de genre <i>Trichoderma</i> comme agent de lutte biologique	23
6.1.	Taxonomie	23
6.2.	Description.....	24
6.3.	Pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma sp.</i>	25
6.4.	Mode d'action de <i>Trichoderma sp.</i>	25

Partie 2. Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Échantillonnage	28
2. Isolement	29
2.1. Préparation du milieu de culture.....	29
2.2. Stérilisation des semences.....	29
2.3. Mise en boîte et incubation	30
3. Dénombrement.....	30
4. Purification	30
5. Caractérisation des champignons isolés	31
5.1. Caractérisation macroscopique.....	31
5.2. Identification microscopique des genres fongiques.....	31
6. Évaluation de l'activité antagoniste <i>du T. afroharzianum</i>	31
6.1. Méthode de confrontation directe <i>in vitro</i>	31
6.2. Mesure de zone d'inhibition.....	32
7. Traitement et analyse des données	32

Résultats et discussion

1. Isolement	34
1.1. Nombre de colonies identifiés par espèce des légumineuses	34
1.2. Genres fongiques identifiés.....	35
2. Caractérisation morphologique des genres identifiés.....	37
- <i>Penicillium</i>	37
- <i>Alternaria</i>	37
- <i>Stemphylium</i>	39
- <i>Aspergillus</i>	39
- <i>Rhizopus</i>	41
- <i>Fusarium</i>	41
- <i>Mucor</i>	42
3. Confrontation directe.....	43
Discussion	47
Conclusion	53

Références bibliographiques

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Morphologie du petit pois. (A) Les graines de pois (Astes, 2012) ; (B) La plante de pois (Romiri, 2019).	5
Figure 2. Morphologie du pois chiche. (A) Les grains de Pois chiche (GmbH, 2010) ; (B) Plante de pois chiche (Troiani, 2008).	6
Figure 3. Morphologie de la fève. (A) Les graines de fève (Corney, 2017) ; (B) la plante de fève (Kovalenko, 2020).	8
Figure 4. Morphologie de la lentille. (A) Les graines de la lentille (Lee, 2009) ; (B) La plante de la lentille (Kovalenko, 2020).	9
Figure 5. (A) Aspect macroscopique du genre d' <i>Aspergillus</i> ; (B, C) Schéma d'une tête aspergillaire (Opperman et Copelyn, 2020 ; Mold Library, 2024).	17
Figure 6. Aspect morphologique de <i>Fusarium sp.</i> (A) Aspect de la colonie ; (B) verso de la boîte ; (C) Aspect microscopique de la boîte (D) Chlamydozoospores (10×40) (Gunaratna <i>et al.</i> , 2019).	18
Figure 7. Plants de haricots infectés par <i>Fusarium sp.</i> (A) Sur les tiges (klejdysz, 2020) ; (B) Sur les racines (klejdysz, 2021).	18
Figure 8. Les caractéristiques morphologiques d' <i>Alternaria sp.</i> (A) Aspect des colonies (Alectron, 2023) ; (B) Aspect macroscopique (Worms, 2017).	19
Figure 9. Les symptômes de l'alternariose ; (A) Sur les feuilles (Cattlin, 2006) ; (B) Sur les tiges (Cattlin, 2007) ; (C) Sur une graine contaminée (Wilborn, 2024).	20
Figure 10. (A, B). L'aspect macro et microscopiques chez <i>Penicillium spp</i> ; (C) La structure morphologique et les types de ramification des conidiophores (Visagie <i>et al.</i> , 2014).	20
Figure 11. Morphologie des <i>Trichoderma</i> . (A) Aspect microscopique de <i>Trichoderma sp.</i> (Kammalue <i>et al.</i> , 2010). (B) Aspect macroscopique de <i>Trichoderma sp.</i> (Biocontrol Technologies, 2022).	24
Figure 12. Modèle d'interaction mycoparasite de <i>T. afroharzianum</i> OE : SCf avec <i>Botrytis cinerea</i> . L'interaction implique : la détection du chimiotropisme, l'enroulement des hyphes, la modulation de l'hydrophobicité, l'adhésion à la paroi cellulaire, la réduction de la virulence et la destruction de l'agent pathogène par les ROS (Liu <i>et al.</i> , 2023).	26
Figure 13. Préparation du milieu de culture PDA. (A) composants du PDA ; (B) milieu prêt à être autoclavé ; (C) Le milieu est coulé dans des boîte de Pétri 90 cm.	29
Figure 14. Méthode de stérilisation des semences. (A) Trempage dans de l'eau de javel et rinçage ; (B) Séchage des semences de pois chiche avant l'isolement.	29
Figure 15. Les semences des légumineuses déposées et étiqueter dans les boîtes de Pétri.	30
Figure 16. Préparation des lames pour l'observation microscopique. (A) Technique de ruban adhésif ; (B) Lames de verre contenant une goutte de bleu de méthylène ; (C) Lames prêtes à l'observation microscopique.	31
Figure 17. Méthode de confrontation directe <i>in vitro</i> (schémas et photo).	32
Figure 18. Exemple d'aspect des colonies obtenus dans chaque espèce après l'isolement sur le milieu PDA (A) Lentille ; (B) Le pois chiche ; (C) La Fève ; (D) Le pois fourragé.	34
Figure 19. Nombre de colonie au niveau des échantillons.	35
Figure 20. Nombre de colonie identifiés par genre et par échantillon.	36
Figure 21. Pourcentages de la présence des genres sur l'ensemble des échantillons.	36
Figure 22. Exemple d'aspect de genre <i>Penicillium</i> . (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.	37
Figure 23. (A, B, C) Exemples de trois aspects variables de genre <i>Alternaria</i> . (1) Recto ; (2) Verso ; (3) Observation microscopique.	38
Figure 24. Exemple d'aspect de genre <i>Stemphylium</i> . (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.	39

Figure 25. Exemples d'aspect de genre <i>Aspergillus</i> . (A) <i>Aspergillus</i> noir ; (C) <i>Aspergillus</i> vert ; (B, D) <i>Aspergillus</i> jaune ; (1) Recto ; (2) Verso ; (3) Observation microscopique.	40
Figure 26. Exemple d'aspect de genre <i>Rhizopus</i> . (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique...	41
Figure 27. Exemple d'aspect de genre <i>Fusarium</i> . (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique..	42
Figure 28. Exemple d'aspect de genre <i>Mucor</i> . (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.	43
Figure 29. Taux d'inhibition en confrontation directe.	44
Figure 30. Exemple des résultats de confrontation directe obtenus avec la souche <i>Trichoderma afroharzianum</i> vis-à-vis du cinq genres de <i>Fusarium</i> isolé de chaque espèce : le pois chiche (A), la lentille (B), la fève (C et D) et d'un <i>Alternaria</i> isolé à partir de l'échantillon de pois chiche (E) ; (1) Recto ; (2) Verso ; (3) Témoin..	45
Figure 31. La souche de <i>T. afroharzianum</i> . (A) Aspect morphologique de la culture ; (B) Aspect microscopique.	46
Figure 32. Observation microscopique du mycoparasitisme de <i>T. afroharzianum</i> sur <i>Fusarium</i> (A), sur <i>Alternaria</i> (B).....	46

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Classification de Cronquist (1981) et Lindl (1836)	4
Tableau 2. Classification de genre <i>Trichoderma sp.</i>	23
Tableau 3. Sources de prélèvement des semences des Légumineuses.....	28
Tableau 4. Les caractéristiques morphologiques de <i>Penicillium sp.</i>	37
Tableau 5. Les caractéristiques morphologiques de <i>Alternaria sp.</i>	38
Tableau 6. Les caractéristiques morphologiques de <i>Stemphylium sp.</i>	39
Tableau 7. Caractéristiques morphologiques d' <i>Aspergillus</i>	40
Tableau 8. Les caractéristiques morphologiques de <i>Rhizopus sp.</i>	41
Tableau 9. Les caractéristiques morphologiques de <i>Fusarium</i>	42
Tableau 10. Caractéristiques morphologiques de <i>Mucor</i>	42
Tableau 11. Origine des pathogènes utilisés dans la confrontation	44

LISTE DES ABREVIATIONS

FAO:	Food and Agriculture Organisation of the United Nations.
INSPQ :	Institute national de santé publique du Québec.
ITCMI :	Istitut Technique des Cultures Maraichères et Industriélles.
ITGCA :	Istitut Technique des Grandes Cultures en Algérie.
MASAF	Ministère de L'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire Française.
OILB :	Organisation internationale de lutte biologique.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
PDA :	Potato Dextrose Agar.

INTRODUCTION

Les légumineuses sont des espèces végétales qui produisent des graines comestibles utilisées dans l'alimentation humaine et animale depuis des milliers d'années. C'est une source nutritionnel importante grâce à leur composition riche en glucides, vitamines, minéraux et surtout en protéines végétales qui représentent un excellent complément alimentaire pour les nourrissons, les jeunes enfants et même bénéfiques pour les personnes âgées. Parmi les espèces de légumineuses cultivées : le pois chiche, la lentille, la fève, le petit pois et le haricot (FAO, 2016).

Les légumineuses sèches peuvent être stockées pendant des mois voire des années dans un endroit sec et frais, ce qui prolonge leur durée de conservation et préserve leur valeur nutritive, réduisant ainsi le gaspillage alimentaire. De plus, le stockage adéquat des grains permet d'assurer une disponibilité constante, indépendamment des saisons ou des conditions du marché (Swartz *et al*, 2023).

Mais malheureusement, ces grains stockés sont attaqués par divers ennemis classés en trois groupes principaux : les rongeurs, les insectes et les moisissures qui représentent l'ennemie le plus difficile à reconnaître dans les grains stockés car elles sont moins visibles que les deux autres grands fléaux. Cependant les spores de moisissures sont présentes partout, ces spores très fines sont disséminées par le vent et les insectes et il est impossible d'empêcher leur pénétration dans la zone de stockage (Groot, 2004). Sachant qu'ils n'infectent pas seulement les grains stockés mais aussi les fruits et les plantes au niveau des racines, tiges ou feuilles. Ces microorganismes peuvent avoir un effet dévastateur sur les grains, leurs activités peuvent entraîner une perte de rendement, une détérioration de la qualité et même par des maladies infectieuses. Parmi les espèces de moisissures les plus connues pour contaminer les grains on trouve l'*Aspergillus*, le *Fusarium*, le *Penicillium* et l'*Alternaria* (Kara et Soyly, 2023).

Il existe de nombreuses méthodes de protection des grains stockés contre les champignons nuisibles. D'abord il est important de garder les conditions physiques dans des valeurs défavorables pour la croissance des moisissures notamment l'humidité et la température dans les endroits de stockage (Cruz *et al*. 2016). Aussi l'utilisation de traitements fongicides chimiques, dont la contrainte est les effets négatifs pour la santé humaine que ces pesticides peuvent engendrer (Groot, 2004). La troisième méthode peut être biologique en utilisant du matériel biologique vivant ou un de ces dérivés pour diminuer l'utilisation des pesticides (Clémentine desfemmes, 2021).

Dans ce contexte, plusieurs genres de champignons sont utilisés pour leurs capacités antagonistes vis-à-vis des champignons pathogènes, comme les champignons de genre *Trichoderma* qui sont considérés comme des agents de biocontrôle efficaces en raison de leurs mécanismes d'action diversifiés (echoSciences, 2023).

L'objectif de ce travail est d'étudier la flore fongique pathogènes et de stockage potentiellement présente dans les semences de différentes espèces de légumineuses alimentaires et fourragères à savoir la lentille, la fève, le pois chiche et le petit pois. Aussi, dans le but de trouver une approche durable et respectueuse de l'environnement un essai de lutte biologique pour mettre en évidence l'effet antagoniste d'une espèce de « *Tichoderma afroharzianum* » sur la croissance des *Fusariums spp.* isolés.

La démarche expérimentale consiste à :

- Isoler des moisissures phytopathogènes à partir de différentes variétés de légumineuses de plusieurs régions en Algérie.
- Purification et identification des souches isolées.
- L'évaluation du pouvoir antifongique de *T. afroharzianum* contre les *Fusarium* isolés.

Partie I.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Définition des légumineuses

Les légumineuses « latin scientifique *leguminesus*, de *legumen* » appelées également les Fabacées constituent une famille botanique des plantes dicotylédones. Ses fruits comestibles se caractérisent par la présence de gousse déhiscente à deux valves (Blancard, 2020). Ce type de cultures récoltées uniquement pour l'obtention de graines sèches (FAO, 2016).

2. Classification systématique

La classification des fabacées est indiquée au niveau du tableau 1.

Tableau 1. Classification de Cronquist (1981) et Lindl (1836)

Rang	Classification
Regne	<i>Plantae</i>
Sous-regne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidea</i>
Ordre	<i>Fabales</i>
Famille	<i>Fabaceae</i>

3. L'origine des légumineuses

La famille des *Fabacées* regroupe une importante variété d'espèces végétales cultivées partout dans le monde depuis des millions d'années en raison de leur capacité de se développer dans n'importe quel environnement et climat à l'exception des régions désertiques et polaires. La production mondiale de ces espèces a augmenté de 31% entre 1990 et 2014. En 2014, la production totale a été estimée à 77,6 millions de tonnes (Javaloyes et O'Broin, 2016).

4. Les catégories et les morphologies

On peut distinguer deux types des légumineuses

- Les légumineuses fourragères destinées aux herbivores (pâturages, foin, ensilage) ce groupe comprend : la luzerne, le sainfoin, le lupin, loties, les trèfles et les vesces (Chamon, 2018).
- Les légumineuses à grains consommées par l'homme comme les lentilles, les haricots, le pois et le pois chiches (MASAF, 2022).

Cette dernière regroupe plus de 18000 variétés distribuées principalement sur plusieurs catégories :

4.1 Le pois

Le *Pisum sativum* (Pea) semble d'être émergés dans les régions de la Méditerranée ou du Moyen- Orient. Les pois secs sont couramment utilisés comme soupe, farine et dans diverses cultures orientales. Les producteurs principaux sont Canada, Russie et L'Ukraine (Javaloyes et O'Broin, 2016).

4.1.1 Caractéristiques botaniques

Le pois est une plante herbacée grimpante et annuelle. Sa racine est pivotante descend dans le sol entre 50 cm et 1 m de profond. Possède une tige creuse moins ramifiée, de 50 cm à 1,50 m de longueur. Les fleurs sont blanches, autopollinisée et de type papilionacé. La gousse déhiscence effectue une photosynthèse qui a une action sur la formation du pois, contenant deux à dix graines. La graine est sphérique et grosse, lisse ou ridée de couleur verte ou beige (Gérard et Marouf, 2022).

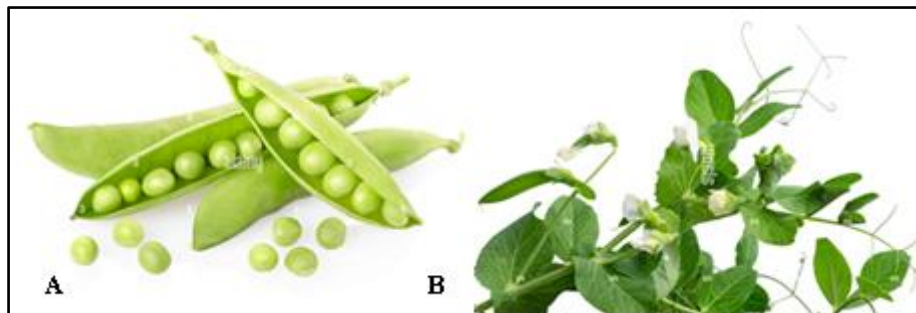


Figure 1. Morphologie du petit pois. (A) Les graines de pois (Astes, 2012) ; (B) La plante de pois (Romiri, 2019).

4.1.2 Types de pois

Il existe trois grands types de pois selon (La France, 2007) :

- **Pois à écosser**, La gousse de pois à écosser n'est pas destinée à la consommation humaine.
- **Pois mange-tout**, Le pois mange – tout est comestible complètement.
- **Pois de type Sugar-Snap**, Possède un meilleur rendement et saveur.

4.1.3 Exigences de la culture

- **Climat**

Le pois est une plante de climat tempéré, humide qui se développe bien au printemps et à l'automne entre 18 et 23°C (Biowallonie, 2022).

- **Sol**

Les pois peuvent pousser dans tous les sols, mais ils préfèrent celles qui sont légers, frais et bien ventilés pour faciliter le développement des nodules (Gérard et Marouf, 2022).

- **Floraison, Fructification et Récolte**

Les pois ronds sont cultivés en pleine terre entre février et avril mais les pois ridés ont mis plus tard dans l'année. La photopériode affecte la floraison, c'est pourquoi les jours longs sont les mieux adaptées pour l'améliorer. La récolte se varie selon le type de pois, le pois mange-tout doit être récolté jeune tandis que le pois Suger-Snap doit être récolté à son plein développement, le pois à écosser est récolté à un stade plus mature (ITCMI, 2022).

4.2 Pois chiche

Cicer arietinum (chickpea) originaire du Proche-Orient, il est utilisé comme ingrédient dans les plats des cultures méditerranéennes, du Moyen-Orient et en Inde où on le moule pour obtenir une farine à plusieurs usages (Javaloyes et O'Broin, 2016).

4.2.1 Caractéristiques botaniques

Le pois chiche est une plante herbacée et annuelle, pouvant atteindre une hauteur d'environ un mètre. Les racines pivotantes, sa tige dressée porte des ramifications primaires et secondaires qui la font ressembler à un petit buisson. Les feuilles sont vertes et peuvent avoir des formes ovales à oblongues, contiennent nombreuses folioles. Les fleurs sont généralement blanches, roses ou violettes selon la variété. Ses gousses sont courtes, enflées contiennent habituellement deux à trois graines. Les graines sont de forme arrondie, avec une couleur variant du beige clair au brun clair en fonction de la variété (Gérard et Marouf, 2022).

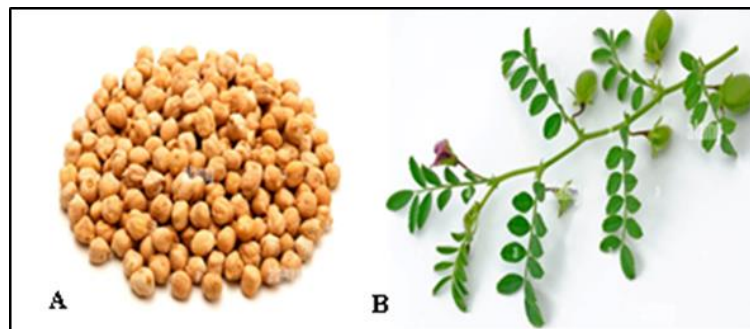


Figure 2. Morphologie du pois chiche. (A) Les grains de Pois chiche (GmbH, 2010) ; (B) Plante de pois chiche (Troiani, 2008).

4.2.2 Types de pois chiche

Il existe principalement deux grandes catégories selon (ITGCA, 2018) :

- **Le pois chiche Kabuli**, Ils ont une forme ronde, couleur beige clair à blanche, texture lisse et saveur plus neutre.
- **Le pois chiche Desi**, Plus petites et plus rondes que les pois chiches blanc, couleur foncée avec une texture rugueuse et saveur prononcée.

4.2.3 Exigences de la culture

Selon Gérard et Marouf (2022) les conditions de la culture du pois chiche sont :

- **Climat**

Facile à cultiver, nécessite une bonne aération et ensoleillement avec une meilleure adaptation aux régions du sud de mars à mai.

- **Le Sol**

Poussent mieux dans les sols drainés, fertiles et de préférence un pH neutre à alcalin.

- **Floraison, Fructification et Récolte**

Lorsque les pois chiches sont plantés au printemps, la récolte se fait environ cinq mois plus tard entre juillet et septembre, pour ceux cultivées en octobre la récolte se fait au printemps.

4.3 La Fève

La plante *Vicia faba* (Bean) est originaire d'Asie et du Moyen-Orient. Ça culture est très ancienne ; la plante a été domestiquée par l'homme depuis plusieurs milliards d'années. On peut consommer les fèves vertes fraîches ou après cuisson. Ils sont présents dans plusieurs pays notamment Chine, Australie, Egypte... (Javaloyes et O'Broin, 2016).

4.3.1 Caractéristiques botaniques

Ce sont des plantes herbacées annuelles dont les tiges sont quadrangulaires, dressées et ramifiées, peuvent atteindre jusqu' à 70 cm de hauteur. Les feuilles comportent une à trois paires de folioles avec un couleur vert foncé. Les fleurs sont blanches mais porte des taches brunes et foncées sur les pétales ; elles sont hermaphrodites disposées en petites grappes. Les gousses sont longues, plates et non consommables, contient deux à six grosses graines (ITCMI, 2022).

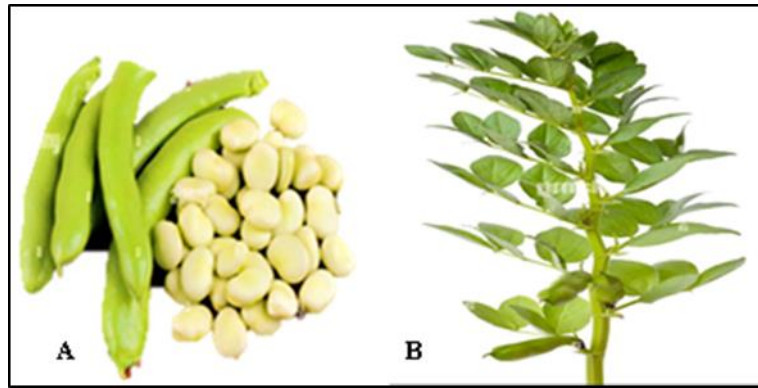


Figure 3. Morphologie de la fève. (A) Les graines de fève (Corney, 2017) ; (B) la plante de fève (Kovalenko, 2020).

4.3.2 Types de fève

La fève (genre *Vicia*) regroupe deux variétés souvent grimpantes selon Gérard et Marouf (2022) :

- **La fève d’Aguadulce**, Ayant une très longue gousse contenant de 8 à 9 graines.
- **La fève de Séville**, Variété hâtive contenant environ 6 graines de grosseur moyenne.

4.3.3 Exigences de la culture

Les conditions de la culture de la fève selon ITCMI (2022) sont :

- Climat

La culture de la fève rustique peu exigeante, elle ne tolère pas la chaleur excessive et la sécheresse, elle résiste aux températures très basses (-3°C). Sa température optimale de croissance entre $18 - 22^{\circ}\text{C}$.

- Sols

Cette plante aime les terres souples, riche en humus, légèrement calcaires mais qui doivent toujours rester humide.

- Floraison, Fructification et Récolte

Les fèves sont plantées à la fin de l’hiver pour être récoltés en vert environ 3 mois après le semis, au fur et à mesure que les gousses atteignent les $\frac{3}{4}$ de leur longueur définitive en début d’été, lorsque les gousses deviennent noires.

4.4 Les lentilles

Lens culinaris (lentils) est le nom scientifique de cette plante. C’est un des légumes les plus anciens. Cette plante est originaire des régions tempérées chaudes de l’ancien monde : Sud-Est d’Europe et Asie Mineure et Proche-Orient comme Turquie, Liban, Ouest

et nord Iran. Les lentilles sont largement cultivées pour ses graines comestibles très riches en éléments nutritifs et particulièrement en protéine (Javaloyes et O'Broin, 2016).

4.4.1 Caractéristiques botaniques

La lentille est une plante herbacée annuelle de 20 à 72 cm de haut. Les tiges sont dressées et très rameuses. Ses feuilles, alterne, composée pennées, comporte 10 à 14 folioles opposées, oblongue, et sont terminées par une vrille généralement simple et bifide. Les fleurs de type papilionacé, sont de couleur blanche ou bleu pâle et groupées par petites grappes de deux à quatre. Les fruits sont des gousses aplaties, courtes, contenant deux graines aplaties en forme caractéristique de disque faiblement bombé. La couleur des graines varie selon les variétés (Gérard et Marouf, 2022).

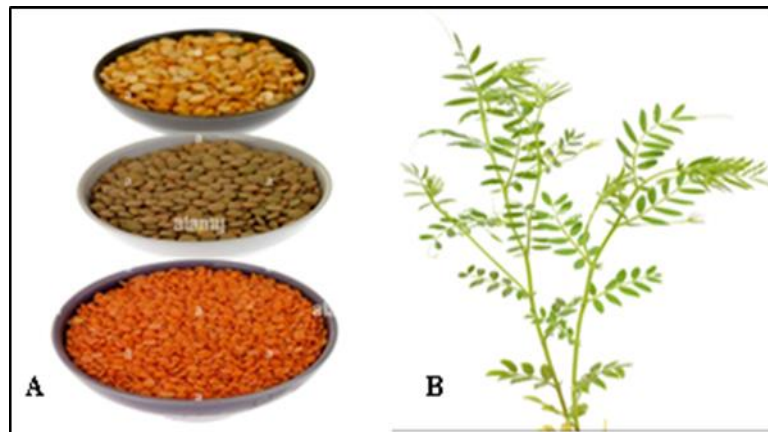


Figure 4. Morphologie de la lentille. (A) Les graines de la lentille (Lee, 2009) ; (B) La plante de la lentille (Kovalenko, 2020).

4.4.2 Types de la lentille

Les différents types de lentilles sont décrits par Javaloyes et O'Broin (2016) :

- **Les lentilles rouges ou orange**, plus petite et plus rare, utilisé dans la cuisson asiatique, plus rapide à cuire que les lentilles vertes et brunes. Elles ont en couleur rouge-orangée et une saveur légèrement sucrée.
- **La lentille blonde**, plus grosse (8 mm), plus moelleuse et plus sucrée.
- **La lentille verte et brune**, contrairement aux variétés rouges, cette lentille commune en forme de disque avec une couleur plus foncée, une saveur plus forte légèrement terreux et une texture plus ferme.
- **La lentille corail**, cette variété est issue de lentille rouge qui a été dés pelliculés en termes de taille et de gout, mais elle est de couleur orange vif.

- **La lentille noire ou Beluga**, ces lentilles sont petites et rondes avec une couleur noir profonde qui ressembler les œufs de caviar. Elles ont une saveur douce et une texture croustillante une fois cuites.

4.4.3 Exigences de la culture

Les exigences de la culture de lentille sont décrites par Gérard et Marouf (2022) :

- **Climat**

Les lentilles aiment les climats tempérés frais avec une exposition ensoleillée.

- **Sols**

La lentille pousse en terrain léger et sablonneux, légèrement calcaire pH (6.0 et 8.1) et bien drainés.

- **Floraison, Fructification et Récolte**

La lentille se sème au printemps en rangs distants de 35cm, en poquets de 6 à 8 graines en quinconce. Elle germe rapidement, en moyenne une dizaine de jours plus tard. Elle ne nécessite ni engrais, ni arrosage sauf en période de sécheresse sévère. La récolte se fait en milieu d'été avant l'arrivée à maturité des graines. Arracher les pieds et laisser les séchés sur une place pendant une journée.

5. Conservation des grains après récolte

Après la récolte, la conservation des grains est essentielle pour préserver leur qualité et éviter les pertes. Les agriculteurs protègent leurs cultures par le suivi de quelques étapes clés :

- **Nettoyage**

Généralement les semences sont nettoyées en premier temps pour réduire les risques de contamination ainsi que l'élimination des débris indésirables comme les feuilles par exemple (Cruz *et al.*, 2016).

- **Séchage**

Les graines doivent être conservées à un pourcentage d'humidité estimé à 65% pour éviter leur altération par les microorganismes cela est assuré par le processus de séchage. Ce dernier est réalisé en utilisant deux méthodes le séchage naturel et le séchage artificiel mais les deux se basent sur l'élimination de la vapeur d'eau à des températures adéquates. Il faut

noter que cette étape est suivie par un refroidissement des graines en abaissant la température avant de les stocker (De Lucia et Assennato, 1992).

- **Stockage**

Stockage des légumineuses se fait dans des installations appropriées et bien ventilées comme les Greniers traditionnels, Silo métallique, Cellule métallique (Cruz *et al.*, 2016). La garantie qualitative est estimée à 18 mois ça veut dire que les légumineuses prennent une longue durée pour perdre leur valeur nutritionnelle par rapport aux autres produits alimentaires (Javaloyes et O'Broin, 2016).

- **Surveillance continue**

Les agriculteurs peuvent contrôler et prolonger la durée de conservation des grains et préserver leur qualité en les protégeant de l'exposition aux deux principaux facteurs d'altération physiques à savoir la température et l'humidité. Ainsi que des facteurs biologiques comprennent principalement les insectes, les bactéries qui contribuent à la détérioration des grains et les champignons qui peuvent causer des maladies fongiques, affectent la qualité des grains et produisent des toxines nocives. Des exemples de champignons qui affectent les grains comprennent *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Alternaria* (Cruz *et al.*, 2016).

6. Importance des légumineuses

Les *Fabacées* est une famille à répartition cosmopolite, présente dans tous les continents (à l'exception de l'Antarctique), des zones froides aux zones tropicales ainsi dans toutes les cultures, les religions et les civilisations du monde (Javaloyes et O'Broin, 2016).

6.1 Nutrition

Les légumineuses sont riches en protéines, en vitamines (la vitamine B, thiamine, la niacine) et en sels minéraux (zinc, potassium, Fer, magnésium) mieux que les céréales complètes et le riz ainsi que des teneurs importantes en fibres et hydrates. La majorité des variétés sont très pauvre en matière grasse et en cholestérol et riches en folate où l'acide folique (Patrick, 2020).

6.5 Santé

- Protection de la santé publique contre les maladies cardiaques, les cancers, l'anémie et le cholestérol en raison de ces valeurs nutritionnelles variables et riches en substances bio actives.
- Les légumineuses constituent une moyenne très efficace couramment utilisée pour un régime végétarien et aussi pour diminuer le poids chez les personnes obèses.
- Réduction des problèmes liés aux allergies alimentaires comme allergie au gluten.
- Amélioration de fonctionnement de système nerveux, des métabolismes chez les personnes surtout les femmes enceintes et les nouveaux nés (Javaloyes et O'Broin, 2016).

6.6 L'environnement

Selon Javaloyes et O'Broin (2016), certaines légumineuses comme le pois jouent un rôle de protection contre l'érosion et la sécheresse à l'aide de leurs racines longues et approfondies qui permettent la capture d'eau et la fixation des sols agricoles.

Les légumineuses contribuent aussi à la fertilité des cultures agricoles en raison de leur capacité de fixer l'azote atmosphérique ça veut dire que ces derniers éliminent le rôle des engrais azotés.

Grace à la pelure solide et rigide les Fabacées sont capables de résister aux changements climatiques comme la sécheresse et l'inondation.

Les régions agricoles de ce type alimentation sont moins exposées à l'effet de serre que les autres zones agricoles.

7. Les légumineuses dans le monde et en Algérie

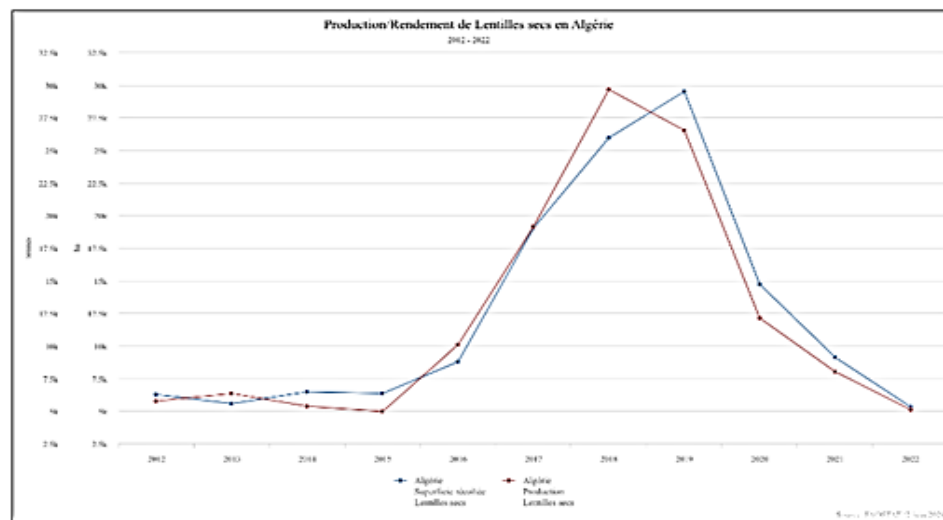
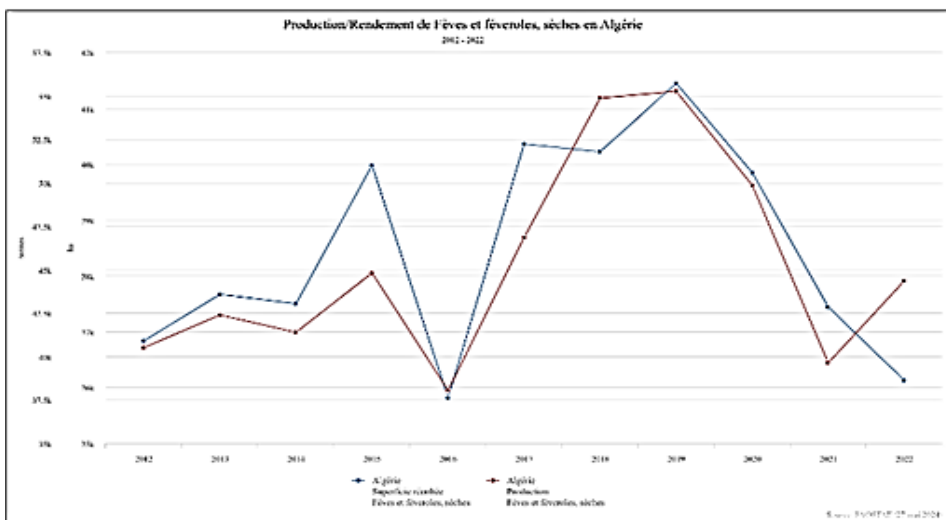
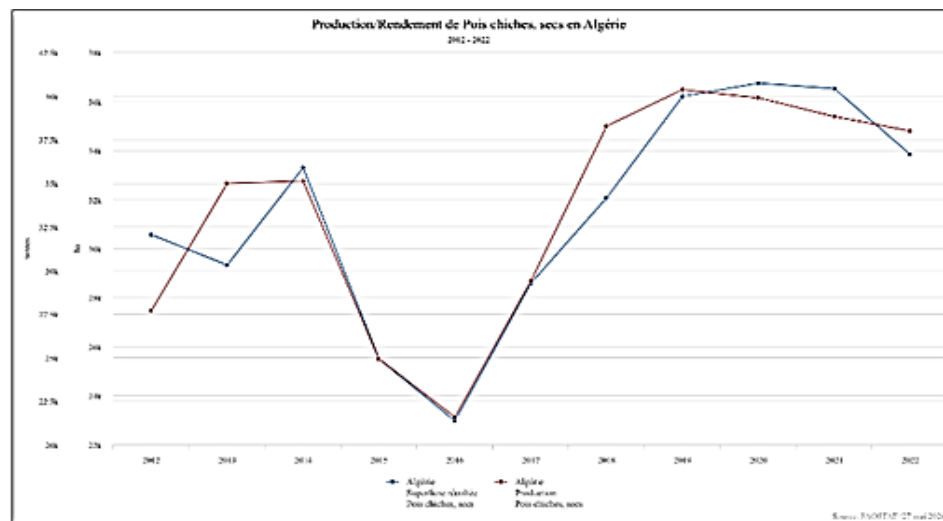
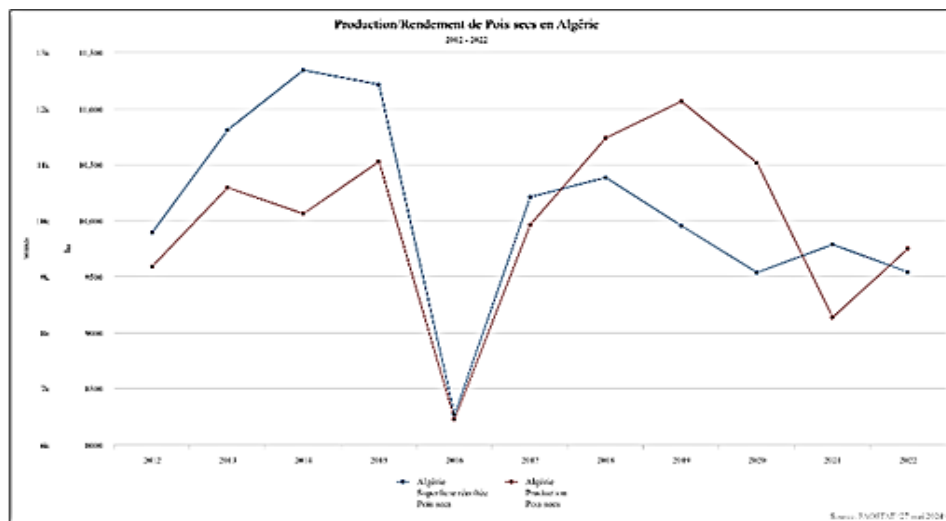
Les légumineuses sont largement cultivées dans le monde en raison de leur valeur nutritionnelle. La fève, la lentille, le pois sec, le pois chiche et le haricot sont les plus consommés, ils se localisent surtout en Amérique du Nord, le Bassin méditerranéenne et dans le subcontinent indien. En 2008, la superficie mondiale dédiée aux légumineuses alimentaires s'élevait à 61 millions d'hectares dans 97% était située dans les pays en voie de développement avec un rendement moyen de 1 tonne par hectare (Hamadache, 2014).

En Algérie, les légumineuses alimentaires occupent une place importante dans les systèmes de cultures et dans l'alimentation de la population. Les légumineuses les plus cultivés maintenant dans le pays sont le pois chiche, la lentille et le Haricot sur une superficie

totale estimée par 85%. La consommation principale de la fève et petit pois se fait généralement sous forme fraîche. Au cours de la décennie 2012/2022, la culture des légumineuses alimentaires mentionnées a stagné en termes de superficie, restant comprise entre 100000 et 170000 hectares pendant cette période.

Les zones essentielles de la production des légumineuses alimentaires en Algérie sont :

- La zone nord-ouest : Sidi Bel-Abbes, Tlemcen et Ain Témouchent connue par la culture de la fève, le petit pois et le pois chiche.
- Le Nord- Est : Skikda et Guelma produisent principalement la fève et le pois chiche.
- Le Sersou : la lentille.
- Biskra : les cultures précoces et irriguée de la fève et le petit pois (Hamadache, 2014).



1. Champignons phytopathogènes

Certains champignons peuvent infecter et nuire à leurs plantes hôtes, leur potentiel pathogène étant influencé par divers facteurs notamment la sensibilité ou la résistance de l'hôte : c'est le pouvoir pathogène du champignon est plus puissant que les méthodes défensives de l'hôte dans ce cas ce dernier est exposé aux maladies, d'autre cas l'hôte peuvent défendre et résister contre l'invasion des champignons et leurs maladies infectieuses. Les champignons peuvent non seulement toucher les feuilles, mais également se propager aux graines (Nasraoui et Lepoivre, 2003).

Pendant la colonisation de la plante hôte, les champignons sont exposés à divers composés de défense produit par la plante, notamment les phytoalexines. Les champignons nécrotrophes tels qu'*Alternaria brassicicola* possèdent généralement la capacité de surmonter la toxicité des phytoalexines (INRAE, 2021).

2. Les modes de contamination fongique des semences

On peut distinguer plusieurs modes de contamination :

2.1. Contamination par les champignons des sols

Les champignons phytopathogènes présents dans le sol des champs ou les semences notamment : *Phytophthora sp.*, *Pythium sp.*, *Rhizoctonia sp.* et *Fusarium sp.* Peuvent causer des dommages variés aux cultures de légumineuses comme : les lésions sur les tiges des jeunes plants (*Rhizoctonia*), de fonte de semis (*Phytophthora*), de pourriture racinaire (*Fusarium*) sans traitement avec les fongicides appropriés (Hamadache, 2014).

2.2. Contaminations internes

La contamination se propage lorsque les structures mycologiques entrent à l'intérieur des semences, se prolifèrent dans les différentes parties des téguments (fruits ou grains, gousse...). L'altération varie selon le type de champignon et les conditions climatiques et se traduit parfois par des taches, des marbrures avec des formes et couleurs différentes. Le contrôle se fait dans ce cas par des antifongiques commercialisés et le traitement est partiellement efficace (Champion, 1997).

2.3. Contaminations externes

La contamination est superficielle se produit par l'adhésion des champignons à la surface extérieure des graines sous formes de spores ou forme mycélienne comme quelques cas chez *Tilletia*, *Ustilago*, Les spores dans ce cas sont plus faciles à éliminer et peuvent être inactifs après une période de stockage (Champion, 1997).

2.4. Contamination par les débris végétaux

Les matières inertes représentent une source de contamination dangereuse le même que les semences elles-mêmes puisqu'ils sont porteurs d'une variété de la flore de sol notamment les champignons par exemple les sclérotés infecte directement les jeunes semis ou indirectement par la production des ascospores (Champion, 1997).

2.5. Contamination après la récolte

Il y'a plusieurs genres de moisissures responsables de la destruction des graines lors de stockage comme *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichothecium* en raison d'un problème d'humidité pendant la conservation, la récolte ou un problème d'aération (les locaux sont insuffisamment aérer). Ces champignons producteurs des spores sont à l'origine des consommations atmosphériques des milieux de cultures des laboratoires d'analyses. La qualité des graines dans ce cas diminue même si sont en excellent état après la récolte (Champion, 1997).

3. Exemples des champignons transmis par les semences

3.1. *Aspergillus spp.*

Les *Aspergillus* sont des champignons imparfaits, filamenteux de types moisissure, ils appartiennent à la classe des *Deutéromycètes* et à la famille de *Moniliacées*. Ils se développent sous forme de colonies de texture poudreuses ou granuleuses avec des couleurs variables et distinctifs de chaque espèce. Ils présentent de nombreux conidiophores dressée avec une extrémité vésiculaire, sphérique ou ovoïde appelée la tête aspergillaire (INSPQ, 2024).

Les spores, sont habituellement rondes et mesurant de 2,5 à 4 μm , générées à partir des phialides regroupées au sommet ou sur toute la vésicule. Ils peuvent être claires, légèrement colorées de couleur noire avec ou sans mutules (Makhlouf, 2019).

Les espèces d'*Aspergillus* ciblent tous les types de semences et peuvent se trouver à la surface de la graine sous forme de spores ou bien sous forme de mycélium dans les téguments ou au niveau de l'embryon. Elles peuvent se développer et se transformer en parasite entraînant ainsi une diminution notable de taux de germination des graines, avec souvent la présence conjointe de genre *Penicillium* sur les semences si les graines sont récoltées humides et ne sont pas correctement séchées, ou si elles absorbent de l'humidité pendant le stockage (Champion, 1997).

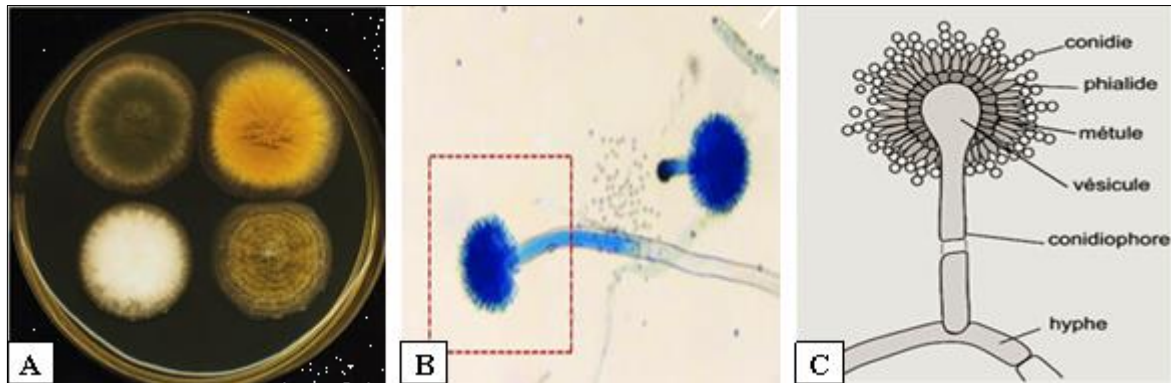


Figure 5. (A) Aspect macroscopique du genre d'*Aspergillus* ; (B, C) Schéma d'une tête aspergillaire (Opperman et Copelyn, 2020 ; Mold Library, 2024).

3.2. *Fusarium spp.*

Les *Fusarium* sont un grand groupe de champignons filamenteux, imparfaits appartenant à la sous classe des *Hyphomycetes* et à la famille de *Hypocreales*. Ils sont des champignons saprophytes et des agents pathogènes pour les plantes très répandus dans le sol et les débris organiques (INSPQ, 2024).

Lors de leur croissance sur boîte de pétri ils forment des colonies cotonneuses de couleur blanches, rouges ou violettes sur le milieu standard Pomme de terre Dextrose Agar, ces microorganismes se caractérisent par la présence d'un thalle végétatif donnant des conidiophores courts et ramifiés qui portent des phialides. Les conidies ou les spores sont de trois types : les macroconidies (fusiformes et cloisonnées), les microconidies (petites, septées ou non, ovoïdes) et les chlamydospores (formées seules, doublées, en bouquet ou en chaîne). Le *Fusarium* est principalement connue par son association avec les grandes cultures provoquant ainsi des maladies appelées Fusarioses. Les effets de cette maladie sur la plante se présentent de deux façons : soit par altération de la tige qui empêche les nutriments et l'eau, soit par affaiblissement des tissus végétaux (Heit, 2015).

La plante peut être contaminée par ce genre à partir de stade de croissance jusqu'à la reproduction puis sa maturité. Le *Fusarium* se localise d'abord dans les parties souterraines et forme des spores ou des mycéliums sur les graines. Habituellement il n'apparaît pas dans les lieux de stockage. D'une manière générale, ce champignon est peu fréquent sur les semences (Champion, 1997).

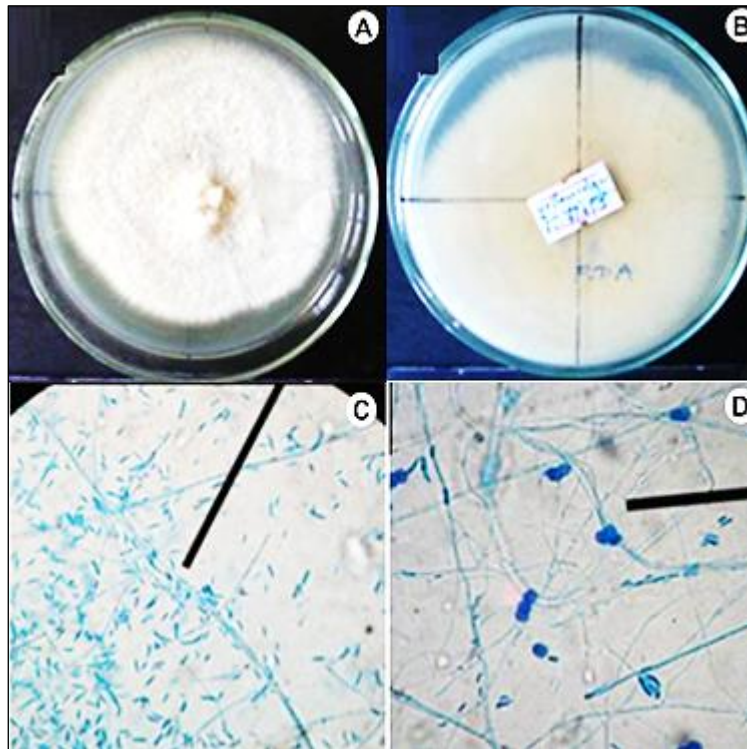


Figure 6. Aspect morphologique de *Fusarium* sp. (A) Aspect de la colonie ; (B) verso de la boîte ; (C) Aspect microscopique de la boîte (D) Chlamydospores (10×40) (Gunaratna *et al.*, 2019).



Figure 7. Plants de haricots infectés par *Fusarium* sp. (A) Sur les tiges (klejdysz, 2020) ; (B) Sur les racines (klejdysz, 2021).

3.3. *Alternaria spp.*

Les *Alternaria* sont principalement des moisissures ubiquitaires, ils sont largement répandus dans l'environnement. Le genre *Alternaria* renferme un grand nombre d'espèces (plus de soixante), il appartient à la classe des *Dothideomycètes*, l'ordre *Pleosporales* et la famille *Pleospora*. Les *Alternaria* sont des champignons saprophytes et parasites, en effet ils sont signalés sur semences (Bessadat, 2014).

Ces microorganismes sont responsables de l'alternariose qu'est une maladie phytopathogène qui affecte plus de 100 espèces connues, parmi les 50 espèces étudiées on trouve *Alternaria solani* et *Alternaria alternata* Dans les cultures, la couleur de mycélium va du blanc grisâtre au vert foncé. Les conidies de ces champignons sont brunes, pluricellulaires, de forme piriforme ou ovoïde avec une base arrondie et une extrémité apicale allongée en bec plus ou moins prononcé appelées dictyospores. Les conidies sont septées et possèdent des cloisons transversales et longitudinales, souvent disposées soit en solitaire soit en chaîne. Les hyphes septés de ce champignon sont ramifiés, et certains filaments deviennent pigmentés en brun. Les conidiophores, quant à eux, sont cloisonnés, bruns, simples, plus au moins droits ou flexueux (Hassan *et al.*, 2021).

Parmi les espèces les plus touchées sur tous les types de semences (*A. tenuissima*, *A. tenuis*, *A. Alternata* et *A. consortiale*). Ces espèces sont installées sous forme de taches noirâtres, sur les feuilles, les fruits et les graines. Ils se localisent sur la graine sous forme de spores à la surface ou sous forme de mycélium dans les parties externes des téguments (Ertoy, 2023).

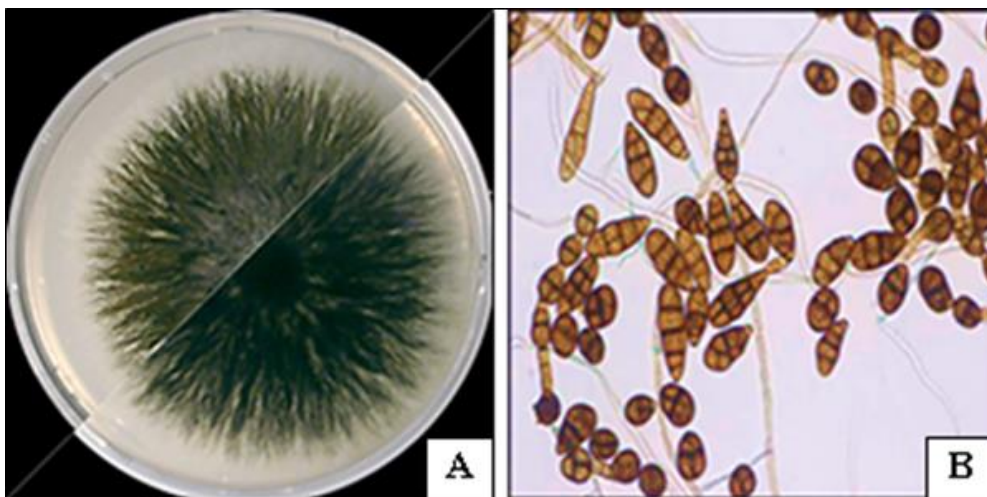


Figure 8. Les caractéristiques morphologiques d'*Alternariai sp*, (A) Aspect des colonies (Alectron, 2023) ; (B) Aspect macroscopique (Worms, 2017).

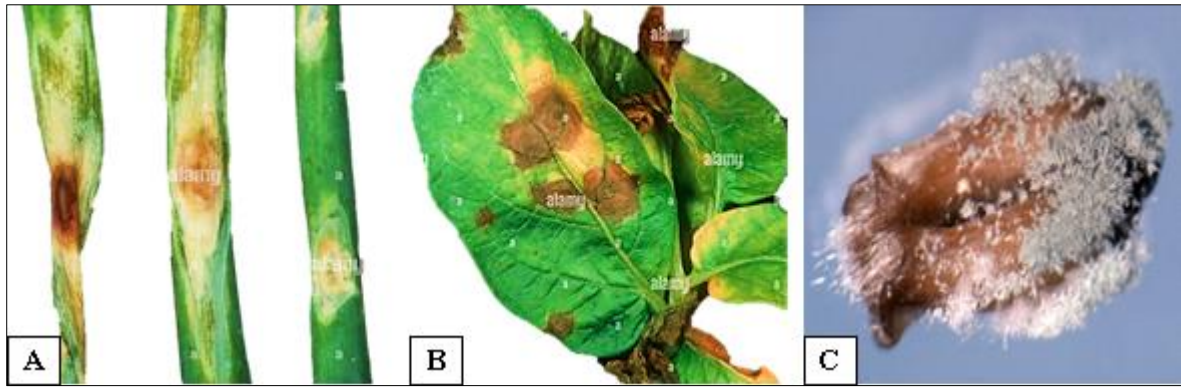


Figure 9. Les symptômes de l'alternariose ; (A) Sur les feuilles (Cattlin, 2006) ; (B) Sur les tiges (Cattlin, 2007) ; (C) Sur une graine contaminée (Wilborn, 2024).

3.4. *Penicillium* spp.

Le *Penicillium* est un genre des champignons imparfaits (*Deutéromycètes*). Il est l'un des champignons les plus répandus dans le sol, la végétation en décomposition et dans une large gamme d'environnements physico-chimiques, mais certaines d'entre elles sont hautement spécialisées comme pathogènes des fruits, graines.... Ces espèces sont considérées comme saprophytes omniprésentes et opportunistes, ils appartiennent au phylum des *Ascomycètes*, l'ordre des *Eurotiales* et la famille *Trichomaceae* (INSPQ, 2024).

Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux apparaissent sous forme de colonies duveteux à poudreux avec des couleurs variables (verte, jaune et gris) et une structure microscopique en forme de pinceau et se caractérisent par des filaments mycéliens : fins, septées et à bords parallèles. Les conidiophores sont dressés et simples ou ramifiés avec des conidies disposées en long chaîne unicellulaires de forme globuleuses ou ovales (Visagie *et al.*, 2014).

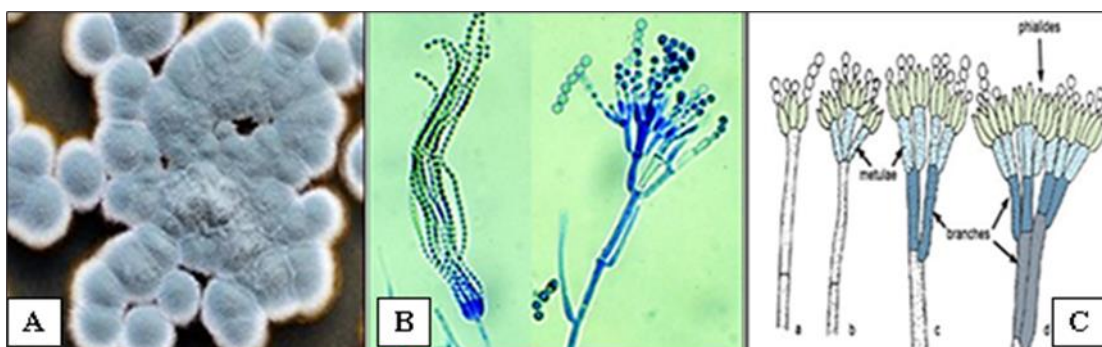


Figure 10. (A, B). L'aspect macro et microscopiques chez *Penicillium* spp ; (C) La structure morphologique et les types de ramification des conidiophores (Visagie *et al.*, 2014).

1. Généralités

La lutte biologique est une approche pratique découverte dans l'Antiquité et qui s'est développé au fil du temps pour devenir une discipline scientifique applicable au cours du 19^{ème} siècle, elle est devenue un procédé majeur approuvé dans la plupart des pays dans le monde, pour protéger les cultures agricoles de manière écologique et durable. Cette méthode contribue grandement à réduire l'utilisation de pesticides et d'éviter la lutte chimique, elle est donc considérée comme une méthode moins dangereuse et plus respectueuse de l'environnement, de plus, elle préserve la biodiversité (Suty, 2010).

En Algérie, la lutte biologique a été intégrée dans les programmes de protection des cultures, notamment ceux cultivés en exploitation sous serre qui subissent de nombreux traitement chimique, afin de diminuer les risques la santé des consommateurs en raison des résidus de pesticides présents dans les produits agricoles à des doses potentiellement nocives. (Rebah, 2018).

2. Définition de la lutte biologique

Il existe nombreuses définitions de la lutte biologique qui ont été élaborées et proposées par diverses organisations internationales comme la FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations), l'OMS (Organisation mondiale de la santé) *etc.* Ces définitions diffèrent les unes des autres sur la base de plusieurs indicateurs notamment le domaine d'application et le pays concerné.

L'un des définitions les plus courantes selon Suty (2010) est :

« Utilisation d'organismes vivantes ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles aux productions végétales ». Cette définition est importante et complète car elle prit en compte non seulement l'utilisation des organismes mais aussi de leurs produits. En revanche, cette définition ne concerne que la protection des productions végétales.

3. Objectifs de la lutte biologique

La stratégie de lutte biologique repose sur l'hypothèse que les envahissantes se multiplient indéfiniment dans leur nouveau milieu lorsqu'elles ne rencontrent pas leurs prédateurs, parasites ou pathogènes naturels présents dans leur habitat d'origine, ce qu'on appelle la théorie du relâchement écologique (Suty, 2010).

La lutte biologique offre une alternative écologique à la lutte chimique, elle permet de réduire l'utilisation des produits chimiques potentiellement nocifs pour l'environnement et la santé humaine tels que les pesticides chimiques (De kouassi, 2001).

4. Méthodes Principales de lutte biologique

Les principales méthodes de la lutte biologique se regroupent généralement en quatre catégories distinctes selon Suty (2010) sont :

4.1. Méthode classique ou par acclimatation

Consiste à l'introduction délibérée d'un prédateur naturel ou d'un agent biologique spécifique dans un écosystème pour contrôler une espèce nuisible.

4.2. Méthode néoclassique

En revanche de la méthode classique, la méthode néoclassique vise à utiliser des agents indigènes ou déjà présents dans l'environnement plutôt que d'introduire de nouveaux organismes. Elle se concentre sur l'amélioration et la conservation des équilibres écologiques naturels, réduisant ainsi les risques liés à l'introduction d'espèces étrangères.

4.3. Méthode par inoculation ou inondation

Consiste à augmenter la population d'organismes indigènes par lâcher, soit pour qu'ils se multiplient rapidement et prennent le relais des nuisibles ciblés (inoculation), soit pour qu'ils contrôlent directement ces nuisibles en nombre suffisant (inondation). Ce type n'est pas forcément durable mais vise à protéger la culture pendant une certaine période (comme la période de végétation ou période de fructification).

4.4. Méthode par conservation

L'ensemble des méthodes qui permettent d'augmenter le nombre d'organismes locaux en modifiant l'environnement ou les pratiques agricoles, comme l'installation de clôtures ou de stations relais contenant des agents de lutte biologique.

5. Lutte microbiologique

La lutte microbiologique est une sous-catégorie de la lutte biologique. La lutte biologique englobe l'utilisation d'organismes vivants tels que des prédateurs, des

parasitoïdes..., tandis que la lutte microbiologique se concentre spécifiquement sur l'utilisation d'agents microscopiques, tels que des bactéries, des champignons ou des virus. Cette méthode apparaît comme très fructueuse grâce à la grande diversité des microorganismes présents dans tous les écosystèmes (Lefort, 2017).

Parmi les précurseurs de la lutte microbiologique, il faut mentionner Sanford G.B. en 1926-1937 et Weindling R. en 1932-1934 ; Weindling et Emerson en 1936, qui ont exploré l'utilisation de champignons pour contrôler d'autres champignons. Ils ont notamment étudié l'efficacité de *Trichoderma lignorum* et de filtrats de culture de ce champignon pour lutter contre des champignons phytopathogènes tels que *Rhizoctonia solani* causant la pourriture molle des parties aériennes et *Actinomyces scabies* provoquant la galle commune (Suty, 2010).

6. Utilisation de genre *Trichoderma* comme agent de lutte biologique

6.1. Taxonomie

Trichoderma représente un genre des champignons filamenteux, il est établi pour la première fois par Christiaan Hendrick Persoon en 1794 (Manoharachary *et al.*, 2021).

La taxonomie de *Trichoderma* a connu plusieurs évolutions au fil de temps, cela est dû au développement des méthodes de classifications. Ces champignons sont classés dans la classe des *Hypophycètes*, anamorphiques de la famille des *Hypocreaceae*, appartenant à la division des Ascomycètes (Esposito et Silva, 1998). La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente selon Rifai en 1969 sur le tableau (2).

Tableau 2. Classification de genre *Trichoderma sp.*

RANG	CLASSIFICATION
REGNE	<i>Fungi</i>
PHYLUM	<i>Ascomycota</i>
CLASSE	<i>Sordariomycetes</i>
ORDRE	<i>Hypocreales</i>
FAMILLE	<i>Hypocreaceae</i>
GENRE	<i>Trichoderma</i>

6.2. Description

Le genre *Trichoderma* regroupe de nombreuses espèces généralement saprophytes ou endophytes, largement répandus dans la nature grâce à leur grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, il se retrouvant couramment dans les sols forestiers ou agricoles à toutes les latitudes, sur le bois mort et les débris végétaux, ils sont facilement cultivés en laboratoire (Ben Amira, 2018).

Les colonies de *Trichoderma* se développent généralement avec un rythme rapide, une surface lisse de couleur translucide, devenant ensuite floconneuse, présentant diverses nuances de verdâtre ou de blanc pur, la pigmentation remarquée dans le milieu et l'arrière de la colonie ne montre aucun changement, ces caractéristiques varient en fonction de l'espèce. Le mycélium de ce champignon est généralement hyalin, septé, abondamment ramifié et à paroi lisse (Christian *et al.*, 2002)

La plupart des espèces de ce genre produisent des chlamydo-spores qui peuvent être intercalaires ou par fois terminales sur les branches latérales courtes du mycélium. Les sporophores de toutes les espèces de *Trichoderma* sont abondamment ramifiés ressemblant à un group compact ou lâche et souvent en forme de planche cible. Les conidiophores produisent des conidies principalement sur les hyphes dressés dans l'air, avec des ramifications si abondantes que des branches secondaires et tertiaires peuvent se former. Les conidiophores ont généralement une forme de fiole à neuf quilles, parfois en forme de poire ou ovoïdes et terminent par des structures de type phialide. Les conidies sont généralement inférieures à 15 micromètres de diamètre, lisses ou rugueuses, incolores à vertes avec une teinte jaune à verte (Manoharachary *et al.*, 2021).

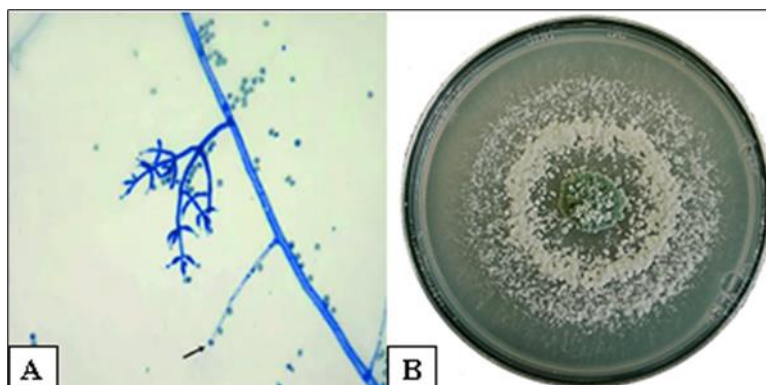


Figure 11. Morphologie des *Trichoderma*. (A) Aspect microscopique de *Trichoderma* sp. (Kammalue *et al.*, 2010). (B) Aspect macroscopique de *Trichoderma* sp. (Biocontrol Technologies, 2022).

6.3. Pouvoir antagoniste de *Trichoderma sp.*

Les propriétés antagonistes de *Trichoderma* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887, cependant, l'étude approfondie de phénomène d'antagonisme et de son utilisation pour lutter contre les parasites des plantes cultivées n'ont débuté qu'entre les deux guerres mondiales (Caron, 2002).

La souche de *Trichoderma* présente un avantage incontestable dans la protection des plantes contre un large gamme de champignons phytopathogènes de sols « *Sclerotium*, *Rhizoctonia*., *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora* », phytopathogènes foliaires « *Phyllactinia*, *Colletotrichum*, *Cladosporium* » et les phytopathogènes post-récolte « *Penicillium*, *Aspergillus*., *Rhizopus*, *Botrytis* » (Lambert, 2002).

6.4. Mode d'action de *Trichoderma sp.*

Les *Trichoderma* disposent d'une gamme variée de mécanismes d'attaque qui peuvent être employés de manière simultanée contre les agents pathogènes, mais leur fonctionnement demeure complexe et dépendant de plusieurs facteurs environnementaux. En effet, le déploiement de ces modes d'action peut varier selon les conditions physico-chimiques du milieu telles que la température et l'humidité, ainsi que les spécificités des partenaires impliqués (Caron, 2002). Il a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différentes modes d'action, il peut utiliser :

- **Antibiose**

Consiste à la production des substances bioactives, telles que des antibiotiques, des enzymes protéolytiques et des métabolites secondaires. Ces substances ont la capacité d'inhiber la croissance et la reproduction des phytopathogènes (Parray *et al.*, 2023).

- **La compétition**

La compétition est soit pour les ressources nutritionnelles car les *Trichoderma* consomment les mêmes nutriments que les pathogènes, soit la compétition spatiale qui manifeste par la croissance rapide de se microorganisme, limitant l'espace disponible pour d'autre microorganismes (Caron, 2002).

- **Mycoparasitisme**

Le mycoparasitisme est un processus complexe impliquant une attaque directe d'une espèce fongique (*Trichoderma*) sur une autre (phytopathogène). Les événements consécutifs

impliqués dans ce processus comprennent la reconnaissance, l'attaque, la pénétration et la destruction du champignon hôte. La reconnaissance de champignon ciblé par *Trichoderma* conduit à la formation d'enroulements et d'appressorium, la sécrétion d'enzymes hydrolytiques facilitant la pénétration des hyphes et à la mort cellulaire. Ce processus comprend également la sécrétion de métabolites antimicrobiens, puis la captation et la destruction de l'agent pathogène (Manoharachary *et al.*, 2021).

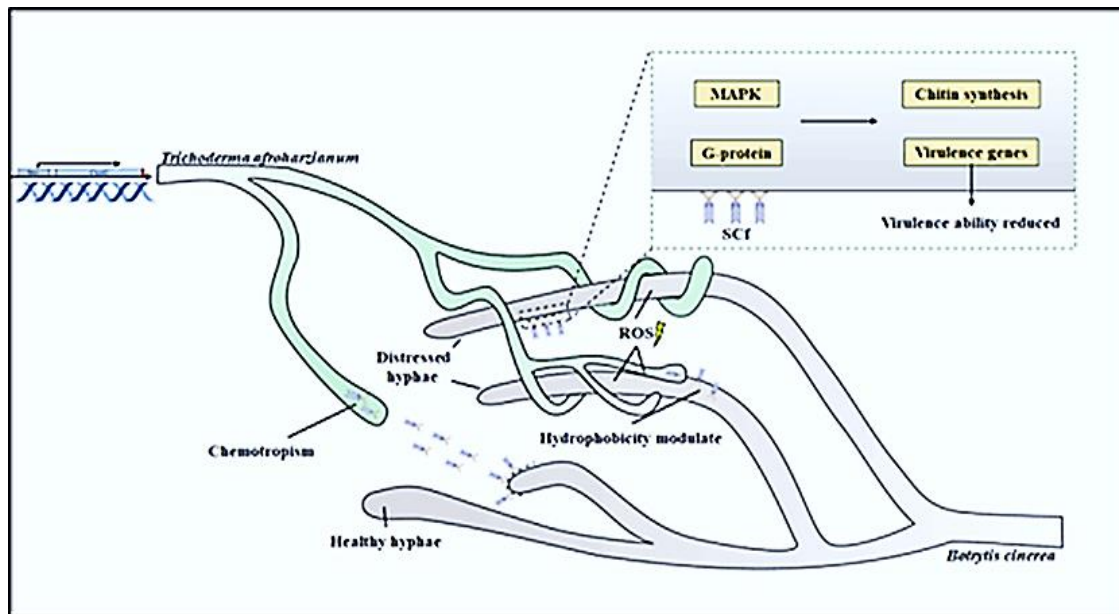


Figure 12. Modèle d'interaction mycoparasite de *T. afroharzianum* OE : SCf avec *Botrytis cinerea*. L'interaction implique : la détection du chimiotropisme, l'enroulement des hyphes, la modulation de l'hydrophobicité, l'adhésion à la paroi cellulaire, la réduction de la virulence et la destruction de l'agent pathogène par les ROS (Liu *et al.*, 2023).

MATERIELS ET METHODES

Dans le but de mieux identifier la flore fongique présente au niveau des semences des légumineuses dans la région Est de l'Algérie, plusieurs méthodes sont utilisées et décrites dans ce qui suit. L'expérimentation est réalisée au niveau du laboratoire de recherche de l'INRAA-Unité de Recherche Constantine.

1. Échantillonnage

Le prélèvement de l'échantillon est une étape très importante dans la recherche des microorganismes ainsi que la moyenne de prélèvement et le choix de lieu d'échantillon.

Afin d'isoler et d'identifier les champignons, présents dans les semences de plusieurs variétés d'espèces de légumineuses alimentaires ou fourragères, les échantillons sont choisis en fonction des lieux de récoltes et des variétés, comme indiqué dans le tableau 3 ci-dessous. Une quantité de 200g est prise dans des sacs en papier propres puis transférer au laboratoire pour analyse.

Tableau 3. Sources de prélèvement des semences des Légumineuses.

Nom et type de l'échantillon	Code de l'échantillon	Source de l'échantillon	Région	Année de récolte
Lentille				
Syrie 229	E01	CCLS	El Khroub	2023
Syrie 229	E02	AXIUM spa.	Ain smara	2023
Kenzy	E03	Agriculteur (DEBAH)	Didouche Mourad	2023
Pois chiche				
AKNAZ	E04	Agriculteur (DEBAH)	Didouche Mourad	2023
Flip	E05	Agriculteur (DEBAH)	Didouche Mourad	2023
Flip	E06	CCLS	El Khroub	2022
Flip	E07	ITGC Sétif	Sétif	2023
Azkan	E08	AXIUM	Ain smara	/
Petit pois				
Arombia	E09	Commerce	Jijel	2023
Aviron	E10	AXIUM	Ain smara	2023
Séfro	E11	Commerce	Bni Mestina	2023
Fève				
/	E12	Commerce	El Khroub	2023
/	E13	Agriculteur (DEBAH)	Didouche Mourad	2023

2. Isolement

Les isollements sont réalisés sur à partir des semences des échantillons de légumineuses selon le protocole de Champion (1997).

2.1. Préparation du milieu de culture

L'isolement des champignons nécessite en premier lieu la sélection d'un milieu de culture adéquate c'est le milieu *Potato Dextrose Agar* (PDA) dont les composants sont favorables au développement de la majorité des champignons filamenteux et permet une bonne caractérisation morphologique. La préparation de PDA pour 1000ml nécessite : 20g de glucose, 20g d'agar et 200g de pomme de terre bouillie et filtrer (Fig. 18).

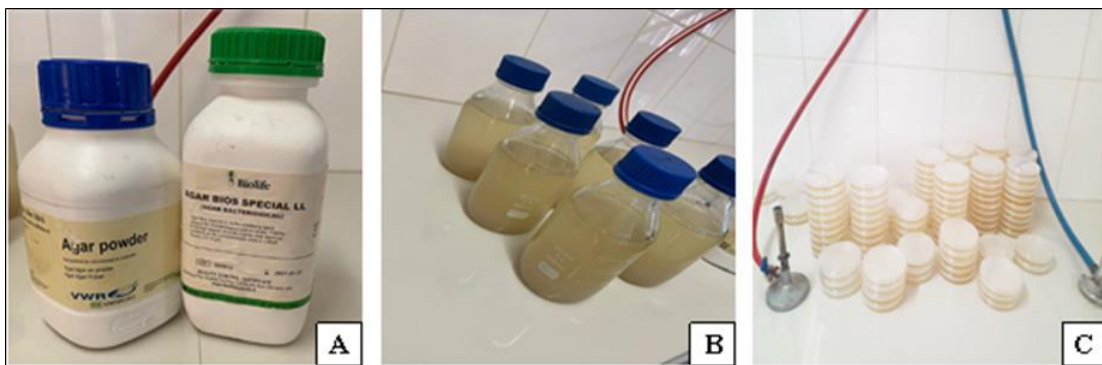


Figure 13. Préparation du milieu de culture PDA. (A) composants du PDA ; (B) milieu prêt à être autoclavé ; (C) Le milieu est coulé dans des boîtes de Pétri 90 cm.

2.2. Stérilisation des semences

La stérilisation est réalisée but d'éliminer les flores de surface dus à la manipulation des semences et le transport. Les semences sont déposées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2% pendant deux minutes, suivie de deux rinçages successifs par l'eau distillée stérile pendant deux minutes chacune. Les graines sont finalement séchées sur le papier absorbant (Fig.19).

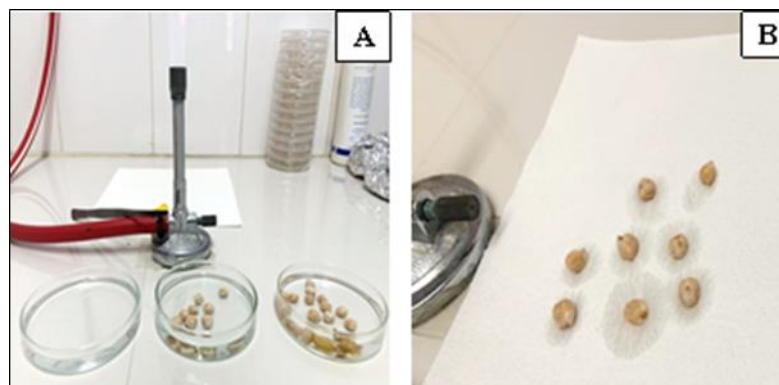


Figure 14. Méthode de stérilisation des semences. (A) Trempage dans de l'eau de javel et rinçage ; (B) Séchage des semences de pois chiche avant l'isolement.

2.3. Mise en boîte et incubation

Les graines sont déposées dans des boîtes de pétri contenant du PDA dans des conditions d'asepsie à raison de cinq graines par boîte et trois répétitions pour chaque échantillon (Fig.20). Les boîtes sont incubées dans l'étuve à une température de 25°C pendant six à sept jours avec des observations quotidiennes de la formation des colonies.

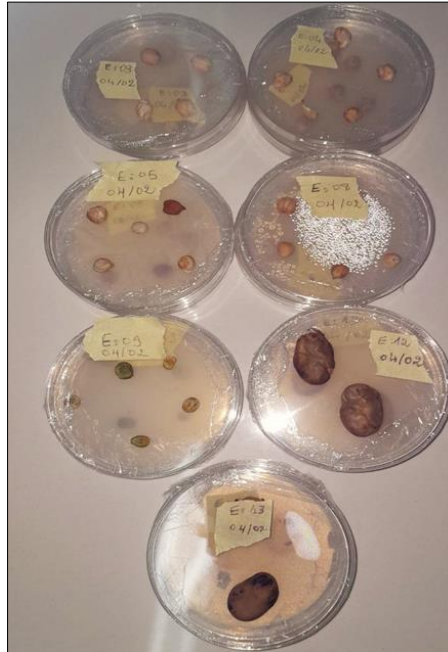


Figure 15. Les semences des légumineuses déposées et étiqueter dans les boîtes de Pétri.

3. Dénombrement

Cette étape comprend un comptage visuel du nombre des différentes colonies fongiques obtenues sur le milieu de culture après sept jours d'incubation. Les caractéristiques de chaque colonie (couleur et aspect) sont différenciées des autres pour chaque échantillon.

4. Purification

A l'aide d'une pipette Pasteur un fragment d'hyphe est prélevé de chaque colonie fongique puis repiqué au centre d'une boîte de Pétri contenant du PDA. La durée d'incubation est de cinq jours à 25°C. Cette opération est répétée jusqu'à obtention d'une culture pure.

5. Caractérisation des champignons isolés

5.1. Caractérisation macroscopique

C'est l'examen visuel à l'œil nu cela permet d'identifier les caractéristiques visibles tels que la couleur (vert, blanc, noir...), la texture (lisse, rugueux, filamenteux...), la taille et la forme (grande, moyenne, petite) concernant le mycélium et les colonies.

5.2. Identification microscopique des genres fongiques

L'observation microscopique permet de déterminer les caractéristiques spécifiques des isolats purifiés tels que les hyphes et les spores. La bonne préparation des lames est une étape clé pour effectuer cette opération, pour cela la technique de ruban adhésif est choisie. Placer un morceau de ruban sur la surface de la colonie puis retirer rapidement et le déposer sur une lame propre qui contienne une goutte de bleu de méthylène. L'observation se fait de plus faible grossissement $G : \times 10$ à $G : \times 100$ si c'est nécessaire.

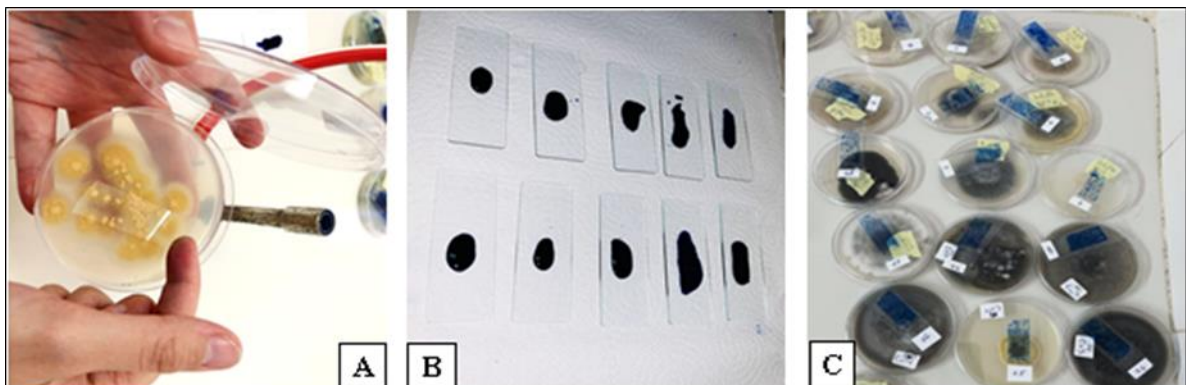


Figure 16. Préparation des lames pour l'observation microscopique. (A) Technique de ruban adhésif ; (B) Lames de verre contenant une goutte de bleu de méthylène ; (C) Lames prêtes à l'observation microscopique.

6. Évaluation de l'activité antagoniste du *T. afroharzianum*

6.1. Méthode de confrontation directe *in vitro*

Afin d'évaluer le potentiel antagoniste de *T. afroharzianum* appartenant à la collection de l'INRAA-URC, la technique de confrontation directe en double culture, également connue sous le nom de technique de cultures opposées, est utilisée afin d'évaluer le potentiel antagoniste de cinq *Fusarium sp.* isolés de chaque espèce et d'un *Alternaria sp.* isolé à partir de l'échantillon de pois chiche.

Dans cette méthode, un explant (6mm) de *T. afroharzianum* est aseptiquement inoculé sur un côté de la surface de la boîte de Pétri de 90mm, tandis que l'agent

pathogène ciblé est inoculé sur le côté opposé de la surface de la même boîte de Pétri déposés sur un même axe (Fig.22), en utilisant un milieu de culture PDA (Benhamou *et al.*, 1996).

Les boîtes de Pétri sont ensuite soigneusement refermées et incubées à une température de 25°C et dans des conditions optimales de croissance pendant sept jours.

Les boîtes témoins sont inoculées uniquement avec *Fusarium sp.* et *Alternaria sp.* dans le centre de la surface de la boîte Pétri.

6.2. Mesure de zone d'inhibition

L'évaluation des boîtes contenant la confrontation de *T. afroharzianum* contre *Fusarium sp.* et *Alternaria sp.* est réalisée après huit jours d'incubation.

La croissance du mycélium est apparue à travers la formation de la zone d'inhibition, la mesure de diamètre des colonies fongiques est réalisée à l'aide d'une règle graduée pour déterminer le taux d'inhibition de croissance mycélienne selon la formule de Hmouni *et al* en 1996.

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

- I% représente le taux d'inhibition.
- Cn représente le diamètre moyen des colonies du pathogène en présence de l'antagoniste.
- Co représente le diamètre moyen des colonies du témoin.

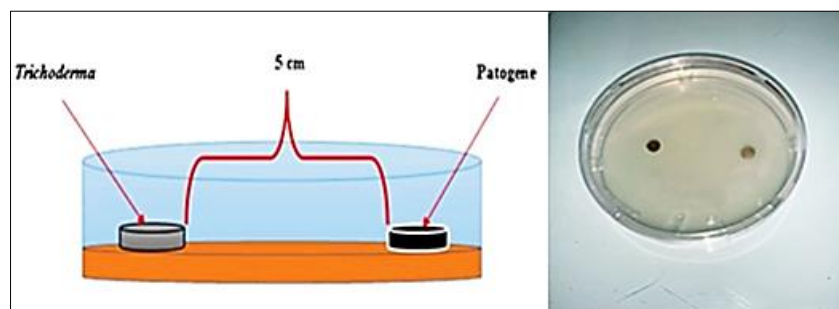


Figure 17. Méthode de confrontation directe *in vitro* (schémas et photo).

7. Traitement et analyse des données

Dans le but de mettre en valeur les résultats obtenus dans cette étude différents sortes de représentations statistiques sont utilisées. Les résultats sont traités à base de moyennes, des pourcentages et sont représentés des secteurs et des histogrammes.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les essais réalisés au cours de cette étude révèlent la présence d'une intéressante diversité des genres fongiques isolés à partir des semences des légumineuses alimentaires.

1. Isolement

Les champignons filamenteux présents sur et dont les semences déposées sur le milieu de culture forment des colonies visibles après la période d'incubation et sont facilement différenciés et dénombrés.

Une grande diversité morphologique est visible pour les 13 échantillons (couleur, texture et aspect des colonies). Le nombre total est de 72 colonies appartenant à différents genres (Fig.23).

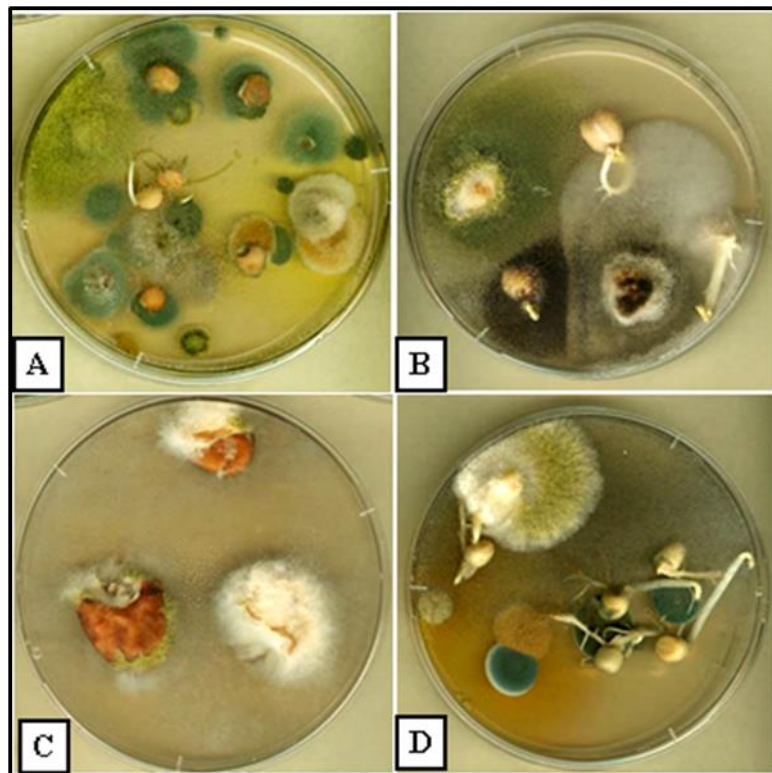


Figure 18. Exemple d'aspect des colonies obtenus dans chaque espèce après l'isolement sur le milieu PDA (A) Lentille ; (B) Le pois chiche ; (C) La Fève ; (D) Le pois fourragé.

1.1. Nombre de colonies identifiés par espèce des légumineuses

En fonction des différentes espèces de légumineuses étudiés, le nombre de colonies obtenue se répartit comme suit (Fig.24) : le pois chiche contient le plus grand nombre de colonies (29 colonies), suivi le petit pois (22 colonies), la lentille contient (11 colonies). La fève révèle le plus faible nombre de colonie (neuf colonies).

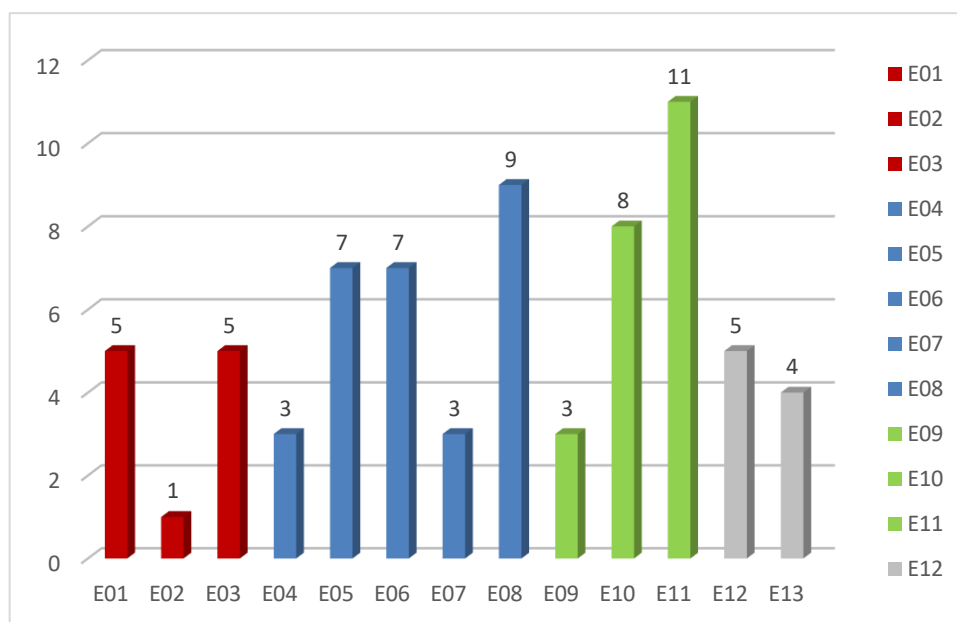


Figure 19. Nombre de colonie au niveau des échantillons.

1.2. Genres fongiques identifiés

L'identification macroscopique et microscopique révèle une grande biodiversité de genre fongique. Le nombre de genre fongique identifié est de sept genres identifiés sur l'ensemble des échantillons soit « *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium* et *Stemphylium* ».

L'analyse mycologique sur les quatre espèces de légumineuses (lentille, pois chiche, petit pois et fève), a révélé une différence notable de la diversité des genres fongiques identifiés (Fig.25). Le pois chiche contient le plus grand nombre du genre en comparaison avec les autres espèces avec sept genres : *Stemphylium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Mucor*, suivi des échantillons de petit pois avec quatre genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Mucor*. Trois genres sont isolés à partir de la lentille : *Fusarium*, *Stemphylium* et *Alternaria*, de même pour la fève : *Rhizopus*, *Aspergillus* et *Fusarium*.

Le genre le plus dominant est l'*Aspergillus*, il est présent au niveau de tous les échantillons analysés avec 21 colonies soit 31%, suivi du genre *Aternaria* soit 21% (Fig.26).

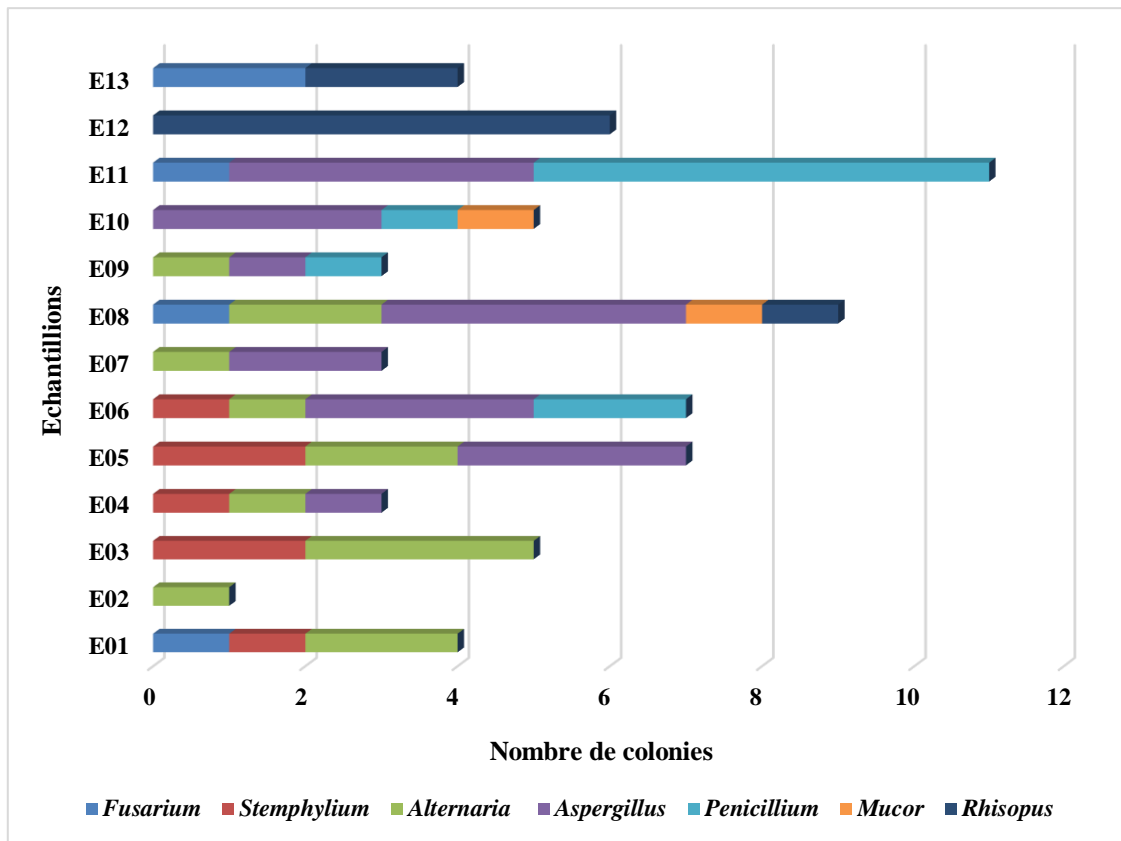


Figure 20. Nombre de colonie identifiés par genre et par échantillon.

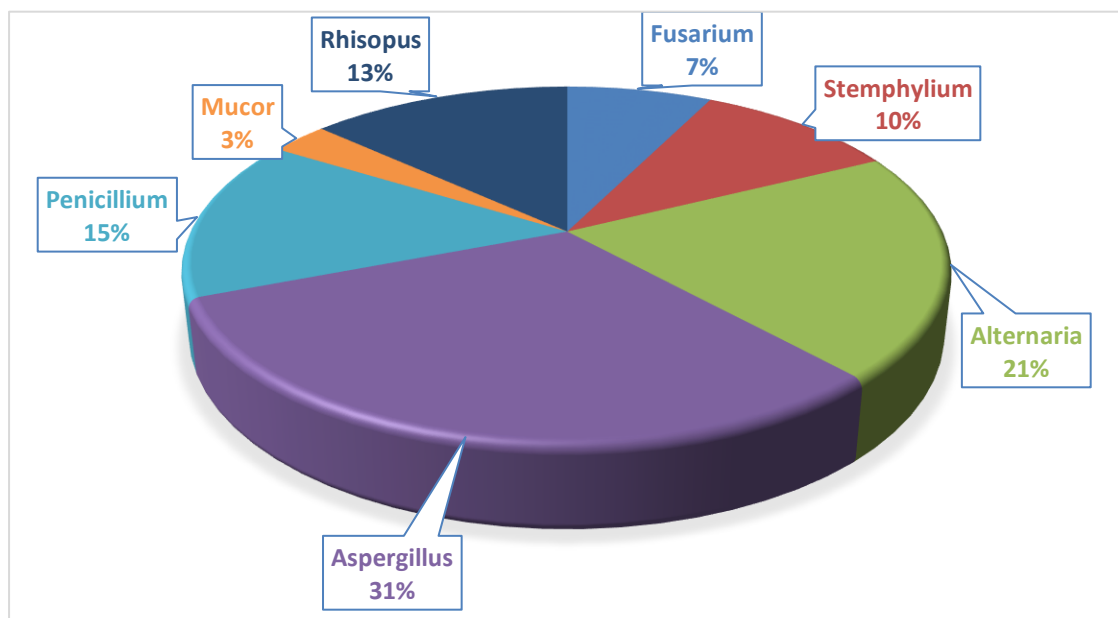


Figure 21. Pourcentages de la présence des genres sur l'ensemble des échantillons

2. Caractérisation morphologique des genres identifiés

La caractérisation morphologique permet une identification des genres connus de champignons filamenteux. Sept genres sont identifiés et décrits comme suit :

- *Penicillium*

Le genre *Penicillium* représenté par 15% de l'ensemble des genres purifiés. Il apparut en couleur verte dans trois espèces différentes : le pois chiche, le petit pois et la fève. La caractérisation morphologique est présentée dans le tableau 04 et la figure 22.

Tableau 4. Les caractéristiques morphologiques de *Penicillium*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
Recto : Des colonies rondes et duveteux ; poudreux prennent la couleur bleue vert.	- Une structure semblable aux selles de pinceau - Des filaments mycéliens sont : fins, septes et à bords parallèles portent des conidiospores. - Les conidiophores dressés et simples ou ramifiés avec des conidies disposées en long chaîne qui sont unicellulaires de forme globuleuses ou ovales.
Verso : texture lisse incolorée ou blanche.	- Les spores ont une couleur grisâtre ou verdâtre.

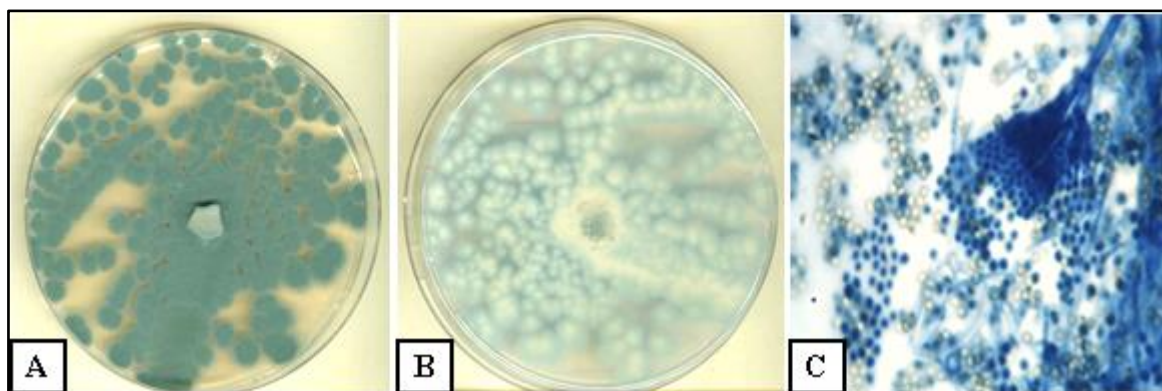


Figure 22. Exemple d'aspect de genre *Penicillium*. (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.

- *Alternaria*

Le genre *Alternaria* représente 21% de l'ensemble des genres purifiés. On trouve une grande variation microscopique et macroscopiques au niveau des pois chiches, le pois et la lentille (Tab.5 ; Fig.23).

Tableau 5. Les caractéristiques morphologiques de *Alternaria*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
Recto : colonie circuit laineux ; couleur sombre allant du blanc grisâtre au vert foncé.	<ul style="list-style-type: none"> - Les filaments mycéliens sont longs et visibles présentant des conidies brunes, pluricellulaires, de forme piriforme. - Ces conidies sont septées et possèdent des cloisons transversales et longitudinales, souvent disposées soit en solitaire soit en chaîne.
Verso : lisse et noir.	<ul style="list-style-type: none"> - Les conidiophores sont simples, lisses parfois ramifiés peuvent être courts ou allongés.

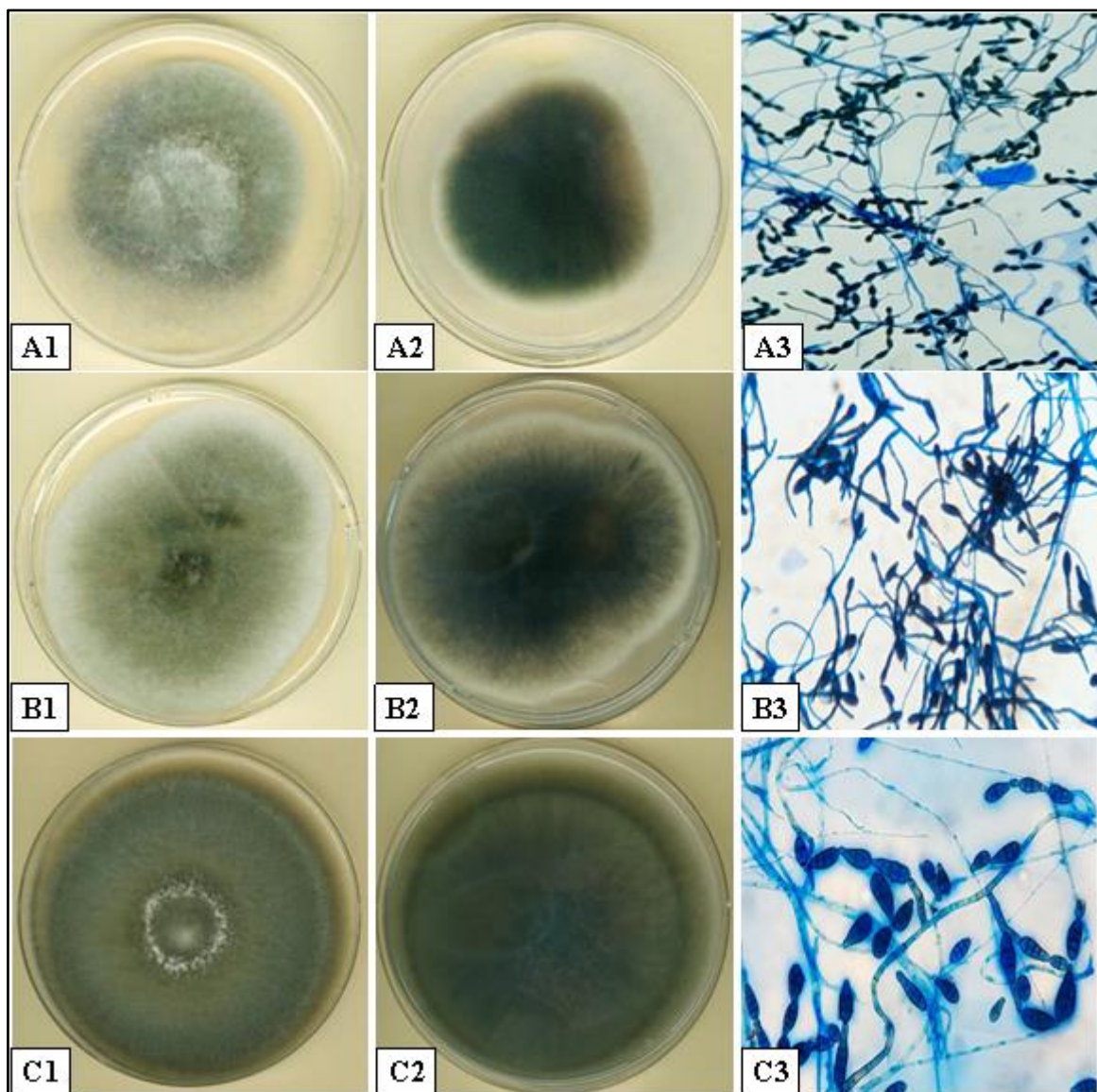


Figure 23. (A, B, C) Exemples de trois aspects variables de genre *Alternaria*. (1) Recto ; (2) Verso ; (3) Observation microscopique.

- *Stemphylium*

Ce champignon représente 10% des genre purifiés. Il apparut plus dans le pois chiche que dans la lentille. Toutes les caractéristiques macroscopiques et microscopiques sont citées dans (Tab.06 ; Fig.24).

Tableau 6. Les caractéristiques morphologiques de *Stemphylium*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
<p>Recto : colonies de texture veloutée à poudreuse, couleur Gris à vert olive.</p>	<p>- Les hyphes sont septées, hyalins et fins avec des ramifications complexes.</p> <p>- Les conidiophores possèdent des structures dressées ou ramifiées, portent des conidies à leur extrémité.</p> <p>- Les conidies sont de forme cylindrique à fusiforme, généralement lisses et multicellulaires, possèdent des parois épaisses.</p>
<p>Verso : lisse, couleur plus clair au recto.</p>	

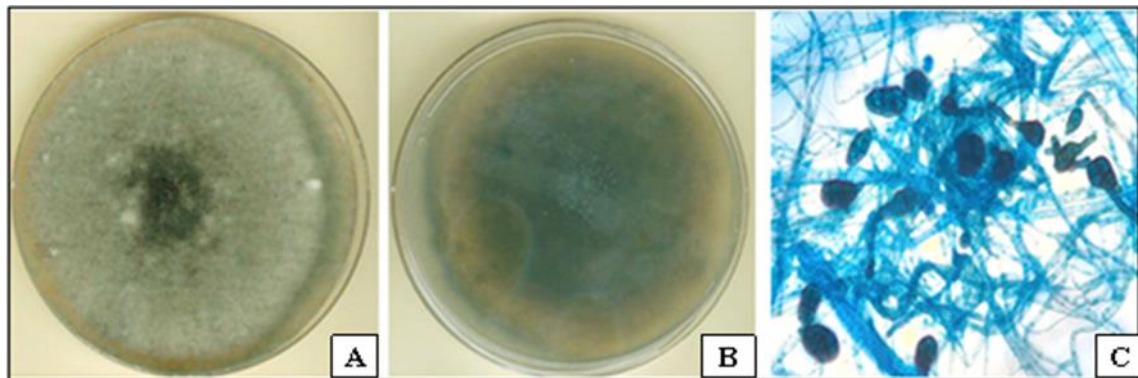


Figure 24. Exemple d'aspect de genre *Stemphylium*. (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.

- *Aspergillus*

Aspergillus est le genre majoritaire avec une fréquence de 31% des genre purifiés. Ce dernier est apparu en plusieurs couleurs (vert, jaune et noir) et au niveau de deux espèces le pois chiche et le petit pois. Les caractères morphologiques sont représentés dans le (Tab.07 ; Fig.25).

Tableau 7. Caractéristiques morphologiques d'*Aspergillus*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
<p>Recto : colonie circulaire et plate ; Texture poudreuse ou granuleuse avec des couleurs variées : noir, vert et jaune.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Le mycélium est ramifié et présente des septas. - Les conidiospores sont non cloisonnés. - Chaque conidiospores se termine par une vésicule gonflée « la tête ». - Les vésicules portes des phialides en forme de bouteille. - Les spores sont produites en longues chaînes au bout des phialides, sont toujours unicellulaires globuleuses ou elliptiques.
<p>Verso : couleur jaune ou blanc.</p>	

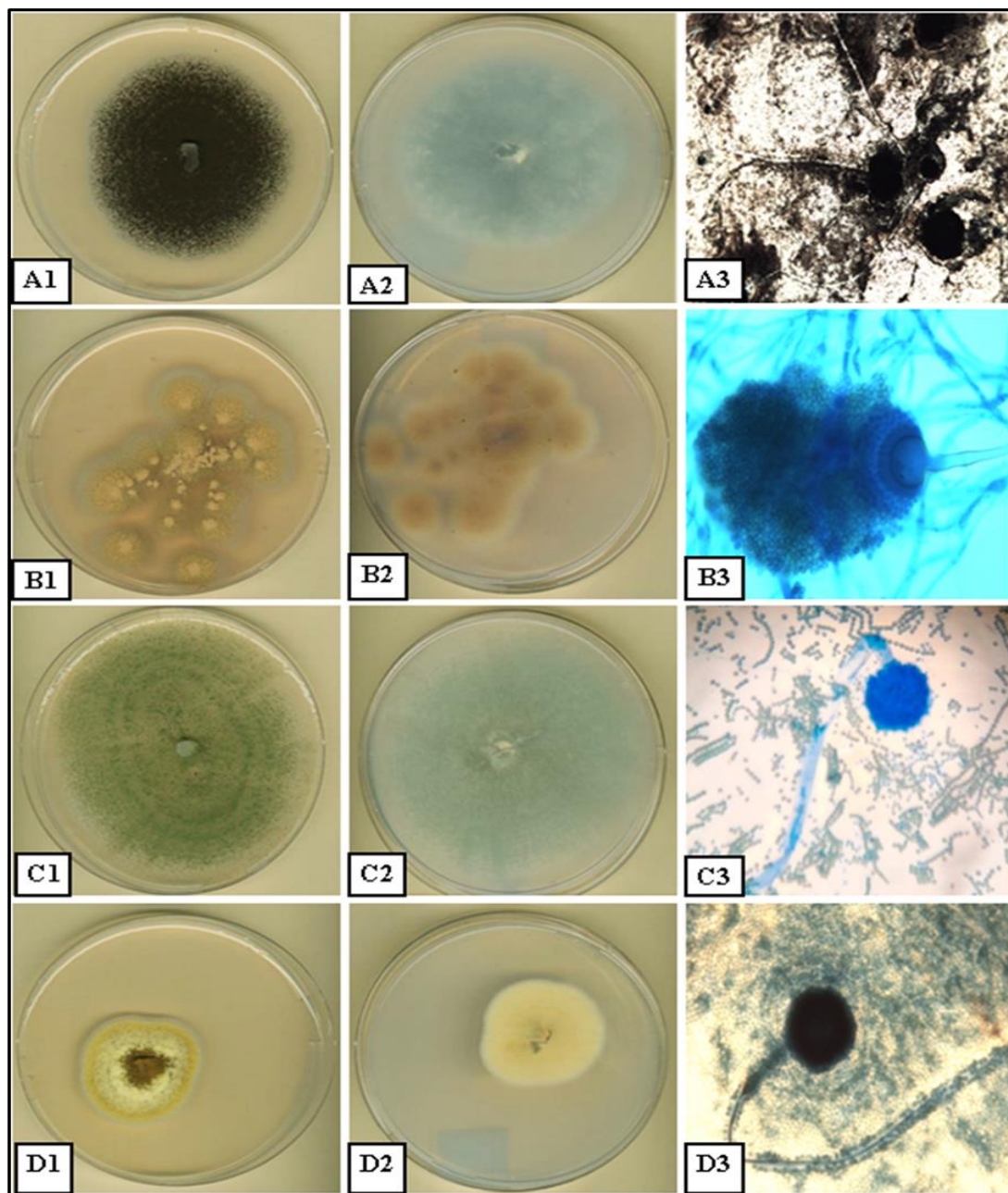


Figure 25. Exemples d'aspect de genre *Aspergillus*. (A) *Aspergillus* noir ; (C) *Aspergillus* vert ; (B, D) *Aspergillus* jaune ; (1) Recto ; (2) Verso ; (3) Observation microscopique.

- *Rhizopus*

Le genre *Rhizopus* représente 13% des genres purifiés. Il apparut dans la Fève plus que dans le Pois avec une croissance extensive et très rapide. Le (Tab.08 ; Fig.26) représente les caractères morphologiques de ce genre.

Tableau 8. Les caractéristiques morphologiques de *Rhizopus*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
Colonie grossière filamenteuse veloutée de croissance rapide ; couleur blanc à grisâtre.	<ul style="list-style-type: none"> - Structure rhizoïde, caractérisée par la présence des sporangiophores non ramifiée portant à leur extrémité des sporanges. - Les sporanges sont sphériques ou ovales, sombres portant des spores. -Les spores sous forme ronde ou ovoïdes de couleur pale à foncée.

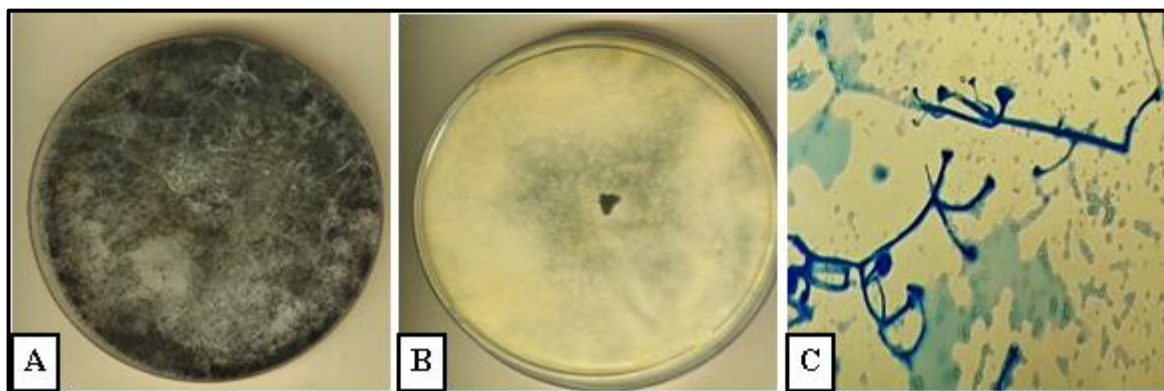


Figure 26. Exemple d'aspect de genre *Rhizopus*. (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.

- *Fusarium*

Le Fusarium est isolé à partir de toutes les espèces de légumineuses. Avec un pourcentage d'apparition de 7% sur l'ensemble des champignons isolés. Les caractères morphologiques de ce dernier sont présentés dans le (Tab.09 ; Fig.27).

Tableau 9. Les caractéristiques morphologiques de *Fusarium*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
Recto : des colonies cotonneuses, fins et rhizoïdes, de couleurs blanchâtres puis jaunes.	- La présence de thalle végétatif donnant des conidiophores courts et ramifiés portent des phialides. - Les conidies sont trois types : Les Macroconidies, les micro conidies et les Chlamydo-spores.
Verso : incolore, blanc ou jaune.	

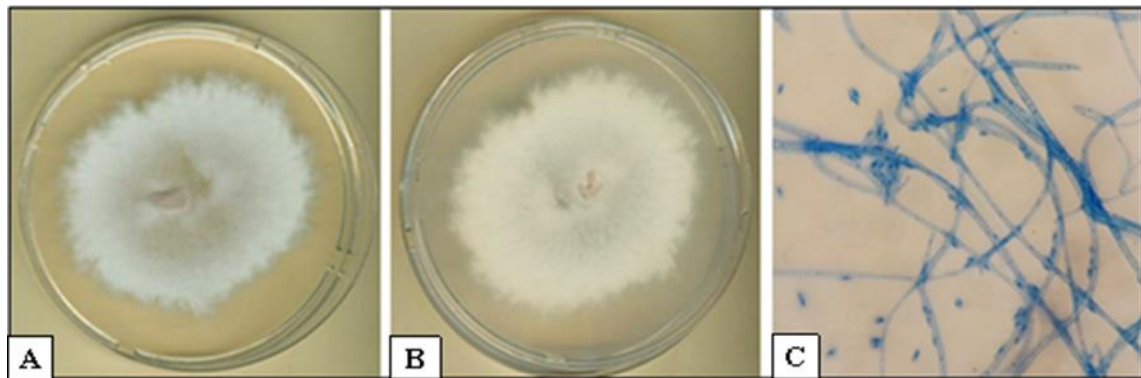


Figure 27. Exemple d'aspect de genre *Fusarium*. (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.

- *Mucor*

Ce champignon est le seul genre qui représente que 3% de tous les isolats purifiés. Il est présent uniquement dans le pois. Les caractères morphologiques sont présentés dans le (Tab.10 ; Fig.28).

Tableau 10. Caractéristiques morphologiques de *Mucor*.

Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
Recto : Colonies plat ou légèrement élever possèdent une texture veloutée à cotonneuses de couleur blanc, beige à brune.	- Microscopiquement les hyphes sont transparents, larges et non septées. - Les sporanges sont globuleux portant des sporangiospores qui sont souvent sphériques, lisses ou rugueuses.
Verso : Apparaît lisse avec un couleur moins clair que le recto.	

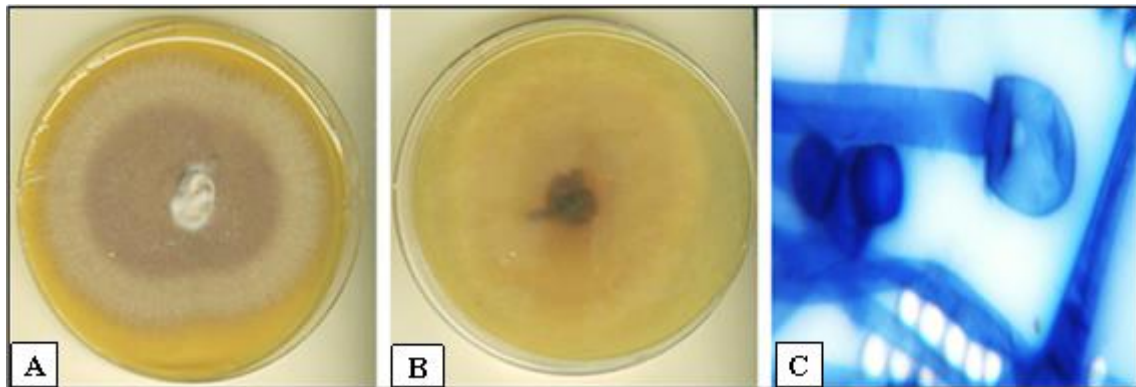


Figure 28. Exemple d'aspect de genre *Mucor*. (A) Recto ; (B) Verso ; (C) Observation microscopique.

3. Confrontation directe

Avant de déployer une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes en utilisant des produits biologiques, il est nécessaire de comprendre en profondeur le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène (Hibar *et al.*, 2005).

Dans ce contexte, nous avons évalué *in vitro* l'effet antagoniste *Trichoderma afroharzianum* vis-à-vis du cinq genres de *Fusarium* isolé de chaque espèce (la fève, le pois chiche, la lentille et le petit pois) et d'un *Alternaria* isolé à partir de l'échantillon de pois chiche.

Au-delà de cette période et au terme de sept jours, le diamètre de la zone d'inhibition autour de la colonie de *Trichoderma* a été mesuré, et la longueur du mycélium du pathogène a été déterminé dans les cultures témoins, puis comparée avec les cultures traitées par *Trichoderma*.

Les mesures obtenues sont utilisées pour calculer le taux d'inhibition en fonction de loi de confrontation, qu'est présenté dans (Fig.29).

Tableau 11. Origine des pathogènes utilisés dans la confrontation.

Échantillons	Code d'échantillon	Pourcentage d'inhibition (%)
E03	Fus L	85
E08	FusPC	78
E09	FusPP	64
E13A	FusF1	81
E13B	FusF2	63
E04	AltPC	55

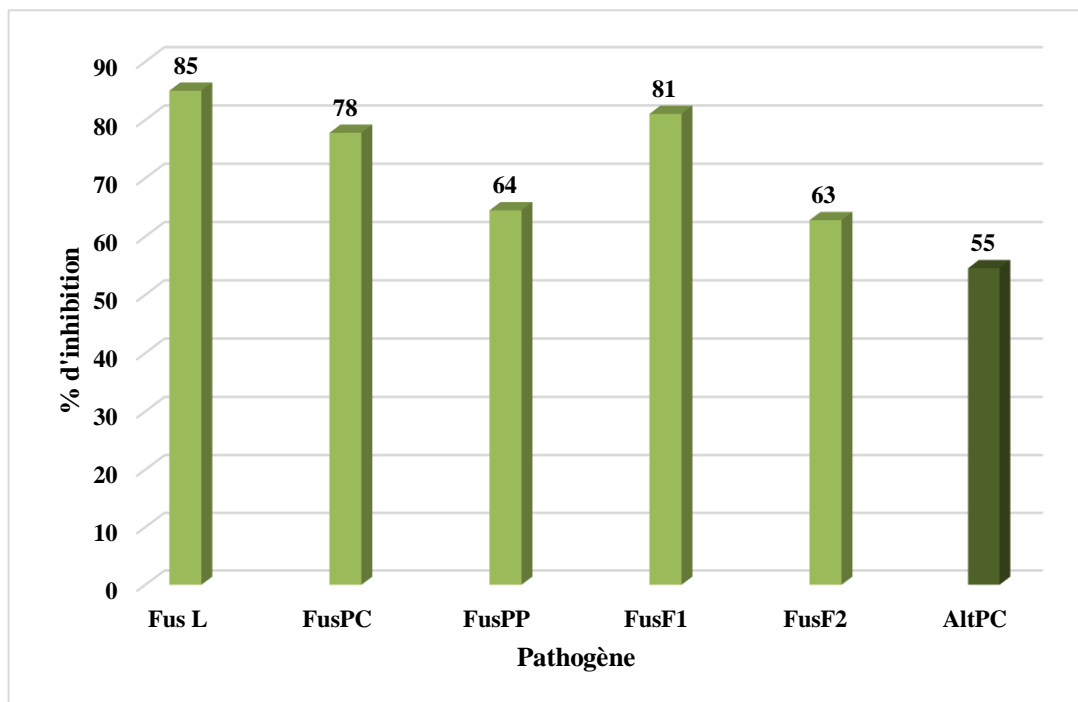


Figure 29. Taux d'inhibition en confrontation directe.

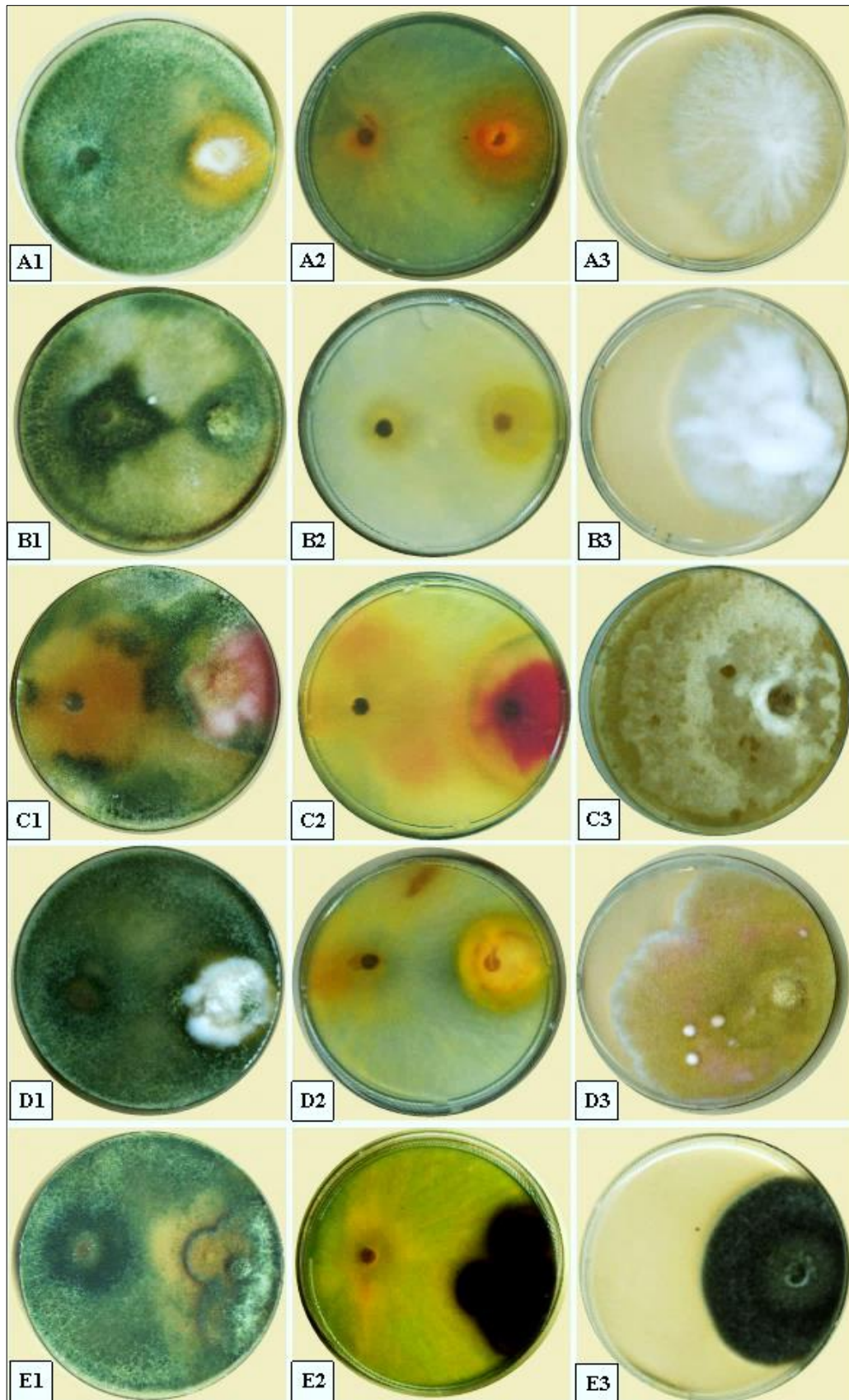


Figure 30. Exemple des résultats de confrontation directe obtenus avec la souche *Trichoderma afroharzianum* vis-à-vis du cinq genres de *Fusarium* isolé de chaque espèce : le pois chiche (A), la lentille (B), la fève (C et D) et d'un *Alternaria* isolé à partir de l'échantillon de pois chiche (E) ; (1) Recto ; (2) Verso ; (3) Témoin.

Les résultats obtenus à partir de l'observation microscopique sont présentés dans la (Fig.31) suivante.

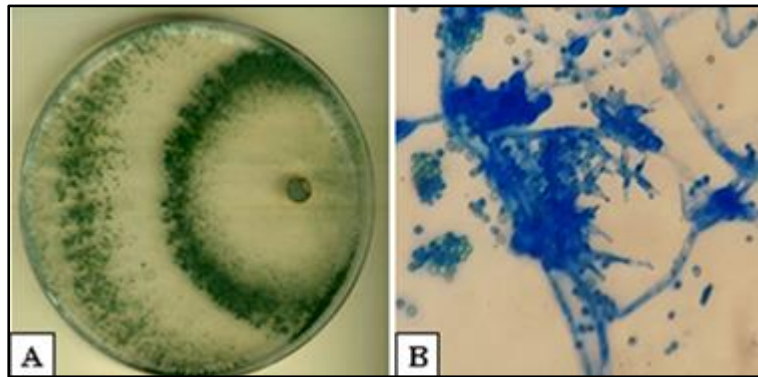


Figure 31. La souche de *T. afroharzianum*. (A) Aspect morphologique de la culture ; (B) Aspect microscopique.

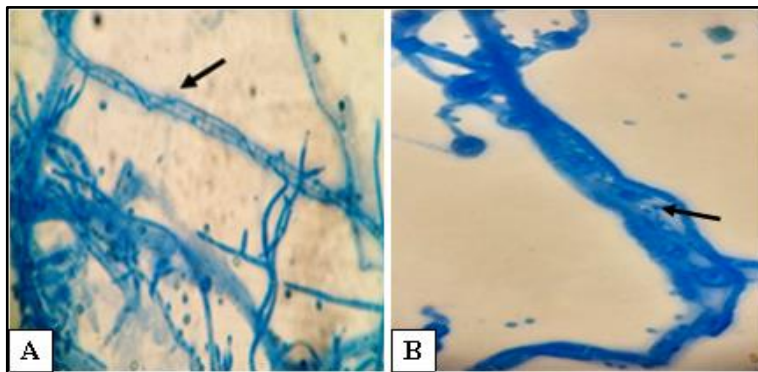


Figure 32. Observation microscopique du mycoparasitisme de *T. afroharzianum* sur *Fusarium* (A), sur *Alternaria* (B).

4. Discussion

Des microorganismes sont toujours présents sur la surface des grains, les champignons sont l'une des principales menaces qui touche les semences en raison de leur grande adaptabilité. Ces moisissures proviennent de différentes sources entre la parcelle cultivée et le silo : flore du champ, une flore intermédiaire (entrepôts, zones de manipulation) et une flore de stockage (Cruz *et al.*, 2016).

Afin de mieux comprendre la diversité des champignons présents dans les semences, des échantillons de semences de légumineuses sont collectées selon des normes scientifiques dans le but de préserver la flore originale existante sans perte ou contamination, pour effectuer une analyse mycologique et évaluer le potentiel de la présence des moisissures phytopathogènes.

L'analyse mycologique a révélé un certain nombre de colonies (72 colonies) de différences morphologiques notables. Après observation microscopique sept genres sont identifiés « *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus* et *Stemphylium* » avec une dominance des genres *Aspergillus* et *Alternaria*.

Les genres obtenus dans cette étude peuvent avoir plusieurs origines comme par exemple le *Fusarium*, L'*Alternaria* et le *Stemphylium* qui sont des champignons à pénitentiels phytopathogène et proviennent du champ. Tandis que l'*Aspergillus* et le *Penicillium* peuvent provenir à la fois du champ et du stockage.

Selon Lacroix (2002) les genres *Fusarium*, *Alternaria* et *Stemphylium* sont considérés comme des champignons phytopathogènes, ils causent des maladies chez les plantes, ce qui peut entraîner des pertes de rendement et de qualité. Ils peuvent infecter les racines, les tiges, les feuilles ou les graines. Par contre, les autres genres sont généralement associés à l'altération et les problèmes de qualité, mais ne sont pas considérés comme des phytopathogènes.

Cruz *et al.*, (2016) a montré que les principaux facteurs qui influencent la diversité des genres dans un échantillon sont les conditions environnementales appropriées telles que l'humidité et la température qui favorisent la croissance de ces champignons, ainsi que les pratiques de récolte, de stockage et de manipulation des grains.

Pour contrôler ces populations nuisibles, il est préférable de choisir la méthode la plus sûre et écologique afin d'éviter les produits chimiques, la lutte biologique est le choix

parfait, elle est considérée comme une méthode de contrôle des ravageurs agricoles et des maladies des plantes en utilisant des organismes vivants, notamment les microorganismes.

Dans cette étude, le pouvoir antagoniste de *T. afroharizianum* est testé contre deux genres de champignons phytopathogènes des légumineuses à savoir le *Fusarium* et l'*Alternaria*. Les résultats de ce test sont intéressantes vues que les taux d'inhibition atteignent les 85%.

Nos résultats concordent avec ceux de Bouanaka *et al* (2021) dans son étude de la lutte biologique en utilisant le *T. afroharizianum* contre le *Fusarium* du blé.

Grace à l'observation macroscopique, on remarque que notre *Trichoderma* présente une compétition spatiale avec les champignons phytopathogènes testés, il a occupé la majorité de l'espace disponible dans la boîte de pétri. Selon Schuster et Schmoll (2010), les mécanismes responsables de l'activité antagoniste de *Trichoderma* contre les champignons pathogènes, tels que la compétition, l'antibiose et le mycoparasitisme.

L'observation microscopique des zones de confrontation révèle l'existence d'un mycoparasitisme exercé par le *Trichoderma* sur les champignons pathogènes. Selon Gonzalez *et al.*, (2024) la reconnaissance initiale entre *Trichoderma* et le phytopathogène implique des interactions de lectine-glucide entre les glucides de la paroi de *Trichoderma* et les lectines qui se retrouvent chez le phytopathogène, suivies par l'adhésion et l'enroulement de *Trichoderma* autour de l'hôte grâce à ses hyphes et appressoria. Ensuite, *Trichoderma* produit des enzymes lytiques telles que la chitine, la cellulase, la glucanase et les protéases, qui dégradent la paroi cellulaire du phytopathogène, facilitant ainsi la pénétration des structures spécialisées de *Trichoderma* pour absorber les nutriments à l'intérieur de la cellule hôte. Ce processus aboutit à la perte de cytoplasme de la cellule phytopathogène, entourant les hyphes envahisseurs de *Trichoderma*, et entraîne des symptômes de désintégration, rétraction et désorganisation du cytoplasme et de la membrane plasmique.

Dans certaines boîtes, des pigments rouges sont apparues dans la gélose indiquant la libération de particules. Le *Trichoderma* est capable d'arrêter la croissance du pathogène sans contact physique, formant ainsi une zone d'inhibition sans croissance entre le pathogène et *Trichoderma*. Cela peut être attribué à l'excrétion de métabolites secondaires tels que la viridine et ses dérivés, qui ont une activité antimicrobienne (Vinalea *et al.*, 2008).

CONCLUSION

Notre étude consiste à isoler et identifier les champignons présents au niveau de 13 échantillons de semences des principales espèces de légumineuses cultivées dans la région Est de l'Algérie à savoir le pois chiche, le petit pois, la lentille et la fève. Aussi, réaliser des tests de biocontrôle *in vitro* sur les champignons phytopathogènes isolés qui présentent un risque notable pour les futures campagnes suite à leur pouvoir de transmission dans les semences. L'antagoniste utilisé est le *T. afroharizianum* qui est connu pour son effet inhibiteur des champignons pathogènes.

L'identification macroscopique et microscopique révèle une grande biodiversité de genre fongique. Le nombre de genre fongique identifiés est de sept genres identifiés sur l'ensemble des échantillons soit « *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium* et *Stemphylium* ».

Le genre le plus dominant est l'*Aspergillus*, il est présent au niveau de tous les échantillons analysés avec 21 colonies soit 31%, suivi du genre *Alternaria* soit 21%.

Le pois chiche contient le plus grand nombre du genre en comparaison avec les autres espèces avec sept genres : *Stemphylium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Mucor*, suivi des échantillons de petit pois avec quatre genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* et *Mucor*. Trois genres sont isolés à partir de la lentille : *Fusarium*, *Stemphylium* et *Alternaria*, de même pour la fève : *Rhizopus*, *Aspergillus* et *Fusarium*.

La présence de champignons phytopathogènes peut présenter un risque pour la prochaine culture en particulier chez les semences présentant du *Fusarium* et *Alternaria* qui peuvent induire des fentes de semis ou perturber développement des plantes.

Dans cette étude, le pouvoir antagoniste de *T. afroharizianum* est testé contre deux genres de champignons phytopathogènes des légumineuses à savoir le *Fusarium* et l'*Alternaria*. Les résultats de ce test sont intéressantes vues que les taux d'inhibition atteignent les 85%. Ces résultats indiquent la possibilité d'utiliser cette espèce comme une alternative de lutte contre les champignons testés.

Suite aux résultats obtenus dans cette étude ayant démontré l'existence de champignons pathogènes diversifiés. Il est nécessaire de mettre en place une stratégie de lutte intégrée pour assurer son efficacité. Cette stratégie doit comporter les différents aspects de lutte culturale, chimique et biologique.

Une connaissance approfondie des espèces de pathogènes (identification moléculaire, pathogénicité et résistance aux molécules fongicides chimiques) sont nécessaires pour mettre en place la stratégie de lutte adéquate.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Académie D'Aix-Marseille. Microscopie Optique : Du Microscope de Paillasse Jusqu'au Confocal [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fwww.pedagogie.ac>
2. Achetbi H., Lahlali R. et Amiri S. (2021). Les Alternarioses (*Alternaria spp*) des agrumes : Diagnostic et méthode de lutte. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 9(2), p : 158-159
3. Alamy [en ligne]. (Page consultée le 20/02/2024). <https://www.alamy.com/>
4. Alchetron. *Alternaria alternata* [en ligne]. (Page consultée le 04/05/2024). <https://alchetron.com/Alternaria-alternata>
5. Wilborn A. Introduction à l'identification des moisissures [en ligne]. (Page consultée le 20/03/2024).
a. <https://search.app/cWu7dcpujBKyj9Q49>
6. Astes A. Peas [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/62CNeCMtMHwzuBf8>
7. Argouarch J. (2005). Les cultures légumières en agriculture biologique. Éditeur : CFPPA. 119 p. _ (Bibliothèque)
8. Ben Amira M. (2018). Etude de la relation mycoparasitaire *Trichoderma harzianum* avec *Fusarium solani* chez l'olivier., caractérisations moléculaires et fonctionnelles des aquaporines chez *Trichoderma harzianum*. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat : Physiologie et Génétique Moléculaire. Université Clermont Auvergne en cotutelle avec Université de Carthage Tunisie., 70 p.
9. Benhamou N. et Chet I. (1996). Parasitism of Sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and Cytochemical aspects of the interaction. *The American Phytopathological Society*, 86(4), p: 405
10. Bessadat N. (2014). Isolement, identification et caractérisation des *Alternaria sp*. Responsables de la détérioration des plantes maraichères par des systèmes enzymatiques et moléculaires. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat : science médicale. Université Ahmed Ben Bella Oran 1., 15 p.
11. Biocontrol Technologies. Concepts Générales de *Trichoderma spp*. [en ligne]. (Page consultée le 12/03/2024). <https://www.google.com/imgres?imgurl=https%3A%2F%2Fbiocontroltech.com>
12. Biowallonie. (2022). Les cultures du pois [en ligne]. (Page consultée le 21/02/2024). <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.biowallonie.com/w-p-content/uploads/2022>
13. Blancard D. Fabacées (haricots, pois...) [en ligne]. (Page consultée le 20/02/2024). <http://ephytia.inra.fr/fr/C/22895/Tropileg-Fabacees-haricots-pois>
14. Bouanaka H., Bellil I., Harrat W., Boussaha S., Benbelkacem A. et Khelifi D. (2021). Sur le biocontrôle par *Trichoderma afroharzianum* contre *Fusarium culmorum* responsable de la fusariose de l'épi et de la pourriture du collet du blé en Algérie. *Journal égyptien de lutte biologique contre les nuisibles*, 31(68), p : 13
15. Canard B. et Senequier-Crozet A. (2016). Les Champignons Endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. Thèse pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie : sciences pharmaceutiques. Université Grenoble Alpes, 104 p.
16. Caron J. Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* : conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi [en ligne]. (Page consultée le 28/03/2024). <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.agrireseau.net/petits-fruits/documents/trichoderma.pdf>
17. Cattlin N. Potato early blight *Alternaria alternata* lesions on potato leaf [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://search.app/jt36mxnsWoOfSx2Y8>
18. Cattlin N. Tache pourpre, *Alternaria porri*, lésion sur feuilles d'oignon, Thaïlande [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://search.app/PjVXrrVpFFbksuHa9>
19. Chamont S. Légumineuses fourragères [en ligne]. (Page consultée le 20/02/2024). <http://ephytia.inra.fr/fr/C/11234/Hypp-encyclopedie-en-protection-des-plantes-Legumineuses>
20. Champion R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Paris : Quæ. 398 p.
21. Clémentine des femmes. La lutte biologique [en ligne]. (Page consultée le 10/05/2024). https://www.gerbeaud.com/jardin/jardinage_naturel/lutte-biologique,1946.html
22. Corney G. Fèves fraîchement cueillies, variété Witkiem Manita, Vicia Faba également connues sous le nom de féveroles, fava, cloche, cheval, Windsor, pigeon et tic [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/hoj2HF6KZvDjFdne6>

23. Cruz J.F., Hounhouigan D.J. et Fleurat-Lessard F. (2016). La conservation des grains après récolte. France : Librairie Quæ. 231 p. – (Agricultures tropicales en proche)
24. De Kouassi M. (2001). La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides. *Open Editions journals*, 2(2), p : 4101
25. De Luscia M. et Assennato D. (1992). L'après-récolte des graines : organisation et techniques. Rome : FAO. 160 p.
26. EchoSciences Pays de la Loire. [Objectif végétal] le champignon *Trichoderma*, une solution de biocontrôle [en ligne]. (Page consultée le 10/05/2024). <https://www.echosciences-paysdelaloire.fr/articles/objectif-vegetal-le-champignon-trichoderma-une-solution-de-biocontrole>
27. Ertoy N. (2023). Morphological and molecular characterization of *Alternaria alternata* causing leaf spot in Faba Bean (*Vicia faba* L.) and determination of the disease reactions of some Faba Bean varieties grown in Turkey. *Journal of Crop Health*, 75, p : 637-645
28. Esposito E. et Silva R. N. (1998). *Trichoderma* in Brazilian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 29 (2), p: 135-140
29. Faostat [en ligne]. (Page consultée le 21/02/2024). <https://www.fao.org/faostat/en/#home>
30. Feed additive. Global Feed Mycotoxin Detoxifiers Market [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://www.feedandadditive.com/global-feed-mycotoxin-detoxifiers-market/>
31. Futurity. L'édition de Gènes Permet aux Champignons de Révéler des Secrets à de Nouveaux Médicaments [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://www.futurity.org/gene-editing-fungi-2854282-2/>
32. Gérard T. et Marouf A. (2022). Les petits cahiers de biologie végétale appliquée : Les plantes légumières feuilles et fruits. France : EDP Sciences. 131 p.
33. GmbH W. Brindille de pois chiches (*Cicer arietinum*) avec pots de graines et fleurs photo de studio [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/UsmCaBXTtWk2h8zo7>
34. Gonzalez B. V., Di Barbaro G. et Ribero G. (2024). *Trichoderma spp.*: characteristics and applications. *Journal of Applied Biotechnology and Bioengineering*, 11(1), 18-22 p
35. Groot D. I. (2004). Protection des céréales et des légumineuses stockées. Pays Bas : Fondation Agromisa. 74 p.
36. Gunaratna L.N.R., Deshappriya N., Jayaratne D.L. et Rajapaksha R.G.S.A.S. (2019). Damping-off disease of big onion (*Allium cepa* L) in SriLanka and evaluation of *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma virens* for its control. *The Journal of the Society for Tropical plant Research*, 6(2), p: 282
37. Hamadache A. (2014). Grandes cultures TOME II : Légumineuses alimentaires. Alger : INRAA .187 p.
38. Hamouni A., Hajlaoui M. et Mlaiki A. (1996). Resistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *Wiley online library*, 26 (3-4), p : 697-705
39. HansJürg. Infestation fusarienne : « C'est trop tard » [En ligne]. (20/03/2024). <https://www.bauernzeitungch.translate.google/artikel/landwirtschaft/fusarienbefall>
40. Hasith Priyashantha A. K., Dai D-Q., Bhat D. J., Stephenson S. L., Promputtha I., Kauchik P., Tibpromma S. et Karunarathana S. C. (2023). Plant–Fungi Interactions: Where it goes. *Biology*, 12(6), p: 809
41. Hassine M., Ben-Abdallah R., Jabnoun-Khiareddine H. et Daami-Remadi M. (2014). Pouvoir antifongique des *Penicillium sp.* et des *Gliocladium spp.* contre *Alternaria solani* *in vitro* et sur fruits de tomate. *Tunisian Journal of Medicinal Plants and Natural Products*, 12, p : 9-28
42. Heit S. (2015). Identification de *Fusarium* et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF. Thèse pour obtenir le diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie : sciences pharmaceutiques. Université de Lorraine., 129 p.
43. Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H. et El Mahjoub M. (2005). Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 9(3), p : 1780-4507
44. Hmouni A., Hajlaoui M. R. et Mlaiki A. (2008). Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *Bulletin OEPP*, 26(3-4), p : 697-705
45. INRAE. Virulence des champignons phytopathogènes : cas d'*Alternaria brassicicola* [en ligne]. (Page consultée le 11/03/2024). <https://search.app/x1bJdpVriBpb3cDd9>

46. Institut PASTEUR pour la Recherche, pour la Santé, pour Demain. *Aspergillus* et Aspergilloses / mycologie et maladies fongiques [En ligne]. (Page consultée le 20/03/2024). <https://phototheque.pasteur.fr/fr/asset/fullTextSearch/>
47. Institut technique des cultures maraîchères et industrielles. (2022). La culture de POIS [en ligne]. (Page consultée le 21/02/2024). <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://itcmi-dz.org>
48. Institut technique des cultures maraîchères et industrielles. (2022). La culture de Fève [en ligne]. (Page consultée le 22/02/2024). <https://itcmi-dz.org/wp-content/uploads/2022/06/FEVE.pdf>
49. Institut technique des grandes cultures en Algérie. (2018). La culture de Pois chiche en Algérie [en ligne]. (Page consultée le 22/02/2024). <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=http://www.itgc.dz>
50. Institute national de santé publique du Québec. (2024). *Aspergillus* [en ligne]. (Page consultée le 15/03/2024). <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/aspergillus-niger>
51. Institute national de santé publique du Québec. (2024). *Fusarium spp* [en ligne]. (Page consultée le 15/03/2024). <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/fusarium-spp>
52. Institute national de santé publique du Québec. (2024). *Penicillium spp.* [en ligne]. (Page consultée le 15/03/2024). <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/penicillium-spp>
53. Inventaire national du patrimoine naturel. *Trichoderma margaretense* jaklitsch, 2011 [en ligne]. (17/03/2024). https://inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/905177/tab/taxo
54. Javaloyes P. et O'Broin S. (2016). Légumineuses : des graines nutritives pour un avenir durable. Editeur : Organisation des Nations Unies pour L'alimentation et L'agriculture. 196 p.
55. Kara M. et Soylu E. M. (2023). Identification of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium spp.* on Onion plant (*Allium cepa* L.) Growing in Hatay, Amasya and Tokat provinces using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Turkish journal of agriculture- Food Science and Technologie*, 11(1), p: 2525-2529
56. Klejdysz T. Jaunes du Haricot – maladie des racines du haricot causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://search.app/PjVXrrVpFFbksuHa9>
57. Klejdysz T. Pourriture du pied (*Fusarium solani*) sur la base de la tige de la fève (*Vicia faba*) [en ligne]. (Page consultée le 18/03/2024). <https://search.app/nksyXK49datMJQz7>
58. Kovalenko T. lentil plant or *lens culinaris* or *lens esculenta*. With flowers isolated [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/CHQBLcF8GpzTZ5GX9>
59. Kovalenko T. *Vicia Faba* fève, fève ou fêverole, culture de couverture Fève de cheval. Fleurs isolées isolated [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/ixDsDiTofTysfzyH6>
60. Kubicek C. P. et Harman G. E. (2002). *Trichoderma* and *Gliocladium* volume 1: Basic biology, taxonomy and genetics. UK : Taylor and Francis e-Library. 271p.
61. Kummalue T., Fungladda S. Jiratchariyakul W. (2010). Antiproliferative and Antimicrobial Activities of Endophytic Fungus Isolated from Erycibe Elliptilimba. *Siriraj Medical Journal*, 62(6), p : 237-240
62. La France D. (2007). La culture biologique des légumes. Canada : Berger. 525 p.
63. Lacroix M. Maladies des Céréales et de la Luzerne [en ligne]. (Page consultée le 03/03/2024). https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.agrireseau.net/grande_cultures
64. Lambert L. Le biofongicide *Trichoderma* (Root Shield) contre les maladies racinaires et la moisissure grise dans la fraise : Tout un Potentiel [en ligne]. (Page consultée le 28/03/2024). https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.agrireseau.net/petits_fruits/documents/trichoderma.pdf
65. Lee M. Assortiment de bols de lentille rouges, jaunes et vertes séchées isolées sur un fond blanc sans personne et un chemin de détourage [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/dGnWckEKvqwQKTc4A>
66. Lefort F. (2017). La lutte microbiologique : un aperçu de ses vastes possibilités d'utilisation en lutte phytosanitaire. Genève : Hepia. 23 p.
67. Liu H., Wang S., Lang B., Li Y., Wang X. et Chen J. (2023). Fused expression of Sm1-Chit42 proteins for synergistic mycoparasitic response of *Trichoderma afroharzianum* on *Botrytis cinerea*. *Microbial cell Factories*, 22, p: 156

68. Makhloof J. (2019). Caractérisation de la biodiversité des souches d'*Aspergillus* de la section Flavi isolées d'aliments commercialisées au Liban : approche moléculaire, métabolique et morphologique. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat : Pathologie, Toxicologie, Génétique et Nutrition. Université de Toulouse., 33-34 p.
69. Manoharachary C., Bahadur Singh H. et Varma A. (2021). *Trichoderma*: Agricultural Applications and Beyond. La Suisse : Springer Nature. 367 p.
70. Meyer J. Y. La lutte biologique contre les espèces introduites envahissantes : solution miracle ou méthode risquée [en ligne]. (Page consultée le 30/03/2024). <https://www.bing.com>
71. Ministère de L'Agriculture et de la Souveraineté Alimentaire Française. Les légumineuses, une famille de végétaux à (re)découvrir [en ligne]. (12/02/2024). <https://agriculture.gouv.fr/les-legumineuses-une-famille-de-vegetaux-redecouvrir>
72. Mold Library. *Aspergillus* [En ligne]. (20/03/2024). <https://library.bustmold.com/fr/aspergillus/>
73. Nasraoui B. et Lepoivre P. (2003). Les champignons phytopathogènes. Belgique : De Boeck Université. 427 p.
74. Opperman C. J. et Copelyn J. (2020). *Aspergillus niger* otomycosis in a child with otitis externa. *Southern African Journal of Infectious Diseases*, 35(1), p : 3
75. Organisation des Nations Unies pour L'alimentation et L'agriculture. 2016 Année Internationale des Légumineuses : des graines pour nourrir l'avenir [en ligne]. (12/02/2024). <https://www.fao.org/pulses-2016/news/news-detail/fr/c/337148/>
76. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Les avantages nutritionnels des légumineuses [en ligne]. (Page consultée le 25/03/2024). <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&opi=89978449&url=https://www.fao.org>
77. Patrick M. (2020). Les légumineuses [en ligne]. (Page consultée le 25/02/2024). <https://search.app/52jmx1cUZmtHZTHr9>
78. Rebah M. (2018). Algérie : la lutte biologique encore à ses débuts. *La Nouvelle République, Alger* [en ligne]. (Page consultée le 10/02/2024). <https://www.jne-asso.org/2018/03/22/algerie-la-lutte-biologique-encore-a-ses-debuts/>
79. Rifai A. M. (1969). A Revision of the genus *Trichoderma*. Éditeur : Commonwealth Mycological Institute. 56 p.
80. Romiri. Plante de pois avec fleurs et gousses isolées sur blanc. Plante de pois (*Pisium sativum*) poussant dans un jardin [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/pmLWRbDNSJRnDzyk8>
81. Schuster A. et Schmoll M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87, p : 787 - 799
82. Sikirou R., Nakouzi S., Adanguidi J. et Bahama J. (2018). Reconnaissance des Ravageurs du maïs en stockage au Bénin et méthode de lutte : fiche technique. Cotonou : FAO. 28 p. <https://www.fao.org/3/ca2306fr/CA2306FR.pdf>
83. Suty L. (2010). La lutte biologique : vert de nouveaux équilibres écologiques. Paris : Quæ. 328 p. – (Science en partage)
84. Swartz S., Motis T. et Dowell F. Récapitulatif des options de stockage du grain. Notes de développement de ECHO (EDN) no 158 [en ligne]. (Page consultée le 10/05/2024). <https://www.echocommunity.org/fr/resources/e2c526ec-6226-45cb-af4a-1a70c8b5afba>
85. Troiani F. Pois chiche blancs sur fond blanc [en ligne]. (Page consultée le 28/02/2024). <https://search.app/aeNKW8Z8gEGPY3xW9>
86. Vinalea F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Marra R., Woo S. L. et Lorito M. (2008). *Trichoderma* – plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), p: 1-10
87. Visagie C.M., Houbraeken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., Perrone G., Seifert K.A., Varga J., Yaguchi T. et Samson R.A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology*, 78(1), p : 343–371
88. Worms B. How to eliminate *Alternaria* from your cannabis crops [en ligne].(Page consultée le 04/05/2024). <https://www.dinafem.org/en/blog/how-eliminate-alternaria-your-cannabis-crops>

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : AITOUR Khaoula
BELAL Nour El Houda
BOUSMINA Nousseiba

Identification et biocontrôle des champignons phytopathogènes transmis par les semences des légumineuses alimentaires

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en
Domaine : Science biologique
Département : Microbiologie
Spécialité : *Microbiologie appliquée*

Résumé

Les légumineuses sont des denrées alimentaires importantes pour la population mondiale. En cours de culture, les légumineuses peuvent être exposées à diverses agressions, notamment les maladies fongiques, qui représentent probablement de l'ordre de 70% à 80% des maladies affectant les légumineuses. Notre étude consiste à isoler et identifier les champignons présents au niveau de 13 échantillons de semences (le pois chiche, le petit pois, la lentille et la fève). Aussi, réaliser des tests de biocontrôle *in vitro* sur les champignons phytopathogènes isolés en utilisant un *T. afroharzianum* qui est connu pour son effet inhibiteur des champignons pathogènes. Le nombre de genre fongique identifiés est de sept genres identifiés sur l'ensemble des échantillons soit « *Aspergillus, Penicillium, Rhizopus, Alternaria, Mucor, Fusarium* et *Stemphylium* ». Les résultats de ce test sont intéressantes vues que les taux d'inhibition atteint les 85%.

Mots-clefs : Fabacées ; semences ; lutte biologique ; *Trichoderma afroharzianum* ; champignons.

Laboratoires de recherche : Unité de recherche INRAA-Constantine.

Président du jury : Dr. ABDELAZIZ Ouidad (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. HARRAT Wahiba (MRB - INRAA Constantine).

Examineur(s) : Dr. ALMI Hiba (MAB - U Constantine 1 Frères Mentouri).