



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة والحياة

**Département : Microbiologie**

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

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : biotechnologie des Mycètes : Fermentation et production de  
Substance fongique.**

**Intitulé :**

**Comparaison entre l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de  
fongicide chimique.**

**Présenté et soutenu par : ZERBITA Insaf**

**Le : 13/06/2017**

**FERRAGJI Amira**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury :** Mme MIHOUBI I. (Pr - UFM Constantine).

**Rapporteur :** Melle AIMI H. (MAB - UFM Constantine).

**Examineurs :** Melle KARA ALI M. (MCB - UFM Constantine).

**Année universitaire  
2016 - 2017**

# **Remerciement**

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à Remercier en premier lieu le bon dieu le tout puissant de nous avoir donnez le courage pour accomplir ce petit projet.*

*Nous remercions par la suite très vivement **Mr DEHIMAT L.** doyen de la faculté des sciences de la nature et de la vie.*

*Nous remercions également **Mr KACEM CHAOUCHE N.** et **Mme MIHOUBI** pour leurs soutiens et orientations pendant toutes les années d'études.*

*Un grand merci à **M elle ALMI HIBA** notre Encadreur de notre mémoire pour sa disponibilité, son avoir – faire, ses conseil, elle nous a permis de réalisé la partie pratique dans les meilleures conditions, sa compétence, sa patience, son enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail ont permis son aboutissement à temps.*

*Nous remercions pour la deuxième fois **Mme MIHOUBI I** qui a accepté la présidente de ce jury.*

*Nos vifs remerciements s'adressent aussi à **Melle KARA ALI M** qui a accepté d'examiner notre travail avec bienveillances et nous en sommes très honoré.*

# Table des matières

I-Introduction.....	1
II- Revue bibliographique.....	3
II.1. Les champignons.....	3
II.1.1. Généralités sur les champignons.....	3
II.1.2. Classification des mycètes.....	4
II.1.3. Conditions et cultures des champignons.....	5
II.2. Les champignons pathogènes des fruits.....	6
II.2.1. Les champignons phytopathogènes.....	6
II.2.2. Les principaux champignons phytopathogènes.....	7
II.3. Les fruits.....	7
II.3.1. Les oranges ( <i>Citrus sinensis</i> ).....	8
II.3.2. Les pommes ( <i>Malus domestica</i> ).....	9
II.3.3. Les fraises .....	11
II.4. La lutte contre les maladies fongiques des fruits.....	13
II.4.1. Généralités.....	13
II.4.2. La lutte chimique.....	13
II.4.2.1. Définition.....	13
II.4.2.2. Les produits chimiques utilisés en lutte.....	14
II.4.2.3. Marchés des fongicides chimiques .....	14
II.4.2.4. Avantages et inconvénients de la lutte chimique.....	15
II.4.3. La lutte biologique.....	16
II.4.3.1. Définition .....	16
II.4.3.2. La lutte biologique par <i>Trichoderma harzianum</i> .....	16
II.4.3.3. Description et Morphologie .....	16
II.4.3.4. Habitat.....	18
II.4.3.4. Taxonomie.....	18
II.4.3.5. Cycle de vie.....	19
II.4.3.6. Le pouvoir antagoniste et mode d'action de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	19

<b>III .Matériel et Méthodes.....</b>	<b>20</b>
<b>III .1 Matériel.....</b>	<b>20</b>
<b>III .1.1 Matériel végétale.....</b>	<b>20</b>
<b>III .1.2 Matériel biologique.....</b>	<b>20</b>
<b>III.1.3 Matériel chimique (fongicides).....</b>	<b>21</b>
<b>III.1.4. Milieux des cultures.....</b>	<b>22</b>
<b>III.2. Méthodologies.....</b>	<b>22</b>
<b>III.2.1. Méthode d'isolement.....</b>	<b>22</b>
<b>III.2.2. Méthodes de purification.....</b>	<b>23</b>
<b>III.2.2.1. Purification par un repiquage des fragments.....</b>	<b>23</b>
<b>III.2.2.2. Purification par un repiquage des disques.....</b>	<b>23</b>
<b>III.2.3. Identification des maladies fongiques des fruits.....</b>	<b>24</b>
<b>III.2.3.1. Identification macroscopique.....</b>	<b>24</b>
<b>III.2.3.2. Identification microscopique.....</b>	<b>24</b>
<b>III.2.4. Conservation des isolats.....</b>	<b>24</b>
<b>III.2.4.1. Préparation de milieu de conservation.....</b>	<b>24</b>
<b>III.2.4.2. Méthode de conservation.....</b>	<b>24</b>
<b>III.2.5. Réactivation de la souche antagoniste.....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.5.1. Réactivation de la souche d'antagoniste .....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.5.2. Réactivation de la souche d'antagoniste à partir de la poudre.....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.6. Tests de lutte par <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.6.1. Test d'antagonisme par confrontation directe.....</b>	<b>25</b>
<b>III.2.6.2. Antagonisme par confrontation indirecte.....</b>	<b>26</b>
<b>III.2.7. Teste d'activité antifongique par métabolites secondaire.....</b>	<b>26</b>
<b>III.2.8. Tests de lutte chimique par les fongicides.....</b>	<b>27</b>
<b>III.2.8.1. La préparation des fongicides.....</b>	<b>27</b>
<b>III.2.8.2. Test d'antagonisme par les fongicides.....</b>	<b>28</b>

<b>IV. Résultats et discussion.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.1. Isolement et purification de l'agent pathogène.....</b>	<b>29</b>
<b>IV.2. Identification des isolats.....</b>	<b>31</b>
<b>IV.2.1. Identification macroscopique.....</b>	<b>31</b>
<b>IV.2.2 Identification microscopique.....</b>	<b>33</b>
<b>IV.3. Lutte par <i>Trichoderma harzianum</i>.....</b>	<b>35</b>
<b>IV.3.2 Test d'antagonisme.....</b>	<b>36</b>
<b>IV.3.3 Test d'activité antifongique par les métabolites secondaires.....</b>	<b>42</b>
<b>IV.3.4. Test d'antagoniste par produits chimiques (fongicides).....</b>	<b>44</b>
<b>V. Conclusion.....</b>	<b>51</b>
<input type="checkbox"/> Rés	
<input type="checkbox"/> sum	
<input type="checkbox"/> الملخص	
<input type="checkbox"/> An	
<input type="checkbox"/> Réfé	<b>bibliographiques</b>



## Liste des abréviations

**%** : pourcentage

**C°** : degré Celsius

**al.** : Collaboration

**BVB** : La Bouille Bordelaise Vallés.

**cm** : centimètre

**Carbis** : Carbistin

**g** : gramme

**Gr** : grossissement

**MEA** : Malt Extrait Agar

**m** : mètre

**min** : minute

**ml** : millilitre

**mm**: millimètre

**N°**: numero

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**sp** : espèce

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : La pourriture verte ( <i>Penicillium digitatum</i> ) et pourriture bleue ( <i>Penicillium italicum</i> ) (Anonyme 1 ,2017).....	8
<b>Figure 2</b> : <i>Alternaria</i> sp .sur l'orange (Anonyme 2 ,2017).....	9
<b>Figure 3</b> : <i>Penicillium expansum</i> sur une pomme (Anonyme 3,2017).....	9
<b>Figure 4</b> : Les symptômes de la maladie de suie sur une pomme (Gleason, 2011).....	10
<b>Figure 5</b> :Les symptômes de la maladie crotte de la mouche sur la pomme (Gleason, 2011).....	10
<b>Figure 6</b> : Fraise envahie par <i>Botrytis cinerea</i> (Basf,2017).....	11
<b>Figure 7</b> : Dégâts d'antracnose sur une fraise(Basf, 2017).....	12
<b>Figure 8</b> : Dégâts de l'oïdium sur une fraise(Basaf, 2017).....	12
<b>Figure 9</b> : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Trichoderma harzianum</i> .(Anonyme 4,2017).....	17
<b>Figure 10</b> : Aspect morphologique d'un conidiophore de <i>Trichoderma harzianum</i> (Samuels et al., 1994).....	17
<b>Figure 11</b> : La Bouille Bordelaise Vallés.....	21
<b>Figure 12</b> : Le Carbistin.....	22
<b>Figure 13</b> : Confrontation entre le pathogène et l'antagoniste par contact direct sur milieu PDA.....	25
<b>Figure 14</b> : Confrontation indirecte entre le pathogène et l'antagoniste.....	26
<b>Figure 15</b> : fongicides près à l'emploi.....	27
<b>Figure 16</b> : photo représente une fraise contaminée.....	29
<b>Figure 17</b> : photos représentes des oranges contaminées.....	30
<b>Figure 18</b> : photo représente une pomme contaminé.....	30
<b>Figure 19</b> : Aspect macroscopique de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	35
<b>Figure 20</b> : Aspect microscopique de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	35
<b>Figure 21</b> : Suivi de la croissance des différents pathogènes en présence de <i>Trichoderma harzianum</i> (cas de confrontation directe).....	38
<b>Figure 22</b> : Suivi de la croissance des différents pathogènes en présence de <i>Trichoderma harzianum</i> (cas de confrontation indirecte).....	40

Figure	Titre	page
Figure 1	La pourriture verte ( <i>Penicillium digitatum</i> ) et pourriture bleue ( <i>Penicillium italicum</i> ).	8
Figure 2	<i>Alternaria</i> sp .sur l'orange	9
Figure 3	<i>Penicillium expansum</i> sur une pomme	9
Figure4	Les symptômes de la maladie de suie sur une pomme	10
Figure5	Les symptômes de la maladie crottent de la mouche sur la pomme	10
Figure6	Fraise envahie par <i>Botrytis cinerea</i>	
Figure 7		

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Classification simplifiée des champignons.....	4
<b>Tableau 2</b> : Classification de <i>Trichoderma harzianum</i> (Bissett., 2004).....	21
<b>Tableau 3</b> : Composition du produit locale.....	26
<b>Tableau 4</b> : Isolats fongique des échantillons des fruits contaminés.....	32
<b>Tableau 5</b> : Etude microscopique des isolats pathogènes sélectionnés et identifiées.....	33
<b>Tableau 06</b> : l'effet de <i>Trichoderma harzianum</i> sur la croissance mycélienne de l'agent pathogène après 7 jours d'incubation par confrontation directe .....	34
<b>Tableau 7</b> : l'effet de <i>Trichoderma harzianum</i> sur la croissance mycélienne de chaque agent pathogène après 7 d'incubation par confrontation indirecte.....	41
<b>Tableau 08</b> : l'effet de <i>Trichoderma harzianum</i> sur la croissance mycélienne de chaque agent après 7 d'incubation avec métabolites secondaires.....	43
<b>Tableau 9</b> : Résultats d'inhibitions de la croissance mycélienne des quatre pathogènes par le fongicide BBV .....	45
<b>Tableau 10</b> : Test d'inhibition sur la croissance mycélienne des 4 pathogènes sous l'effet de fongicide carbis.....	46

## I- Introduction

Dans la nature la plus part des microorganismes sont utiles, mais ils existent un nombre aussi important inutiles.

Les fruits sont très utiles pour le corps humain en général, car ils contiennent beaucoup de vitamines, du fer, des antioxydants et de fibres que le corps a besoin, et aussi aider dans le traitement de nombreuses maladies.

Le fruit est l'un des plus importants aliments que nous devons adresser tous les jours, et se caractérise par des fruits multiples marques et la forme.

Au cours du cycle de production, stockage et commercialisation des fruits, plusieurs germes peuvent proliférer et induire de graves maladies. Les agents pathogènes sont variés : des virus, des bactéries et des champignons.

La lutte contre ces pathologies peut être préventive ou curative. Parmi les méthodes utilisées en lutte contre les ravageurs : la méthode chimique et la méthode biologiques.

En effet, la lutte chimique contre les maladies fongiques se fait à l'aide des substances appelés pesticides comme les fongicides. Plusieurs stratégies chimiques permettent de lutter contre ces maladies de façon directe ou indirecte, certains fongicides agissent sur le système énergétique des cellules fongiques en inhibant les processus respiratoire et d'autres agissent sur la synthèse des constituants des champignons .ces moyens de lutte possède des avantages et des inconvénients.

Par contre, la lutte biologique est limitée à l'utilisation des organismes antagonistes (généralement les microorganismes).les effets d'antagonistes sont directes ou indirectes et peuvent être dus aux organismes introduits ou à la manipulation des organismes existants (Nasraoui ,2006). Les agents de lutte biologiques peuvent êtres de plusieurs types : des virus, des bactéries et des champignons. Parmi les champignons antagonistes *Trichoderma harzianum* présente une espèce très importante dans la lutte biologique en raison de leur antagonisme vis-à-vis d'autre espèces fongiques.

La contribution de notre travail consiste à faire une comparaison entre l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de deux fongicides chimiques (La Bouille Boredelaise Vallés et Carbistin). Le présent travail est organisé comme suit :

- Une étude bibliographique orientée vers l'approfondissement des connaissances sur le domaine de lutte contre les phytpatogènes.
- Des tests mycologiques de lutte menés *In Vitro*, ayant comme étapes :

- Isolement de quelques souches pathogènes à partir de différents fruits jugés contaminés.
  - Purification, identification et conservation des isolats fongiques.
  - Réactivation de *T. harzianum*.
  - Tests d'antagonisme et tests de l'effet des métabolites secondaires.
  - Tests de lutte par l'utilisation de deux fongicides : (La Bouille Boredelaise Vallés et Carbistin).
- Interprétation et discussion des résultats obtenus.
- En fin une conclusion générale sur le travail réalisé.

## II- Revue Bibliographique

### II.1. Les champignons

#### II.1.1. Généralités sur les champignons

Les champignons (Fungi ou mycètes) constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, riche de 120000 espèces, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, adaptées au mode de vie saprophyte, parasitaire ou symbiotique (Senal et al., 1993 ; Anonyme a , 2000 ;Anonyme b ,2000 ;Kirk et al.,2001).

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes filamenteux, aérobies strictes et rarement anaérobies (Mathew, 1995 ; Tortora et al.,2003), ayant un métabolisme hétérotrophe car ils tirent leur énergie de la respiration et de la fermentation des matières organiques solubles disponibles dans leur environnement ( Leveau et bouix, 1993 ;Nicklin et al .,1999).

Sur le plan morphologique, le champignon est constitué d'un thalle qui forme son appareil végétatif (Hawksworth et al., 1994). L'appareil végétatif se compose d'éléments de base appelé l'hyphe qui forme un réseau de filaments ramifiés ; le mycélium (Mathew, 1995). Chez la plupart des champignons les hyphes sont divisés par des cloisons, ou septa (septum au singulier) formant des unités qui ressemblent à des cellules distinctes avec un seul noyau, on les appelle alors hyphes segmentés ou septés. dans quelques classes des mycètes, les hyphes ne contiennent pas des cloisons et ont l'aspect de longues cellules continues à noyau multiples; ils sont appelés cénocytes (Tortora et al. , 2003).

Les hyphes, segmentés ou non, sont en fait de petits tubules transparents s'entourent d'une paroi cellulaire rigide formée de polymère de chitine et des polymères de la cellulose, éléments chimiques qui lui confèrent une grande rigidité ,une longévité et une grande capacité de résistance à la chaleur et à des pressions osmotiques élevées .de ces faits les champignons sont capables de vivre dans un environnement rude (Tortora et al.,2003).

En effet, les champignons se développent à un pH légèrement acide (3 et 7) et à une température optimale comprise entre 20° C et 30 ° C, cependant certaines espèces sont psychrophiles, se développant à des températures très basses (<15° C ou même parfois à < 0°C) (Botton et al., 1990 ;Guiraud,1998 ;Tortora et al.,2003).

### II.1.2. Classification des mycètes

Le règne des Fungi, appelé aussi Eumycota, contient, en plus d'un groupe particulier appelé Deutéromycètes, quatre phylums qui sont les Ascomycota (plus de 32700 espèces), les Basidiomycota (près de 30000 espèces), les chytridiomycota (plus de 900 espèces) et les Zygomycota (environ 1100 espèces) avec deux classes qui sont les Zygomycètes et les Trichomycètes. Seule la classe des zygomycètes contient quelques espèces phytopathogènes (Nasraoui, 2006 ; Anonyme, 2010) (Tableau1).

**Tableau 1** : Classification simplifiée des champignons Anonyme.2010).

Groupe	Caractéristiques	Familles	Genres et espèces
<i>Chytridiomycota</i> (ou <i>Chytridiomycètes</i> )	Thalle rudimentaire, spores uniflagellées ils sont saprophytes ou parasites et Pour la plupart aquatiques.	<i>Synchytriacées</i>	<i>Synchytrium endobioticum</i>
<i>Zygomycota</i> (ou <i>Zygomycètes</i> , autrefois appelés <i>Phycomycètes</i> )	Thalle non cloisonné spores flagellées reproduction sexuée	<i>Mucoracées</i>	<i>Rhizopus nigricans</i>
<i>Basidiomycota</i> (ou <i>Basidiomycètes</i> )	Reproduction sexuée spores non flagellées regroupées dans des dans des cellules spécialisées (basides)	<i>Mélampsoracées</i> <i>Pucciniacées</i> <i>Ustilaginacées</i> <i>Tilletiacées</i>	<i>Melampsora pinitorqua</i>
<i>Ascomycota</i> (ou <i>Ascomycètes</i> ) (asques)	Reproduction sexuée spores non flagellées regroupées dans des sacs (asques)	<i>Clavicipitacées</i> <i>Erysiphacées</i> <i>Hypocracées</i>  <i>Nectriacées</i> <i>Périsporiacées</i>  <i>Sclérotiniacées</i>  <i>Taphrinacées</i>  <i>Venturiacées</i>	<i>Claviceps purpurea</i> <i>Type oiidum</i> <i>Trichoderma harzianum</i>  <i>Nectria galligena</i> <i>Capnodium limacinia</i> <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>  <i>Taphrina deformans</i>  <i>Venturia pirina</i>

### II.1.3. Conditions et cultures des champignons

Les champignons ont besoin de deux types d'éléments nutritionnels : les macroéléments et les oligo-éléments.

#### ➤ Les macroéléments

Le carbone constitue l'élément le plus abondant dans la cellule fongique. Il présente environ 50 % de la cellule (Rivière, 1975), alors que, la teneur en azote varie entre 10 et 15% (Scriban, 1993). Ainsi, le rapport carbone/azote influe considérablement la croissance et il est pour les mycètes de l'ordre de 20/1 (Barker et Worgan, 1981 ; Botton et al., 1990). Grâce à la glycolyse et au métabolisme aérobie, les mycètes assimilent les sucres facilement métabolisables comme le glucose, le maltose, le saccharose et les polymères tels que l'amidon (Nicklin et al., 1999), comme ils peuvent dégrader les substrats organiques bon marché tels que les déchets issus de l'industrie agro-alimentaire : la peau de mandarines (Nishio et Nagai, 1981), les mélasses et les pulpes de betteraves (Beldwins et al., 1986), les déchets d'abricot et de pêches (Aksoz, 1990), la pulpe et la peau d'orange (Hart et al., 1991). En outre, les mycètes utilisent facilement le lactosérum comme source de carbone (Rivière, 1975).

Par ailleurs, les mycètes utilisent l'azote sous sa forme minérale ou organique. La plupart des mycètes peuvent en général, assimiler aussi bien l'azote ammoniacal que l'azote nitrique (Davet and Rouxel, 1997) et lorsqu'il s'agit de l'azote organique, il est plus souvent apporté sous forme de peptone. Parfois, la source d'azote organique peut servir simultanément de source de carbone (Davet and Rouxel, 1997).

#### ➤ Les oligo-éléments

En plus de la source carbonée, de la source azotée et des facteurs de croissance, plusieurs sels minéraux comme  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{CaCl}_2$  et des concentrations moindres comme Mn, Fe, Zn, Cu, etc. sont nécessaires à la croissance des mycètes (Larpent-Gourgaud and Sanglier, 1992).

## II.2. Les champignons pathogènes des fruits

Les fruits et les légumes, sont des produits qui accumulent durant leur croissance des réserves assureront la continuité du métabolisme après la récolte au cours du stockage principalement par perte hydrique ; mais ils peuvent également être victimes des maladies physiologiques ou microbiologique (en particulier les maladies fongiques).

### II.2.1. Les champignons phytopathogènes

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites qui provoquent des maladies cryptogamiques chez les plantes. Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des Eumycètes ou « champignons vrais » : Ascomycètes, Basidiomycètes, Chytridiomycètes, Zygomycètes et Deutéromycètes (champignons imparfaits). Les agents pathogènes responsables de maladies cryptogamiques comprennent aussi des protistes : plasmodiophoramycètes, dont les genres les plus importants sont Plasmodiophora et Spongospora, et Oomycètes, qui comprennent notamment la famille des Peronosporaceae (agents des mildious).

Les champignons phytopathogènes sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées (Jim Deacon, 2005). On estime entre dix mille et quinze mille espèces de champignons ou pseudo-champignons susceptibles d'infecter les plantes (contre une cinquantaine susceptibles d'infecter l'homme) (Francisco et al., 2014). Les pertes économiques annuelles dues aux maladies fongiques dans l'agriculture mondiale, avant et après la récolte, étaient estimées en 2003 à plus de 200 milliards d'euros (Dilip et al., 2003). L'infection des plantes par un champignon phytopathogène se déroule selon un processus, appelé « cycle de la maladie », dont la complexité varie selon les espèces, mais qui comprend toujours un certain nombre d'étapes obligatoires (inoculation, adhérence, germination, pénétration et invasion). Les champignons phytopathogènes sont capables d'infecter n'importe quel tissu à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (Carlos et al., 2012).

## II.2.2. Les principaux champignons phytopathogènes

Selon une enquête internationale menée en 2012 par des mycologues (Revue Molecular Plant Pathology) ; ils existent dix espèces ou genres de champignons phytopathogènes a importance scientifiques et économiques. Parmi ses organismes pathogènes, six sur dix attaquent plus spécifiquement les cultures de céréales (Ralpha dean et al., 2012) :

1. Magnaporthe oryzae, agent de la pyriculariose.
2. Botrytis cinerea, agent de la pourriture grise.
3. Puccinia sp, Agents de rouilles.
4. Fusarium graminearum, agent de la fusariose.
5. Fusarium oxysporum, agent de la fusariose vasculaire.
6. Blumeria graminis, agent de l'oïdium.
7. Mycosphaerella graminicola, agent de la septoriose.
8. Colletotrichum sp, agent d'antracnose.
9. Ustilago maydis, agent du charbon.
10. Melampsora lini, agent de la rouille du lin.

## II.3. Les fruits

Les fruits sont l'une des rares excellentes sources de glucides pour la santé .Bien que les glucides des fruits soient en parties composées de fructose, Les fruits forment un mélange riche en nutriments, fibres, vitamines, oligoéléments.....

### II.3.1. Les oranges (Citrus sinensis)

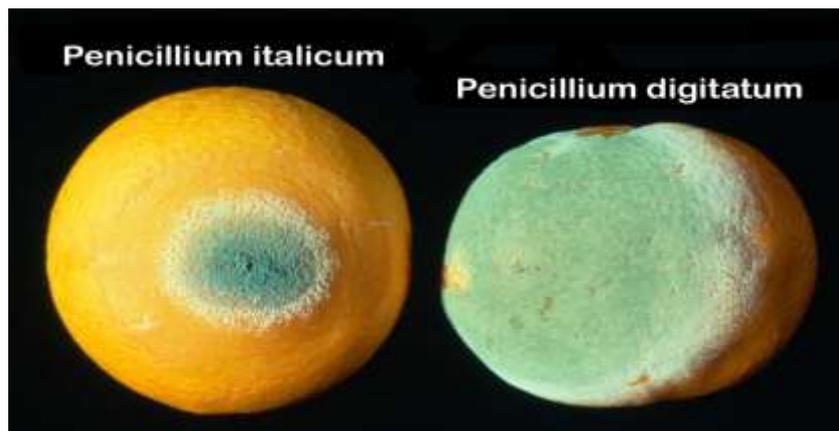
#### ➤ Définition

Selon Baha (2009), l'oranger est une variété traditionnelle très appréciée par le consommateur pour ses qualités gustatives et produisant chaque année des rendements très élevés. Plusieurs variétés existent sur le marché. L'oranger peut développer un certain nombre de maladies qui affectent leurs racines, les troncs, les branches, les feuilles et les fruits.

➤ **Les maladies fongiques des oranges**

Plusieurs pathogènes fongiques attaquent les fruits sur lesquels ils causent la plupart du temps des dégâts importants. Parmi ces maladies, on cite :

- ✓ **La pourriture verte (*Penicillium digitatum*) et pourriture bleue (*Penicillium italicum*):** les pourritures verte et bleue (Figure 1) sont deux maladies très fréquentes sur l'orange. La pourriture verte, se manifeste par l'apparition d'une couleur grise verte avec une frange blanche large et diffuse une odeur d'éther, tandis que, la pourriture bleue, elle se manifeste par une couleur bleu-vert avec une frange blanche étroite, entourée par un halo de tissu déliquescent. Les tissus sous-jacents s'affaissent, l'altération est plus profonde que celle de la première maladie.



**Figure 1 :** La pourriture verte (*Penicillium digitatum*) et pourriture bleue (*Penicillium italicum*) (Anonyme 1 ,2017)

- ✓ **L'alternariose (pourriture noire):** causé par les espèces du genre *Alternaria*. Les spores d'*Alternaria* sp sont présentes dans les vergers et les entrepôts. L'agent causal est un pathogène de blessures (grattages d'épiderme, plaie de coupe du pédoncule), il pénètre surtout à l'intérieur des fruits par les ouvertures naturelles. Selon le point de pénétration la pourriture noire sera sèche ou molle (Figure 2).



**Figure 2 :** *Alternaria sp* .sur l'orange  
(Anonyme 2 ,2017)

### II.3.2. Les pommes (*Malus domestica*)

#### ➤ Définition

La pomme est le fruit du pommier de la famille des Rosacées, elle est riche en vitamine (B, C, E) et en fibres .il existe un grand nombre de variétés de pomme.

#### ➤ Les maladies fongiques des pommes

Les principales maladies sont :

- ✓ **La pourriture humide :** causée par *Penicillium expansum* elle apparaisse généralement sous forme circulaire avec un contour net de couleur brun claire. Une moisissure d'abord blanche puis verte bleuâtre apparaitre à la surface de la pourriture (Figure 3).



**Figure 3 :** *Penicillium expansum* sur une pomme  
(Anonyme 3, 2017)

- ✓ **La maladie de la Suie :** c'est une maladie estivale qui apparaît dans les vergers bio et à peu de traitements fongicides, elle peut provoquer 100% de perte commerciale de la production. Ce sont les gouttes de pluie qui disséminent les spores par éclaboussures du bois vers les fruits. Après

infection, le mycélium invisible se développe sur la surface du fruit. Ensuite après un certain temps à haute humidité, le mycélium change de couleur et devient gris-olive: les symptômes sont alors visibles (Figure 4). Les champignons responsables de cette maladie (un complexe de plusieurs espèces dont *Peltaster fruticola*) survivent sur des plantes des alentours ainsi que sur les branches et fruits momifiés au sein du verger.



**Figure 4 :** Les symptômes de la maladie de suie sur une pomme  
(Gleason ,2011).

- ✓ **La maladie crotte de mouche sur pomme :** c'est une maladie occasionnellement rencontrée dans les vergers peu traités, notamment en été. De faible importance économique, elle provoque une altération de l'épiderme sans induire de pourriture (Figure 5). Cette maladie est souvent associée à la maladie de la suie (*Gloeodes pomigena*).



**Figure 5 :** Les symptômes de la maladie crotte de la mouche sur la pomme  
(Gleason ,2011).

### II.3.3. Les fraise (*Fragaria*)

- **Définition :**

Petite fruit très parfumé, de forme conique, dont les akènes dorment des aspérités sur la chair rouge vif, qui mûrit en été sur une plante à tige très basse (fraise des bois, de jardin, cueillir des fraises), elle est très riche en vitamine C et en fer ( Pt Lar.Méd.1976).

- **Les maladies fongiques des fraises** : les fraisiers peuvent être attaqués par plusieurs maladies fongiques, notamment la pourriture grise, l'antracnose et l'oïdium. Ces maladies, très nuisibles à la culture, peuvent être contrôlées par une application fongicide préventive. (BASF, 2017). Parmi les principales maladies qui attaquent les fraises on site :

- ✓ **La pourriture grise** : elle est provoquée par le champignon *Botrytis cinerea*. Les attaques de ce champignon se caractérisent par un feutrage gris sur les parties atteintes sur les feuilles, des taches brunes se développent sur les fruits (Figure 6). Les fraises touchées par botrytis d'un feutrage dense qui les rend impropre à la consommation.



**Figure 6:** Fraise envahie par *Botrytis cinerea* (BASF, 2017)

- ✓ **L'antracnose de la fraise** : le champignon responsable de l'antracnose du fraisier s'appelle *Colletotrichum Fragariae*, cette maladie se manifestant par des lésions rondes de 1 à 2 cm sur les fraises, avec le centre de la tache enfoncée en coup de pouce de couleur bronzée, la nécrose devient ensuite rose puis brune (Figure 7).



**Figure 7:** Dégâts d'antracnose sur une fraise  
(Basf, 2017)

- ✓ **Oïdium de la fraise** : provoqué par le champignon *Podosphaera macularis*. La maladie se caractérise par un fin duvet blanchâtre sur les folioles des fraisiers et une couleur rougeâtre de l'épiderme inférieur (Figure 8). Sur les fraisiers très touchés, l'oïdium s'attaque aux hampes florales et même aux fruits.



**Figure 8:** dégâts de l'oïdium sur une fraise  
(Basaf, 2017)

## **II.4. La lutte contre les maladies fongiques des fruits**

### **II.4.1. Généralités**

La lutte contre les maladies est basée sur différentes méthodes. La plupart de ces méthodes est orientée pour protéger les plantes saines des maladies plutôt que de guérir les plantes malades.

Seules quelques infections peuvent être contrôlées d'une façon satisfaisante après que les plantes deviennent malades.

Les méthodes de lutte appliquées en agriculture varient considérablement d'une maladie à une autre en fonction du pathogène, de la plante hôte et de leur interaction chacun avec l'autre dans l'environnement.

Le but final de toutes les méthodes utilisées est de combattre les maladies des plantes et alors d'accroître la quantité et améliorer la qualité de la production agricole (Nasraoui, 2006).

### **II.4.2. La lutte chimique**

#### **II.4.2.1. Définition**

La lutte chimique a pour but d'éviter la maladie (traitement préventif) ou de stopper (traitement curatif), elle doit être raisonnée en tenant compte de la période de traitement, du produit utilisé, de la dose à appliquer, du spectre d'action de la matière active et de la période de couverture (rémanence).

La lutte chimique contre les agents phytopathogènes concerne essentiellement les champignons responsables des maladies fongiques des plantes et des fruits. La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stéroïdes ou la division cellulaire, Ce type de mode d'action peut entraîner d'une part, des risques pour l'homme et les organismes non ciblés et d'autre part, le développement de souches fongiques résistantes (Ruel, 2006).

En agriculture, les fongicides sont utilisés pour détruire les champignons pathogènes qui s'attaquent aux cultures, aux semences et aux produits récoltés.

#### II.4.2.2. Les produits chimiques utilisés en lutte :

Les molécules et les préparations fongicides utilisées dans la pratique agricoles ont excrement nombreuses et appartiennent à des familles chimiques variées (Bermond, 2002). Au sens de la directive européen 91/414, les produits phytosanitaires désignent les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont destinées (Colin ,2000) à :

- ✓ Protéger les végétaux contre tous les organismes nuisibles ou prévenir leur action.
- ✓ Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux.
- ✓ Assurer la conservation des végétaux.
- ✓ Détruire les végétaux indésirables.
- ✓ Détruire des parties des végétaux pour freiner ou prévenir une croissance indésirable.

On distingue plusieurs types de produits phytosanitaires en fonction de leur usage :

- ✓ Les herbicides contre les adventices (mauvaises herbes).
- ✓ Les insecticides contre les insectes ravageurs.
- ✓ Les acaricides, les molluscides, les rodenticides, les nématicides, les taupicides, etc.
- ✓ Les fongicides contre les maladies cryptogamiques.

#### II.4.2.3. Marchés des fongicides chimiques

Les fongicides servent à combattre la prolifération des champignons pathogènes. Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages au végétaux cultivés (Cairns T et *al.*, 1996). Parmi les produits fongicides qui existent sur le marché on cite :

- **La Bouillie bordelaise** : produit à du sulfate de cuivre neutralisé avec de la chaux du groupe chimique des sels de cuivre, sa formulation est en poudre mouillable. Les sels de cuivre sont des fongicides minéraux dont le pouvoir anticryptogamique a été découvert par hasard par Bénédicte Prévost, en 1807, sur les récipients de cuivre qu'il a utilisé dans son expérimentation. Ce sont d'excellents fongicides peu employés seuls et peu toxique pour l'homme.

D'après la classification OMS la Bouillie bordelaise est peu dangereuse et elle est classée comme produit normalisé (Couteux, Lejeune ,2003 ; DPV ,1995).

- **Le Penncozeb 80 WP** : il a pour matière active le mancozeb à 80 %, il est du groupe chimique des dithiocarbamates et sa formulation est sous- forme de poudre (DPV, 2000). Il est recommandé en traitement des parties aériennes sur : les arbres fruitiers, sur les cultures légumières et florales, il s'applique aussi en traitement des semences. D'après la classification OMS, le Penncozeb est non dangereux (Couteux, Lejeune ,2003).
- **Le Cryptonol 98 WP** : il a pour matière active le sulfate neutre d'oxyquinoléine à 98 %, il est du groupe chimique de la quinoléine et sa formation est en poudre mouillable (DVP, 1995). Ce fongicide est très polyvalent et est utilisé surtout pour la désinfection des planches de semis contre *Alternaria*, *Botrytis*, *fusarium* .... Il est aussi employé habituellement sur les arbres fruitiers ou pour lutter contre la pourriture grises (Couteux, Lejeune ,2003 ; DPV 1995). L'OMS classe ce produit comme peu dangereux (DVP, 1995).

#### II.4.2.4. Avantages et inconvénients de la lutte chimique

Actuellement, la lutte chimique est le moyen le plus utilisée pour la défense des végétaux. Elle est relativement efficace mais présente des dangers pour l'environnement (accumulation de résidus toxiques pour l'homme et les animaux dans les chaînes alimentaires, pollution des eaux, de l'air, des sols...), pour l'utilisateur (intoxications) et pour les consommateurs (présence de résidus dans les produits destinés à la consommation).

La lutte chimique, présente aussi des limites ; en particulier, la généralisation de l'utilisation des pesticides a conduit à l'apparition d'ennemis résistants (insectes, champignons...). Par conséquent, l'efficacité des produits régresse et il faut rechercher d'autres molécules efficaces. De plus, certains produits ont des effets secondaires stimulant des processus biologique antagonistes sur la plante ou sur son ennemi. Enfin, des produits peuvent faire disparaître ou abaisser fortement les populations d'espèces utiles, diminuant ainsi la protection naturelle de la culture par les auxiliaires (Anonyme, 2010).

### II.4.3. La lutte biologique

#### II.4.3.1. Définition

L'ACTA définit la lutte biologique comme étant « une méthode qui consiste à combattre un organisme nuisible par l'utilisation de mécanismes naturels appartenant soit au règne animal soit au règne végétal, ou qui en décrivent ».

Cette méthode consiste à utiliser différents organismes vivants, appelés auxiliaires, ou leurs produits, pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les bio-agresseurs. Il s'agit d'utiliser la biodiversité et les ennemis naturels des espèces nuisibles. (Fernandes, 2005).

La lutte biologique est un essor constant car elle présente une alternative à la lutte chimique.

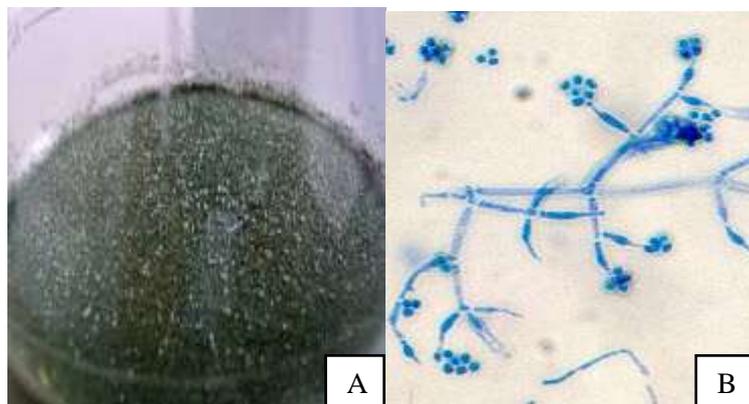
#### II.4.3.2. La lutte biologique par *Trichoderma harzianum*

Les souches appartenant au genre *Trichoderma*, sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols. Les sols inoculés protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Herman, 2001).

#### II.4.3.3. Description et Morphologie

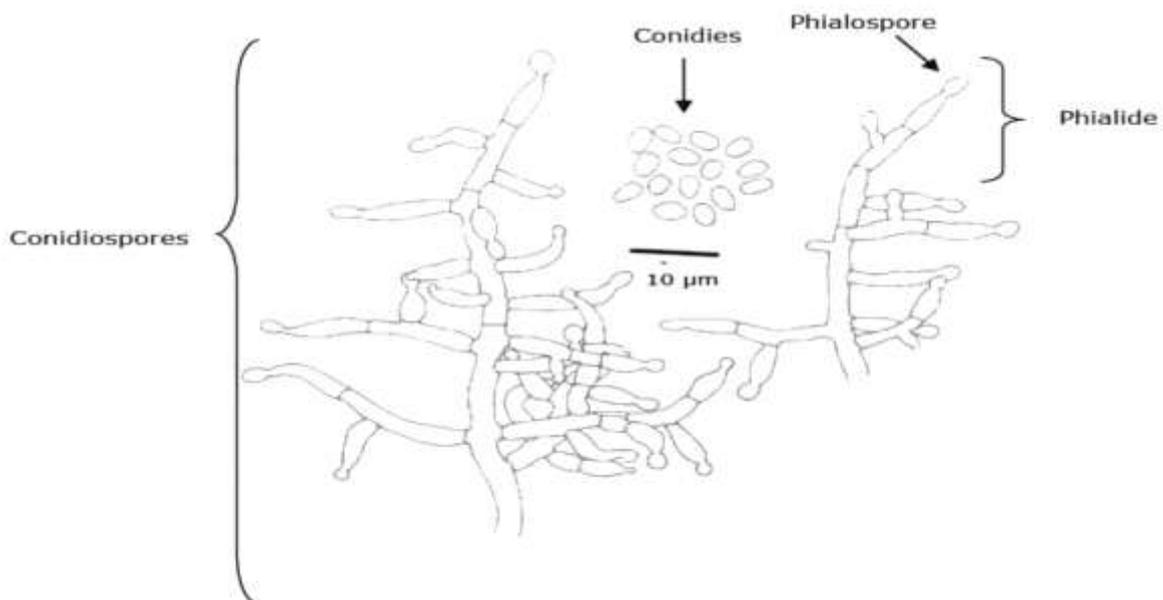
- **Description** : le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons filamenteux, imparfaits, saprophytes qui décomposent naturellement la cellulose et à un degré moindre, la lignine (Caron et Laverdière, 2003). On le reconnaît facilement en culture grâce à la couleur généralement verdâtre de ses spores et le port typique de ses phialides (en forme de quilles) (Caron, 2002). Les *Trichoderma*, surtout en sols acides, sont des antagonistes importants et des destructeurs de sclérotés (*Sclerotinia*) (Messiaen et al., 1991). Leur température optimale de croissance se situe entre 25 °C avec un minimum de 0 °C et un maximum de 30 à 37°C (Gray et al., 2011).
- **Morphologie de l'espèce** : la morphologie des espèces de *Trichoderma* est très proche. Ils ont été considérés pendant plusieurs années comme étant une seule souche : *Trichoderma viride* (Bissis, 1939). Les colonies (Figure 9) des souches *Trichoderma harzianum*, sont floconneuses ou bien compactées en touffes (il existe

des aspects intermédiaires). La coloration des colonies dépend de la pigmentation des phialides et le revers est généralement incolore.



**Figure 9:** Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de *Trichoderma harzianum* ( Anonyme 4,2017 ;Chabasse,2002).

D'un point de vue microscopique (figure 10), le mycélium est composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses .Les conidiophores sont de forme conique ou pyramidale, ils sont ramifiés et portent des phialides en forme de flasque ou de quilles. A leur tour, les phialides portent des spores (phialospores ou bien conidies) (Cournut, 1984 ; Landreau ,2001 ; Kubicek et al., 2003).



**Figure 10 :** Aspect morphologique d'un conidiophore de *Trichoderma harzianum* (Samuels et al., 1994).

#### II.4.3.4. Habitat

*Trichoderma* est un champignon cosmopolite .Grace à sa grande capacité d’adaptation aux différentes conditions chimiques climatiques, il est très répandu dans la nature .En effet, Les

*Trichoderma sp* sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, élément majeur dans la microflore terrestre et marine.

Les *Trichoderma sp.* Terrestres se développent quasiment dans tous les soles (forestiers ou cultivés) à toutes les latitudes et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes, *Hypocrea* la forme téléomorphe des *Trichoderma* est le plus souvent sur l’écorce ou sur bois décortiqué (Gray et al., 2011).

#### II.4.3.5. Taxonomie

La classification usuelle de *T.harzianum* est définie dans le tableau 2.

**Tableau**

Règne	Fungi
Embranchement	Amastigomycota et ou Eumycètes
Sous Embranchement	Ascomycota

2 :Classification de *Trichoderma harzianum* (Bissett., 2004).

Classe	Sordariomycètes
Sous classe	Hypocreomyotidae
Ordre	Hypocréales
Famille	Hypocraceae
Genre	Trichoderma
Espèce	Trichoderma harzianum

#### II.4.3.6. Cycle de vie

Les espèces du genre *Trichoderma* ont une reproduction exclusivement asexuée (Roquebert, 1996) En effet, après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, deux correspondant à la conidiogenèse. d'autre cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16ème et le 20ème jour un feutrage épais se suppose à la culture (Corbaz, 1990).

#### II.4.3.7. Le pouvoir antagoniste et mode d'action de *Trichoderma harzianum*

Les propriétés antagonistes de *T.harzianum* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. cependant l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales. les modèles étudiés s'intéressaient essentiellement aux parasites du sol mais déjà, en 1952. Wood signalait l'efficacité de *T.harzianum* pour contrôler *Botrytis cinerea* sur la laitue .

*Trichoderma harzianum* à la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différentes modes d'action. Il peut utiliser :

- **L'antibiose** : mécanisme résultant de la production de substances qui agissent comme des antibiotiques et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène.
  
- **La compétition** : mécanisme qui se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables.
  
- **Le parasitisme** : résulte de la destruction de l'agent pathogène lorsque de *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant ; en pénétrant à l'intérieure et ou en lui injectant des substances (enzymes) qui le détruisent.

### III .Matériel et Méthodes

Le présent travail est réalisé au niveau du laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'activité microbienne (La MyBAM) à Chaàbet Erssas. Université de frère Mentouri Constantine. Dans l'intervalle de temps entre mars et mai 2017.

Il porte sur la comparaison entre l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de deux fongicides chimique.

#### III .1 Matériel

##### III .1.1 Matériel végétale

Des échantillons de fraises, d'oranges et de pommes contaminés ont été collectés à partir des étalages chez les marchands de légumes au marché Ritage Mall, Nouvelle ville Constantine.

##### III .1.2 Matériel biologique

La souche de *Trichoderma harzianum* utilisée dans nos tests, nous été fournis par Mme ALMI H. Cette souche a été isolée à partir des sols agricoles (El Baàraouia relevant de la wilaya Constantine) conçus pour la culture des lentilles et puis elle a été identifiée macroscopiquement, microscopiquement et moléculairement .

La souche nous a été fournie sous deux formes :

- Culture mycélienne sur milieu PDA en boite pétri congelé ;
- Poudre conservée (Spores).

Dans notre travail *T. harzianum*, a été choisis comme souche antagoniste pour plusieurs raisons :

- Très répondu dans la nature avec une grande capacité d'adaptation à différentes conditions climatiques.
- Sa croissance rapide, et sa grande capacité à la compétition saprophytique.
- Un antagoniste contre plusieurs phytopathogènes.
- Sa capacité de produire des métabolites primaires et secondaires importantes.

### III.1.3 Matériel chimique (fongicides)

Deux fongicides chimiques ont été utilisés durant nos tests d'antagonisme. Il s'agit de :

- La Bouillie Bordelaise Vallés : c'est un fongicide cuprique de contact à action préventive de longue durée, sa formulation est en poudre mouillable (Figure 11). La Bouillie Bordelaise Vallés présente des actions complémentaires intéressantes sur plusieurs maladies telles que : l'excoriose, l'oïdium et les maladies bactériennes.



Figure 11 : La Bouillie Bordelaise Vallés.

La composition de ce fongicide est présentée dans le tableau ci-dessous (Tableau 03).

Tableau 03 : Composition du produit locale

<b>Poudre mouillable (WP)</b>	<b>76 % de cuivre (sulfate tetracuvrique tricalcique)</b>
Numéro d'Homologation	06 44 269
Emballage	Sac de 5 kg
Firme	IQV / PMS

- Carbistin : c'est un fongicide acheté de Turky (Figure 12). Il a une action préventive contre plusieurs maladies.



**Figure 12 :** Le Carbistin.

Ce fongicide sous forme poudre mouillable 50 WP, a comme ingrédient actif la carbendazime 50, nom chimique : méthyle fongicide 2- benzimidazole.

#### **III.1.4. Milieux des cultures**

L'isolement des agents pathogènes, a été effectué sur le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar), jugé comme milieux standard pour le développement des champignons. Ce milieu (Annexe) a été préparé à partir d'un mélange de pommes de terre lavés et découpés en petits morceaux et d'eau distillée. Le mélange est mis à ébullition au bain-marie et la bouillie obtenue est filtrée. L'agar (20g) et le glucose (20g), sont ajoutées et la quantité d'eau est complété jusqu'à 1000 ml. La stérilisation a été effectuée à 120 °C à une pression de 1 barre pendant 20 min.

La purification des différents isolats a été effectuée sur d'autres milieux de cultures à savoir : le milieu Czapeck Dox, le milieu Sabouraud et le milieu gélose à l'extrait de malt (MEA). La composition exact de ses milieux est détaillé en annexe.

### **III.2. Méthodologies**

#### **III.2.1. Méthode d'isolement**

Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile par la flamme du bec bunsen sur une paille soigneusement nettoyée.

Après l'examen visuel des organes endommagés (infectés), l'isolement des l'agents pathogènes est effectué par la désinfection des petits fragments affectés découpées séparément (environ 0.5 cm le fragment) par trempage dans de l'hypochlorite de sodium à 2

% pendant 3 min, dans l'éthanol (80%) et enfin rincés plusieurs fois dans l'eau distillé stérile afin d'éliminer les contaminants de l'air (Bnehamou et *al.*, 1997). Les fragments ainsi désinfectés sont séchés sur papier filtre stérile pendant quelques minutes jusqu'à l'obtention des fragments totalement sec.

Après séchage, les différents fragments isolés, ont été transférés directement sur des boites de pétri (3 fragments par boite) contenant le milieu PDA additionné d'un antibiotique a une concentration de 5mg/l, pour inhibée la croissance bactérienne. L'incubation a été effectuée à une température de 28°C pendant sept jours. Cette période est suffisante pour estimer le début de fructification du champignon (Botton et *al.*, 1990).

### **III.2.2. Méthodes de purification**

#### **III.2.2.1. Purification par un repiquage des fragments**

Après le développement des colonies suite a l'isolement, on effectue une série de repiquage à partir de chaque colonie, jusqu'à l'obtention d'une seule colonie pur sur chaque boite de pétri une (Guiraud, 1998).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide s'une anse de platine ou une pipette stérilisée tous en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes. Le fragment prélevé est reposé sur l'un des milieux de culture: Sabouraud, Czapek Dox et ou bien le MEA. Cette manipulation est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention des souches fongiques pures.

#### **III.2.2.2. Purification par un repiquage des disques**

Les boites issues d'isolement comprenant plusieurs colonies d'aspects, de couleur et de texture différentes. La technique de purification par un repiquage des disques, consiste à prélever une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et à repiquer sous forme d'un disque à l'aide d'une pipette de pasteur stérile.

### III.2.3. Identification des maladies fongiques des fruits

L'identification de l'ensemble des isolats qui affectent les fruits est effectuée par deux observations : macroscopique et microscopiques.

#### III.2.3.1. Identification macroscopique

D'après Guiraud (1998), l'examen macroscopique permet de déterminer les caractères culturaux (aspect macroscopique) qui ont : la vitesse de croissance des colonies, la couleur des colonies et sa variation en fonction du temps, la texture de la surface, la couleur de l'envers des boîtes, et le changement de la couleur du milieu utilisé.

#### III.2.3.2. Identification microscopique

L'identification microscopique des champignons repose sur plusieurs méthodes, la plus utilisées est la suivante :

- Prélevé superficiellement, à l'aide d'une anse de platine stérile, un fragment de la colonie fongique.
- Déposer l'échantillon sur une lame, dans une goutte de bleu coton pour améliorer la qualité du contraste, et Recouvrir d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air.
- l'observation est réalisée aux différents grossissements du microscope ( $G \times 40$ ) jusqu'à l'immersion ( $G \times 100$ ).

Ce type d'identification est fondé essentiellement sur l'étude morphologique du mycélium

(Absence ou présence de colonies, couleur, mode de ramification différenciation des thallospores,..) et des spores (forme, couleur, texture des parois ....etc.) (Botton et *al.*, 1990).

### III.2.4 Conservation des Isolats

#### III.2.4.1 Préparation de milieu de conservation

-Pour la conservation des souches prélevées on a utilisé le milieu PDB avec glycérol (voir Annexe).

#### III.2.4.2 Méthode de conservation

La méthode de conservation des souches la plus communément utilisée, consiste à repiquer

Les souches en tube sur gélose liquide, les cultures sont maintenues pendant 7 jours à 28°C, puis Elles sont stockées à 4°C pour favoriser leur viabilité et limiter les possibilités de variations(Botton et *al*, 1990).

### **III.2.5. Réactivation de la souche d'antagoniste**

#### **III.2.5.1. Réactivation de la souche d'antagoniste à partir de la boîte congelé**

A partir d'une boîte de pétri conservée (congelé) de *Trichoderma harzianum*, des colonies fongiques tests sont revivifiées dans des boîtes de pétri qui contiennent le milieu de culture PDA.

#### **III.2.5.2. Réactivation de la souche d'antagoniste à partir de la poudre**

1 mg de la poudre sporale de *Trichoderma harzianum*, a été mélangé avec 10 ml d'eau distillés stérile pour l'obtention d'une suspension sporale. La solution préparée, a été ajusté à 10<sup>5</sup> spores/ml. En suite, 0.1 ml de cette solution a été dispersé sur la surface d'une boîte de pétri contenant 15 ml du milieu PDA.

### **III.2.6. Tests de lutte par *Trichoderma harzianum***

Le test de l'activité antifongique de l'isolat purifié, consiste à rechercher son effet antagoniste sur le développement des espèces pathogènes. Pour ce faire, deux tests de confrontations ont été utilisés.

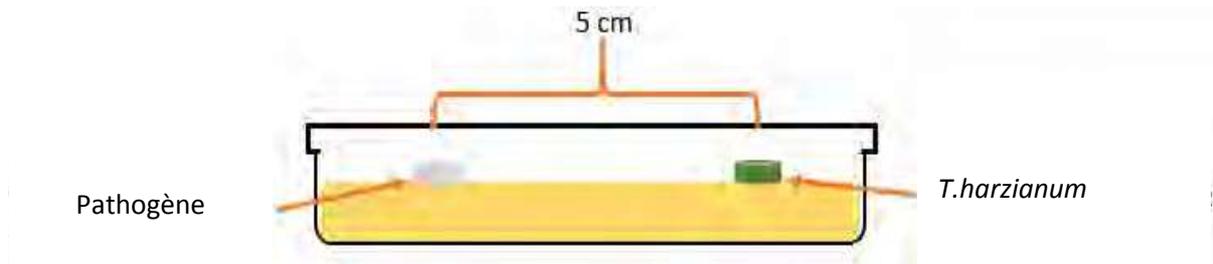
- La confrontation par contacte directe
- La confrontation à distance

#### **III.2.6.1. Test d'antagonisme par confrontation directe**

- Technique : Cette technique consiste à placer dans la même boîte de pétri contenant 15 ml de milieu (PDA) deux pastilles gélosées (5 mm de diamètre), l'une portant l'antagoniste à tester (*Trichoderma harzianum*) et l'autre le pathogène impliqué. Les des pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 5 cm et à équidistante du centre de la boîte (Figure 13).

Les repiquages sont effectués en même temps. L'incubation est réalisée à 28 °C pendant une semaine (Hibar et *al.*, 2005).

Le témoin est présenté par des boîtes de Pétri contenant uniquement le champignon pathogène.



**Figure 13:** Confrontation entre le pathogène et l'antagoniste par contact direct sur milieu PDA

- Evolution de la croissance mycélienne : la croissance mycélienne du pathogène est évaluée tous les jours, en mesurant sur le diamètre de la boîte de pétri, le rayon de pathogène se trouvant à côté de l'antagoniste. Cette évaluation est faite toutes les 24 heures pendant une semaine.
- Evaluation du pourcentage d'inhibition : l'évolution de l'inhibition exercée par *Trichoderma harzianum* est estimée par un pourcentage (%). Calculé Selon la formule proposé par SY (1976) (Vincent, 1990) :

$$IC \% = (DT - DPA / DT) \times 100$$

Ou :

DT : Croissance diamétrale du témoin ;

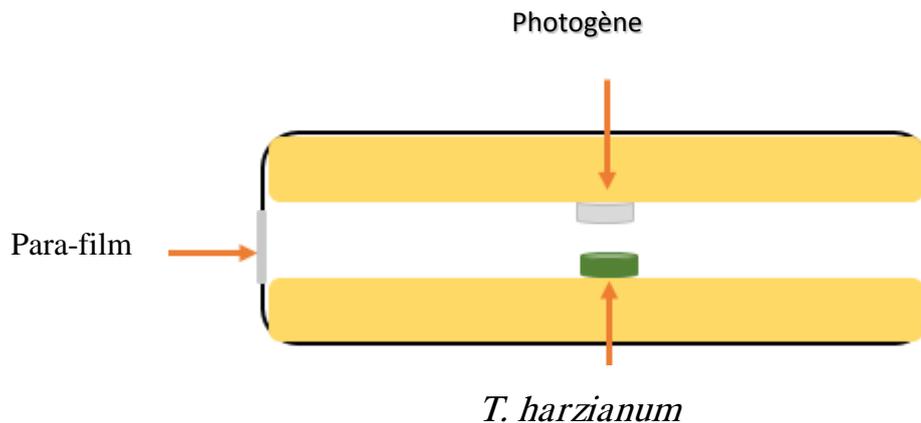
DPA : Croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste ;

IC % ; Inhibition de la croissance.

### III.2.6.2. Antagonisme par confrontation indirecte

- Technique : cette méthode consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par superposition des deux boîtes, l'antagoniste en bas et le pathogène en haut (Figure 14).

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de Para film afin d'évitera toute déperdition des substances volatiles (Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001) .Les conditions de culture sont identiques à celles de la confrontation par contact direct sur milieu de culture.



**Figure 14:** Confrontation indirecte entre le pathogène et l'antagoniste

- Evolution de la croissance mycélienne : la notation du diamètre moyen des colonies traitées est réalisée lorsque les filaments mycéliens atteignent la périphérie de la boîte dans les lots témoins.
- Evaluation du pourcentage d'inhibition : la notation du diamètre moyen des colonies traitées a été réalisée tous les jours pendant une semaine (Hmouni et *al.*, 1996). L'évolution de l'inhibition exercée par *Trichoderma harzianum* est estimée par la formule de SY (1976) (Vincent, 1990).

### III.2.7. Teste d'activité antifongique par métabolites secondaire

Cette méthode consiste à utiliser des métabolites qui sont issus d'une fermentation (Fournis par le laboratoire). Après la préparation de la suspension sporale de chaque pathogène, trois disques imbibés par des métabolites secondaires, ont été déposés sur une boîte pétrie contenant 15 ml de milieu PDA, tout en respectant la distance de dépôt des disques. L'incubation des boîtes a été effectuée à 28 °C pendant 7 jours.

### III.2.8. Tests de lutte chimique par les fongicides

#### III.2.8.1. La préparation des fongicides

La concentration des produits chimiques à utiliser a été déterminée à partir de la fiche technique de leurs emballages. Pour chaque fongicide, 1g de la poudre a été mélangé avec 1000 ml de l'eau distillé (Figure 15).



Figure 15 : fongicides prêts à l'emploi

### III.2.8.2. Test d'antagonisme par les fongicides

Après ensemencement de chaque suspension sporale (correspondant à un pathogène donnée) sur la surface des boîtes pétri, trois disques imbibés dans les deux fongicides sont déposés dans les boîtes à l'aide d'une pince stérile en respectant la distance. Les boîtes ainsi préparées ont été incubées pendant 7 jours à une température de 28 °C. Et au fur et à mesure les diamètres d'inhibition sont mesurés.

---

## V.conclusion

Le présent travail a porté sur la comparaison de l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de deux fongicides chimique (la Bouille Boredelaise Vallès, Carbistin).

En effet, quatre champignons pathogènes ont été isolés à partir de différentes organes de fruits endommagés (infectés) à savoir : la Fraïse, orange et pomme.

L'identification de ces agents pathogènes a été effectuée selon les caractères macroscopiques et microscopiques, au sein du laboratoire du LaMyBAM (Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne). Les résultats obtenus ont montré qu'ils appartiennent aux genres : *Fusarium*, *Alternaria* et *Penicillium*.

En effet, les tests d'antagonismes menés contre ces quatre isolats pathogènes avec différents méthodes de confrontations, ont donné des résultats positifs en moyennant une souche de *Trichoderma harzianum* comme souche antagoniste.

Par ailleurs, l'activité antifongique par les métabolites secondaires de *T.harzianum*, a donné des résultats aussi satisfaisants (jusqu'à 47mm de diamètre).

L'utilisation de la Bouille Boredelaise Vallès, Carbistin). Autant que fongicides chimiques dans des essais de lutte *In Vitro*, a donné des résultats d'inhibition faible.

Les tests d'antagonismes réalisés, montrent l'efficacité de *Trichoderma harzianum* dans la lutte biologique, quoi que, dans beaucoup des cas, l'utilisation des fongicides chimiques est le seul moyen de lutter contre les maladies des fruits et des plantes (ils inhibent la germination, la croissance et/ou la multiplication des pathogènes).

En conclusion, les résultats de cette modeste recherche nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel antagoniste de *Trichoderma* à l'égard des isolats d'espèces *Fusarium*, *Alternerai* et *Penicillium* testées.

De se fait, il serait peut être intéressant de fixé les perspectives suivants comme suite de ce travail :

- Approfondir l'étude sur les conditions de contaminations des fruits dans l'objectif de les prévenir.
- Etendre l'expérimentation sur d'autres isolats phytopathogènes et autres fruits.
- Purifier et identifier les métabolites secondaires actifs des *Trichoderma*.
- Recherche de nouveaux antagonistes.



## IV. Résultats et Discussion

Le présent travail, porte sur l'évaluation de l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de deux fongicides chimiques (La Bouille Boredelaise Vallés et Le Carbistin) vis-à-vis de quatre myco-pathogènes isolés à partir des fruits (Fraise, Orange et Pomme).

### IV.1. Isolement et purification de l'agent pathogène

Initialement quatre souches fongiques ont été isolées à partir des fruits déjà collectés. Les différentes observations sur l'aspect macroscopique des isolats de fruits contaminés (fraise, orange, pomme) ont été porté sur la couleur et la forme.

Les caractères macroscopiques des différents aspects des fruits contaminés sont comme suit :

- **Les fraises** : la contamination se manifeste sur les fruits de fraise par, l'apparition d'un feutrage gris sur la partie bas, des taches brunes et on peut aussi observer une pourriture blanche (Figure16).



**Figure16** : photo représente une fraise contaminée

- **Les oranges** : sur la surface du fruit, une pourriture grise –verte a été observée. La pourriture été arrondie et étroitement circonscrite de blanc, provoquant la déliquescence et l'altération de l'orange (Figure 17).



**Figure17** : photos représentes des oranges contaminées

- **Les pommes** : au centre de la pomme, on a détecté des taches brunes avec un développement d'une pourriture (Figure18).



**Figure18** : photo représente une pomme contaminée

Donc ces fruits peuvent être attaqués par plusieurs maladies fongiques (les attaques des différents champignons).

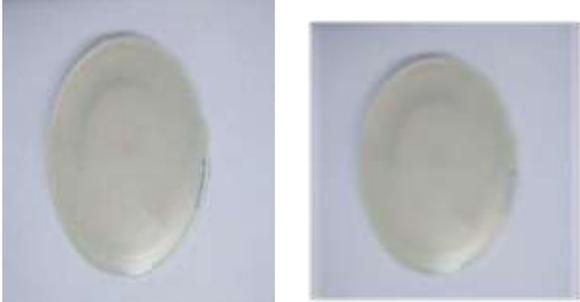
- La pourriture grise de la fraise est provoquée par le champignon *Botrytis cinerea*.
- La pourriture verte et la pourriture bleue des oranges sont provoquées par le *Penicilium digitatum* et le *Penicilium italicum*.
- La pourriture de la pomme est provoquée par le *Penicillium*.

#### **IV.2.1. Identification macroscopique**

Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés ont été étudiés sur le milieu PDA. Le Tableau 04 résume l'aspect du mycélium des souches purifiées : la consistance des colonies, la couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

Les critères de ces genres correspondant parfaitement à ceux décrits par Botton (1990), Samson et ses collaborateurs (1981), Guiraud (1998), Lyril et ses collaborateurs (1998), ainsi que celles de Chabasse et ses collaborateurs (2002).

**Tableau 4** : Isolats fongique des échantillons des fruits contaminés.

Code	Observation macroscopique sur milieu PDA après 7 jours D'incubation (Recto et Verso)	Caractères macroscopiques
Souche 1		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonie blanchâtre.</li> <li>- Cotonneuse astérisque.</li> <li>- Mycélium aérien blanc.</li> <li>- Mycélium de substrat est Beige à brun.</li> </ul>
Souche 2		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonie Veloutée à poudreuse irrégulière.</li> <li>- Mycélium gris à noir.</li> </ul>
Souche 3		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonie Veloutée à poudreuse irrégulière.</li> <li>- Mycélium aérien vert</li> <li>- Mycélium de substrat Brun verdâtre</li> </ul>
Souche 4		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Colonie Veloutée à poudreuse irrégulière.</li> <li>- Mycélium aérien vert</li> <li>- Mycélium de substrat brun verdâtre.</li> </ul>

Sur l'ensemble des échantillons collectés, nous avons pu isoler quatre souches fongiques appartenant à 3 genres. Ces genres sont :

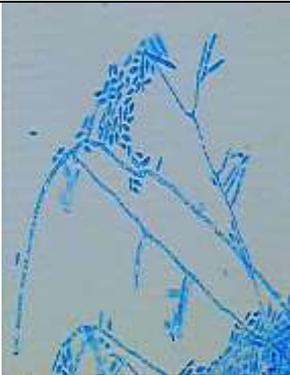
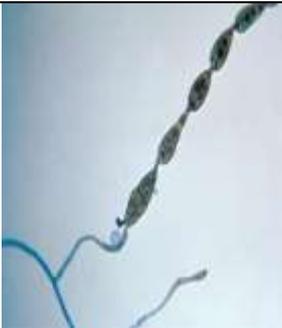
- ***Fusarium sp*** : le principal caractère morphologique de ce genre est la présence des macroconidies fusiformes et cloisonnées. En effet, le nom de *Fusarium* vient de latin « *fucus* » car les spores de ces moisissures sont en forme de fuseau (Tabuc, 2007).
- ***Alternaria sp*** : les études de Chabasse et ses collaborateurs (2002) montrent que les Conidies d'*Alternaria* sont brunes, pluricellulaires, d'aspect puriforme ou ovoïde, avec une partie basale arrondie et une extrémité apicale allongé en bec plus ou moins important. Ce sont des dictyospores. A maturité, elles présentent à la fois des cloisons transversales, obliques ou longitudinales. Ces spores à parois lisse et de taille importante sont disposées en chaînes.
- ***Penicillium sp*** : les conidies produites sont par des phialides groupées en verticilles à l'extrémité non dilatée d'un conidiophore fin et cloisonné, phialides à col peu développés disposées en pinceaux serrés.

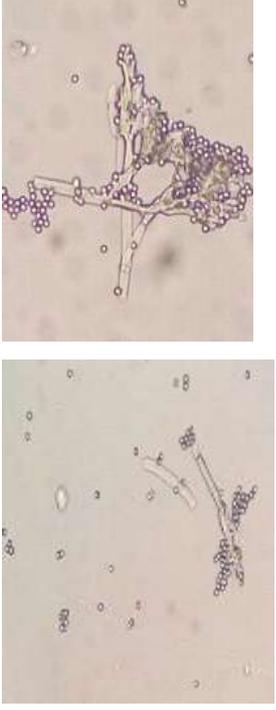
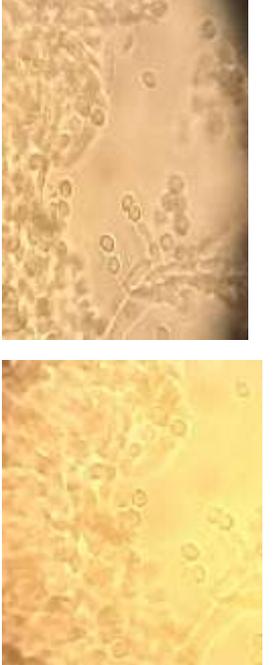
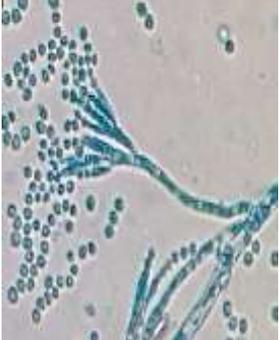
### IV.2.2 Identification microscopique

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des quatre isolats pathogènes sélectionnés (conidiophores, conidies, mycélium etc. ...).

Les différents aspects microscopiques des isolats sont récapitulés dans le Tableau 05.

**Tableau 05** : Etude Microscopique des isolats pathogènes sélectionnés et l'identification présumée.

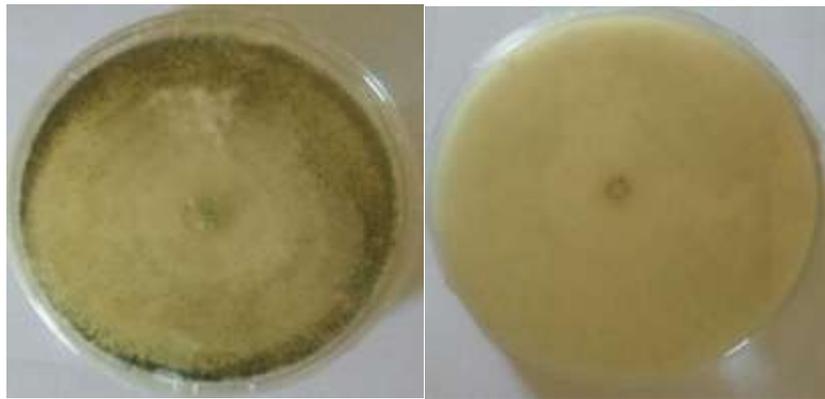
Code	Aspect microscopique obtenu (nous résultats)	Photos microscopiques de référence	Caractères microscopiques	Identification présumée
Souche 1	 	 (Chabasse, 2002)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Filament septé.</li> <li>- Macroconidies fusiformes,</li> <li>- Microconidies ovoïdes.</li> <li>- Phialides cylindriques solitaires ou groupées.</li> </ul>	<i>Fusarium sp</i>
Souche 2	 	 (Chabasse, 2002)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Filament septé.</li> <li>- Macroconidies marron arrondies à l'extrémité et allongées à l'autre à des cloisons longitudinales et transversales, disposées en chaînes.</li> </ul>	<i>Alternaria sp</i>

<p>Souche 3</p>		 <p>(Chabasse, 2002)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Filament septé ramifié.</li> <li>- Conidies produites par des phialides groupées en verticilles à l'extrémité non dilatée d'un conidiophore fin et cloisonné (disposition en pinceau).</li> <li>- Phialides à col peu développés disposées en pinceau serrés</li> </ul>	<p><i>Penicillium</i> <i>sp1</i></p>
<p>Souche 4</p>		 <p>(Chabasse, 2002)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Filament septé ramifié.</li> <li>- Conidies avec des phialides groupées en verticilles à l'extrémité non dilatée d'un conidiophore fin et cloisonné.</li> <li>- Phialides à col peu développés disposées en pinceau serrés.</li> </ul>	<p><i>Penicillium</i> <i>sp 2</i></p>

### IV.3. Lutte par *Trichoderma harzianum*

#### IV.3.1. La souche antagoniste après purification ( une confirmation)

La souche antagoniste *Trichoderma harzianum*, repiqué sur milieu PDA a montré une croissance rapide et extensive, avec un aspect laineux de couleur blanche au départ, puis verte avec le temps (Figure19). Ces différents critères présentés par la souche antagoniste *Trichoderma harzianum* se rapprochent énormément à ceux qui été cité par Cournut, 1984 ; Landreau, 2001 ; Kubicek et *al.* 2003.



**Figure 19** : Aspect macroscopique de *Trichoderma harzianum*.

L'observation microscopique du *T. harzianum*, a révélée des conidies unicellulaires globuleuses, phialides en forme de quille, verticillés sur des conidiophores ramifiés à angle droit ou sur leurs branches latérales (Figure 20).



**Figure 20** : Aspect microscopique de *Trichoderma harzianum*.

### IV.3.2 Test d'antagonisme

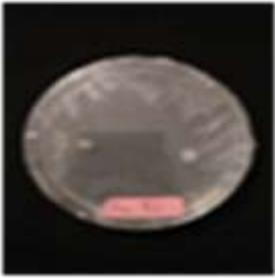
Après isolement et identification des souches fongiques obtenue à partir des fruits contaminés, on a procédé à des tests d'antagonisme en utilisant une souche de *Trichoderma harzianum* élaborée par le Laboratoire de Mycologie de Biotechnologie et Activité Microbienne (La MyBAM).

Pour ce faire, quatre souches pathogènes ont été utilisées pour deux types de test : la Confrontation directe et la confrontation indirecte. Ces isolats sont : *Fusarium sp*, *Alternaria sp*, *Penicillium sp1* ; *Penicillium sp2*.

- Test de confrontation direct : ce test a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur du *Trichoderma harzianum*, exercé sur les quatre isolats fongiques pathogènes. Les résultats de la confrontation directe entre la souche *Trichoderma harzianum* et les isolats fongiques montrent que, la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante en comparaison à ceux obtenus avec les différentes confrontations directes. Après 7 jours d'incubation, les boîtes sont totalement envahies par l'antagoniste, alors que les isolats de pathogènes n'occupent qu'une surface variant de 25 à 34 mm de diamètre, ce qui correspond à une inhibition de croissance mycélienne supérieure à 50 %. Le témoin des souches pathogènes occupe une surface variant de 62 à 70 mm de diamètre. En effet, le calcul de taux d'inhibition montre que toutes les souches de pathogènes sont inhibées à plus de 50%. (Tableau 06).

Ces résultats sont en parfaite conformité avec ceux obtenus par Albouvette et *al.* (1983) Dubot (1985) et Davet (1996) qui ont montré que la croissance de *Trichoderma harzianum* est plus rapide que celle du pathogène, de ce fait, elle colonise le milieu nutritif et assimile les éléments nutritifs, c'est le phénomène appelé compétition. Ces résultats peuvent être aussi expliquée par le mécanisme d'antibiose, qui est due à la sécrétion de substances agissant comme étant des antibiotiques et qui inhibent aussi la croissance du pathogène.

**Tableau 06** : l'effet de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de chaque agent pathogène après 7 jours d'incubation par confrontation directe.

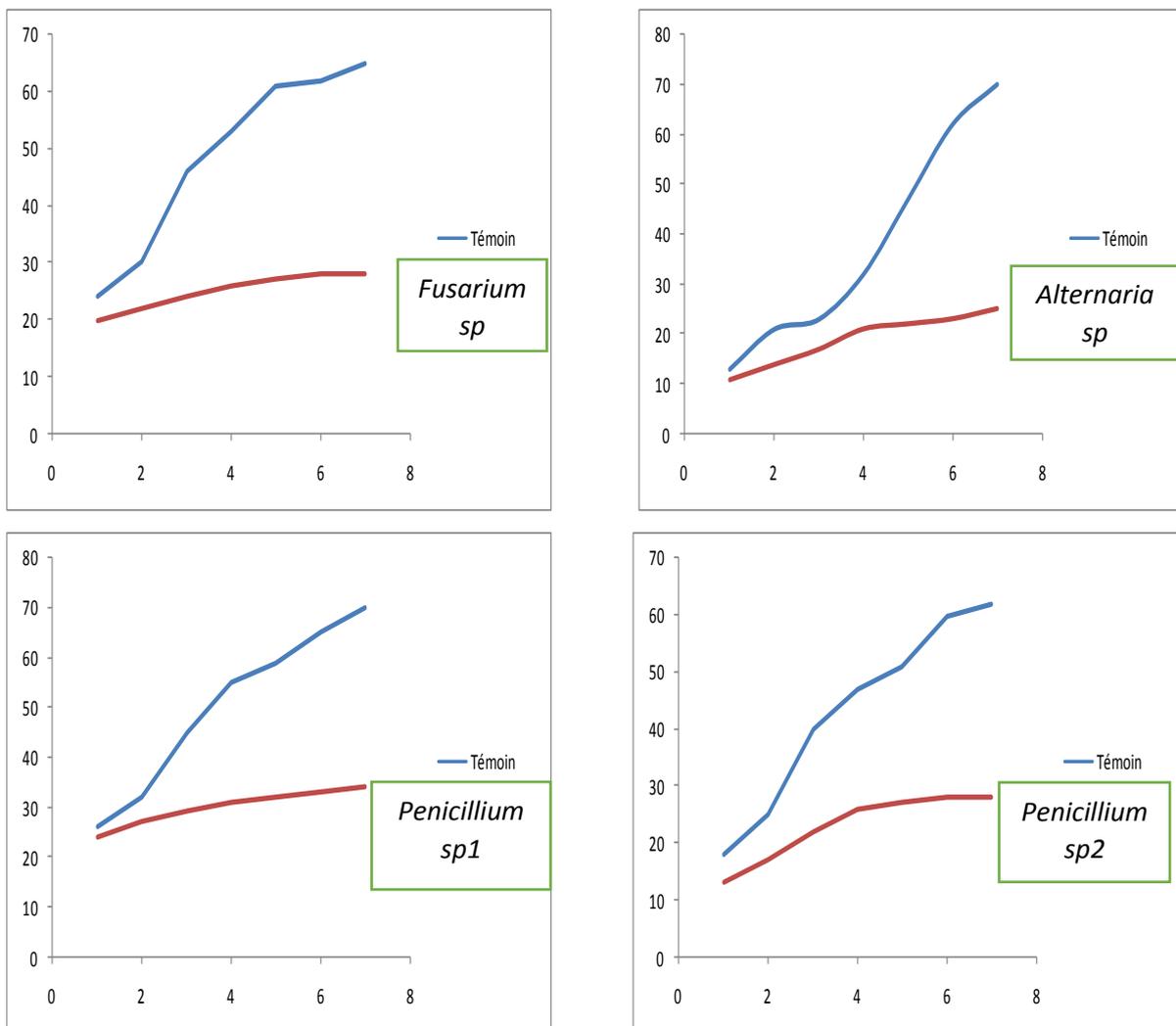
Isolat	Avant incybaton	Résultats de tests d'antagoniste directe (Recto et Verso)	Pourcentage d'inhibition
1		  <p><i>Fusarium</i></p>	57%
2		  <p><i>Alternaria</i></p>	64%
3		  <p><i>Penicilium sp 1</i></p>	51%
4		  <p><i>Penicilium sp 2</i></p>	61%

La croissance de certaine souche (*Fusarium sp* et *Pencillium sp1*) est très lente dans le cas de confrontation directe, ceci est justifié par le fait que l'antagoniste montre une capacité d'arrêter le développement du parasite avec formation d'une zone d'inhibition entre les colonies confrontées avec une largeur variable selon l'isolat.

Ces observations sont en accord avec les études précédemment réalisée par Haran *et al* (1996), Zhihe *et al.* (1998) qui ont prouvé que *Trichoderma sp* produit des substances qui agissent comme des antibiotiques et qui inhibent la croissance d'agents pathogènes.

La figures 21, montre les résultats des confrontations directes de la souche *Trichoderma harzianum* et les 4 isolats à partir de la mesure de Diamètre des colonies après sept jours d'incubation à 25°C comparativement au témoin.

CD :Confrenttaion directe

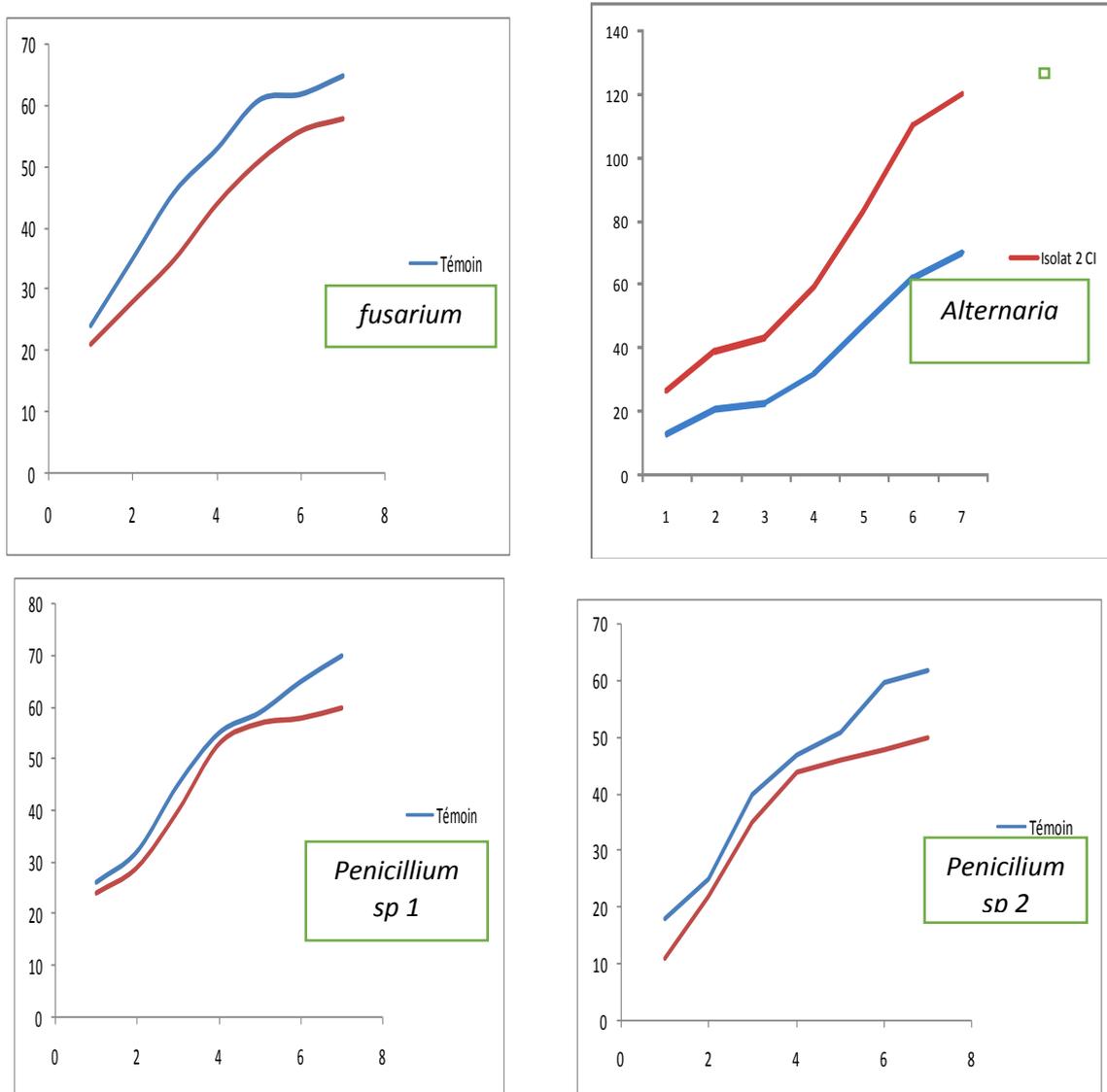


**Figure 21** : Suivi de la croissance des différents pathogènes en présence de *Trichoderma harzianum* (cas de confrontation directe).

- La confrontation indirecte : les résultats obtenus suite aux différentes confrontations indirectes, montrent un ralentissement de la croissance mycélienne des isolats de pathogènes (*Fusarium sp* ; *Alternaria sp* ; *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*) exercé par la souche antagoniste de *Trichoderma harzianum* comparativement aux témoins. Il ressort de ces résultats que, malgré l'absence d'un contact direct entre les isolats pathogènes et l'antagoniste testé, ce dernier a pu exercer un effet inhibiteur sur le développement des colonies pathogènes.

Après sept jours d'incubation à 28°C, le diamètre moyen des colonies est 58 mm pour l'isolat *Fusarium* se qui présente une inhibition de l'ordre de 11%, 50 mm pour la souche *Alternaria* avec un taux d'inhibition de l'ordre de 29% et pour l'isolat *Penicillium sp1* et *Penicillium sp 2* le diamètre est de 28 et 50 mm respectivement, avec un pourcentage d'inhibition de 14% et 19% (Figure22).

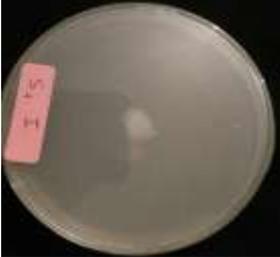
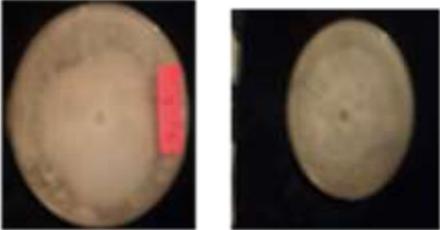
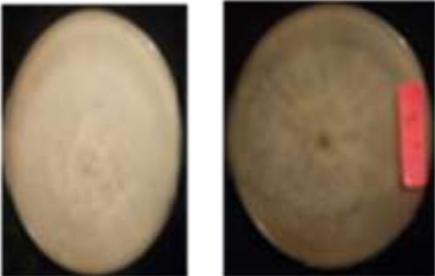
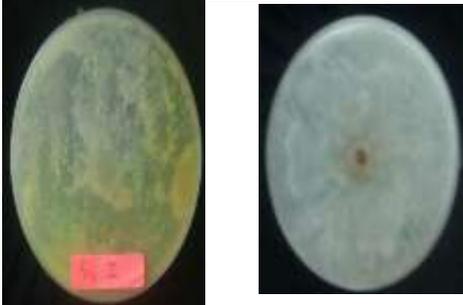
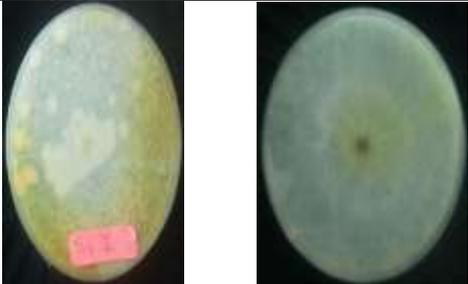
CI : Confrontation indirecte



**Figure 22:** Suivi de la croissance des différents pathogènes en présence de *Trichoderma harzianum* (cas de confrontation indirecte).

Cette confrontation a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur (à distance) du *Trichoderma harzianum* exercé sur les isolats pathogènes. Cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies et l'estimation des pourcentages d'inhibition des pathogènes cultivés en présence de l'antagoniste (Tableau 7).

**Tableau 7 :** l'effet de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de chaque agent pathogène après 7 d'incubation par confrontation indirecte.

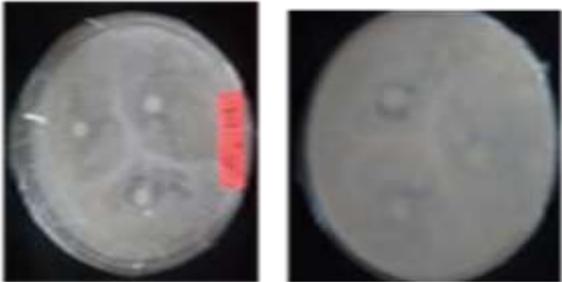
Isolat	Avant incubation	Après incubation (Recto et Verso)	Pourcentage
1		 <i>Fusarium</i>	11%
2		 <i>Alternaria</i>	29%
3		 <i>Penicilium sp1</i>	14%
4		 <i>Penicilium sp2</i>	27%

#### **IV.3.3 Test d'activité antifongique par les métabolites secondaires**

La mise en évidence de l'activité antifongique, de *Trichoderma harzianum* consiste à rechercher leurs effets antagonistes par diffusion de son métabolite secondaire sur la croissance des souches pathogènes.

Le tableau 08 résume les résultats des différents tests effectués.

**Tableau 08 :** l'effet de *Trichoderma harzianum* sur la croissance mycélienne de chaque agent pathogène après 7 d'incubation avec métabolites secondaires.

Isolat	Avant incubation	Après incubation (Recto et verso)
1		 <p data-bbox="1008 766 1133 801">Fusarium</p>
2		 <p data-bbox="944 1160 1197 1196">Boites contaminées</p>
3		 <p data-bbox="973 1552 1168 1588">Penicilium sp1</p>
4		 <p data-bbox="973 1973 1171 2009">Penicilium sp2</p>

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que, les métabolites secondaires en question ont une activité inhibitrice importante sur les souches pathogènes. En effet, sur la boîte de fraise on a obtenu des diamètres d'inhibition variés de 16 à 47 mm et sur la poite de pomme on a obtenu des diamètres d'inhibition variés de 7 à 13 mm, sur la poite d'orange on a obtenu des diamètres d'inhibition variés de 7 à 12.

La production de métabolites secondaires par différentes espèces de *Trichoderma sp* est bien documentée. Il a été rapporté que *Trichoderma sp*. Produire une large gamme de substances volatils et non volatils et des substances antibiotiques (Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998, Vyas et Mathur, 2002).

#### IV.3.4. Test d'antagoniste par produits chimiques (fongicides)

L'évaluation de la croissance mycélienne est estimée par la mesure d'accroissement mycélien en fonction de deux fongicide chimique à partir de la mesure de diamètre des colonies après sept jours d'incubation à 28°C.

- BBV : après incubation des boîtes de Pétri contenant le fongicide chimique (disque de BBV) et l'un des pathogènes (solution sporale), les résultats obtenus (Tableau9) montrent, l'apparition de faible zone de lyse ( 6 à 8 mm) au tour des disques du fongicide. Ces zones de lyse sont expliquer par l'inhibition exercé par le fongicide sur le pathogène.

**Tableau 9 :** Résultats d'inhibitions de la croissance mycélienne des quatre pathogènes par le fongicide BBV.

Isolats	Avant incubation	Après incubation	
1			 <p data-bbox="903 573 1070 607" style="text-align: center;"><i>Fusarium sp</i></p>
2			 <p data-bbox="887 981 1062 1014" style="text-align: center;"><i>Alternaria sp</i></p>
3			 <p data-bbox="863 1440 1070 1473" style="text-align: center;"><i>Penicillium sp1</i></p>
4			 <p data-bbox="863 1821 1070 1854" style="text-align: center;"><i>Penicillium sp2</i></p>

➤ CARBIS : le diamètre d'inhibition due à l'effet de CARBIS sur la croissance de : *Penicillium sp1*, *Penicillium sp2*, *Alternaria sp* et *Fusarium sp* ; à varié de 7 à 12 mm

(Tableau 10). Ces résultats dévoilent que le taux d'inhibition est faible par rapport à celui de *Trichoderma harzianum* et similaire à celui de BBV.

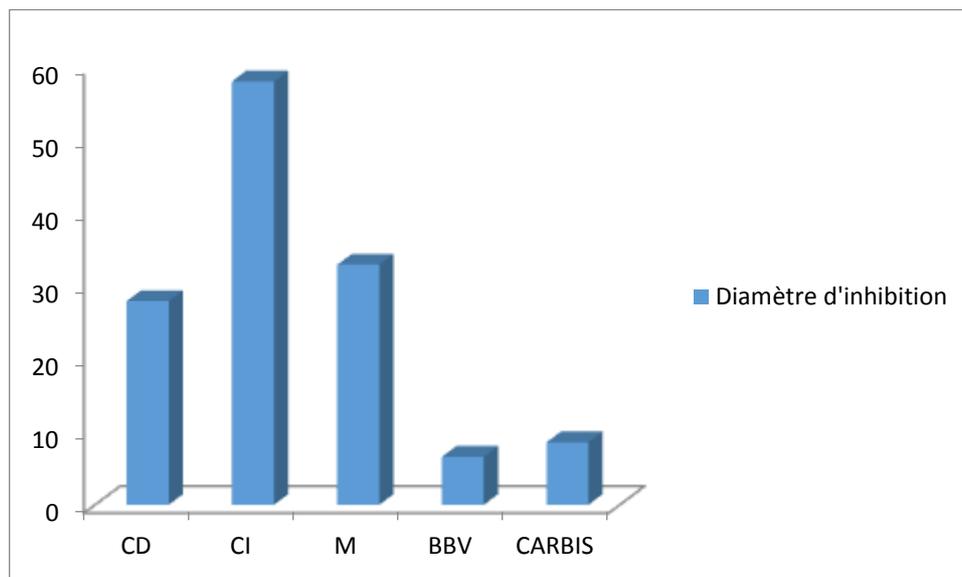
**Tableau 10 :** Test d'inhibition sur la croissance mycélienne des 4 pathogènes sous l'effet de fongicide CARBIS.

Isolats	Avant incubation	Après incubation (Recto et verso)	
1			
		<i>Fusarium sp</i>	
2			
		<i>Alternaria sp</i>	
3			
		<i>Penicillium sp1</i>	
4			
		<i>Penicillium sp2</i>	

**IV.3.5 Comparaison entre l'effet antagoniste de *Trichoderma harzianum* et les deux fongicides chimiques (Bouille Boredelaise Vallés et Carbistin) :**

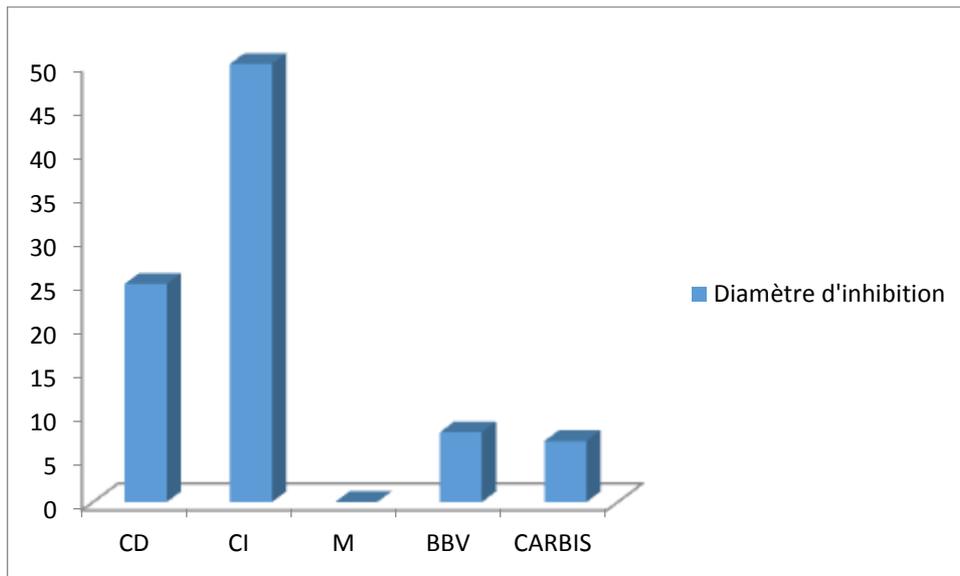
L'effet inhibiteur exercé par *Trichoderma harzianum* ou ses métabolites secondaires par rapport à celui des fongicides chimique varie. Ces variations sont démontrées dans ce qui suit :

- *Fusarium sp* : les résultats de mesure de diamètre lors différents tests de lutte (Figure 23) montrent que l'effet du mycélium de *T. harzianum* par confrontation à distance est plus important que les autres effets, suivie par les métabolites secondaire puis le contact directe et en fin les deux fongicides. Ces résultats explique que *T. harzianum* agit sur *Fusarium sp* par le biais des métabolites volatiles et autres métabolites qui peuvent êtres des enzymes.



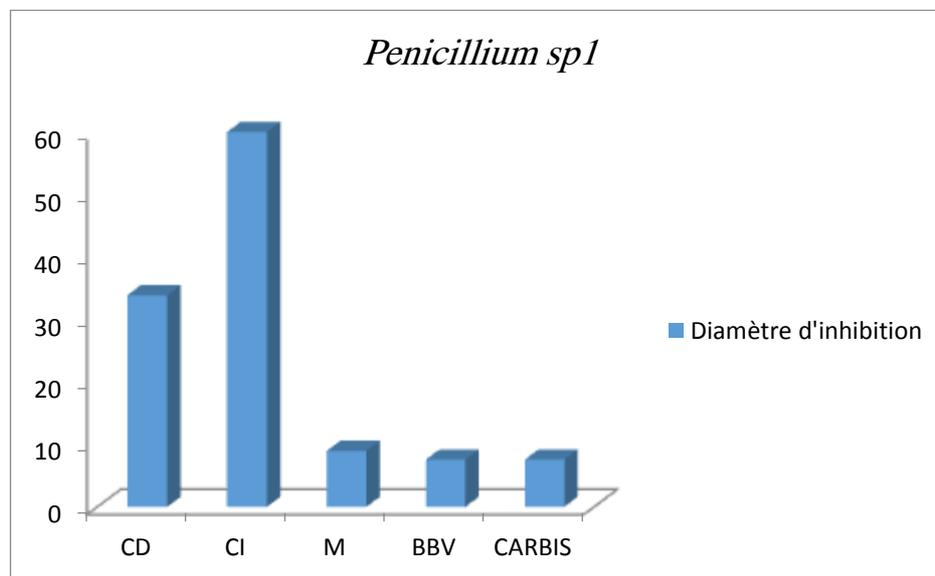
**Figure 24** : Estimation des diamètres d'inhibition de *Fusarium sp* en fonction des différents tests. Après sept jours d'incubation. CD : confrontation directe ; CI : confrontation indirecte ; M : métabolite ; BBV : Bouille Boredelaise Vallés ; Carbis : Carbistin.

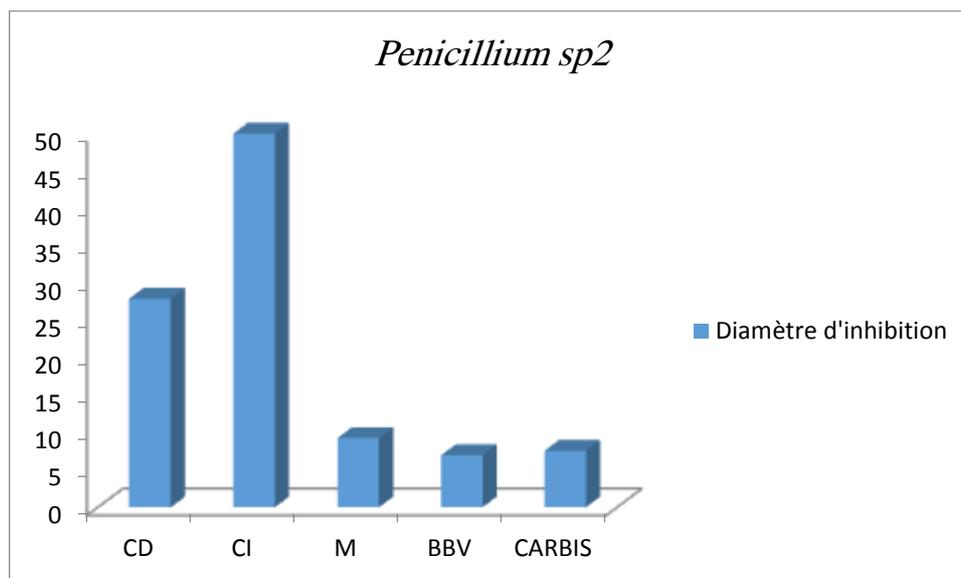
- *Alternaria sp* : les résultats exposés dans la Figure 23 montrent que, l'effet de *T. harzianum* est plus significatif avec les métabolites volatiles en comparaison avec l'effet direct du mycélium et les fongicides chimique.



**Figure 25 :** Estimation des diamètres d'inhibition d'*Alternaria sp* en fonction des tests. Après sept jours d'incubation. CD : confrontation directe ; CI : confrontation indirecte ; M : métabolite ; BBV : Bouille Boredelaise Vallés ; Carbis : Carbistin.

- *Penicillium sp1* et *Penicillium sp2* : les diamètres d'inhibition obtenus aux septième jours d'incubation Figure 24 montrent que, la croissance de *Penicillium sp* (les deux isolats) est plus importante en présence des métabolites de *Trichoderma harzianum*, BBV et CARBIS qu'en cas des confrontations avec le mycélium.





**Figure 26 :** Estimation des diamètres d'inhibition de *Penicillium sp1* *Penicillium sp1* en fonction des tests. Après sept jours d'incubation. .CD : confrontation directe ; CI : confrontation indirecte ; M : métabolite ; BBV : Bouille Boredelaise Vallés ; Carbis : Carbistin.

## Résumé

La présente étude a été effectuée dans le but de comparer l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de deux fongicides chimiques : La Bouillie Boredelaise Vallés et le Carbistin.

Les champignons du genre *Fusarium*, *Alternaria* et *penicilium* ont été isolés à partir de la fraise, l'orange et la pomme jugées contaminés ; l'identification du genre a été effectuée selon les caractères macroscopiques et microscopiques.

La lutte biologique contre ces phytopathogènes, est mise en évidence par l'utilisation de deux méthodes de confrontations, en utilisant la souche du genre *Trichoderma*. Les résultats des différentes confrontations ont montré que, *Trichoderma harzianum* a pu inhiber la croissance mycélienne des pathogènes avec un pourcentage supérieur à 50 % par rapport au témoin dans le cas de confrontation directe. Alors que, les résultats de la confrontation à distance montrent des pourcentages d'inhibition variant de 11 % à 20% avec tous les champignons isolés. Aussi, les tests de lutte par les métabolites secondaires de *Trichoderma* ont montré un effet très positif vis-à-vis des isolats pathogènes.

Par ailleurs, les tests de lutte utilisant les fongicides chimiques (La Bouillie Boredelaise Vallés et le Carbistin) ; ont donné des zones d'inhibition variant de 6% à 9%. Ces résultats sont moins importants en comparaison de ceux obtenus par l'antagoniste biologique.

**Mots clés** : *Trichoderma harzianum*, fongicide biologique de *Trichoderma harzianum*, fongicide chimique.



## Summary

The present study was carried out in order to compare the fungicidal effect of *Trichoderma harzianum* with that of two chemical fungicides: Bouillie Boredelaise Vallés and Carbistin. *Fusarium*, *Alternaria* and *penicillium* fungi were isolated from the strawberry, orange and apple found to be contaminated; the identification of the genus was carried out according to the macroscopic and microscopic characteristics. The biological control of these plant pathogens is demonstrated by the use of two methods of comparison using the *Trichoderma* strain. The results of the various tests showed that *Trichoderma harzianum* was able to inhibit the mycelia growth of pathogens with a percentage Greater than 50% relative to the controls in the case of direct confrontation. While the results of the remote confrontation show inhibition percentages ranging from 11% to 20% with all the fungi isolated. In addition, *Trichoderma* secondary metabolite control tests have shown a very positive effect on pathogenic isolates. In addition, control tests using chemical fungicides (the Bouillie Boredelaise Vallés and the Carbistin); Gave zones of inhibition varying from 6% to percentage 9 %. These results are less important in comparison with those obtained by the biological antagonist.

**Key words:** *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma harzianum* biological fungicide, chemical fungicide.

## الملخص:

قد أجريت هذه الدراسة بهدف مقارنة تأثير فطريات الترايكوديرما من نوع *harzianum* والمبيدات الفطرية الكيميائية اثنتين هما: *Carbistin* و *Bouillie Boredelaise*.

الفطريات من جنس *Fusarium, Alternaria et Penicilium* عزلها من الفراولة والبرتقال والتفاح الملوثة. وجرى تحديد نوع الجنس وفقا للملاحظة العيانية و الفحص المجهرى. المكافحة البيولوجية ضد ممرض للنبات، والتي أبرزها أساليب مواجهات استخدام وسيلتين، وذلك باستخدام سلالة من جنس *Trichoderma.les* من مختلف المواجهات حيث الترايكوديرما *harzianum* يمكن أن تمنع نمو فطر من مسببات الأمراض بنسبة أكثر من 50% مقارنة مع الضوابط في حالة المواجهة المباشرة ونتائج النسب تظهر المواجهة النائية من تثبيط تتراوح من 11% إلى 20% مع الفطريات المعزولة. أيضا، اختبار مراقبة من قبل المركبات الثانوية الترايكوديرما أظهرت له أثر إيجابي جدا وجها لوجه السلالات الممرضة.

و لهذا اختبارات للسيطرة على استخدام المبيدات الفطرية الكيميائية ( *Bouillie Boredelaise* فالييس و *Carbistin*)؛ أعطى مناطق تثبيط تتراوح بين 6% إلى نتائج. هذه 9% أقل أهمية مقارنة مع تلك التي حصل عليها خصم البيولوجي.

**كلمات البحث:** *harzianum* الترايكوديرما، *harzianum* الترايكوديرما فطريات البيولوجي، فطريات الكيميائية.

## Annexe

### Composition des milieux de culture

#### PDA : milieu d'extrait de pomme de terre, de dextrose et d'agar

-pomme de terre	200g
-Eau distillée	500 ml

Après chauffage, récupérer le filtrat et ajouter

-Glucose	20g
-Agar	20g
-Eau distillée	1000 ml

pH = 6

#### Milieu Czapek DOX

-Saccharose	30 g
-NaNO <sub>3</sub>	3 g
-K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
-MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O	0,5 g
-KCL	0,5 g
-FeSO <sub>4</sub>	0,01 g
-Agar	20 g

-Eau distillée	1000 ml
----------------	---------

pH = 7,3

#### Milieu Sabouraud -chloramphénicol

-Peptone	10 g
-Glucose	20 g
-Agar	20 g
-Chloramphénicol	0,5 g
-Eau distillée	1000 ml

pH = 5 - 5,6

Les milieux sont stérilisés à 120°C pendant 20 minutes.

**MEA (Malt Extrait Agar)**

-Extrait de Malt	20 g
-Glucose	5 g
-Agar	15 g
-Eau distillée	1000 ml

pH = 5

**Milieu de conservation**

Pommes de terre	50 g
Glycerol	75 mL
D- Glucose	5 g
Eau distillée	250 mL

**Colorant des milieux de culture****Bleu au lactophénol**

-Phénol cristallisé pur	10 g
-Acide lactique	10 g
-Glycérine	20 g
-Bleu CotonC4B (ou Bleu de Méthyle)	0,25 g
-Eau distillée	10 ml

## Références bibliographiques

**1-Abdelaziz W., (2006) :** Isolement des mycètes producteurs de substances anti bactériennes à partir des soles sahariens, Mémoire en Magister En microbiologie et biochimie appliquées, sous la direction de Mr KACEM CHAUCHE, université Constantine 01, 2006,135 p.

**2-ACTA (ASSOCIATION DE COORDINATION TECHNIQUE AGRICOL),(1980).** *Guide pratique de défense des cultures : Reconnaissances des ennemis notions de protection des cultures.* 3eme éd.Paris : R.bailly, le carrousel. Chapitre, les organismes auxiliaires, p. 70-80, Chapitre, Ennemis communs, p. 106-109.

**3-Aksoz E.,(1990).** Production of polyglacturonase by *Bacillus subtilis* cultured with waste and residues as carbon sources. *Mikrobiol.Bul.* **24(3):** 262-271.

**4-Alabouvette, C ; Couteaudier, Y et Lotjvert , J ,1983.** Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, pp 7-16. XXIV. Colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).

**5-Anonyme, (2010) :** la défense des cultures.Chapitre 4 et 5. p : 33-45.

**6-Barker T.W. and Worgan J.T., (1981).** The application of air .Lift fermenters to the cultivation of filamentous fungi. *Europeen J. App. Microbiol. Biotechnol.* **13 :** 77-83.

**7-BASF, (2017).** Parasite : Fusarioses. [En ligne].

[http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/services\\_et\\_outils/outils/lexique\\_des\\_parasites/pest\\_information\\_detailpage\\_43657.html](http://www.agro.basf.fr/agroportal/fr/fr/services_et_outils/outils/lexique_des_parasites/pest_information_detailpage_43657.html) (consulté le /04/2017).

**8-Benhamou N., Chet I.,(1997).** Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. microbiol.* **63,** p. 2095-2099.

**9-Benserradj O.,(2014) :**Evaluation de *Metarhizium anisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques ,Thèse de doctorat En biotechnologie ,biologie et environnement , sous la direction de Mme MIHOUBI.I ,université Constantine 01 ,2014,208 p.

**10-Besselat B., (1985).** *Résultats obtenus par le service de la protection des végétaux dans le cadre de la lutte contre la pourriture grise de la vigne avec utilisation du Trichoderma.* Paris : INRA.

**11-Bissett J.,(2004).** Commentaires de l'adresse internet suivante :

[http://www.Medicalglossaryorg/fungi\\_microscopic\\_fungi\\_definition.html](http://www.Medicalglossaryorg/fungi_microscopic_fungi_definition.html).

**12-BAHA.,( 2009) -** Fiche variétale d'agrumes. Maroc, n° 14377, p. 25.

- 13-Botton B.; Bretton A.; Fever M.; Gautier S.; Guy Ph ., Larpent J.P.; Reymond P.; Sanglier J-J.; Vayssier Y and V eau P.,(1990).** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris .
- 14-Cahagnier, B. ; Richard-Molard, D.,(1998).** Analyse mycologique in Moisissures des alimente peu hydratés. Éd. Tec and Doc. P. 140-158.
- 15-Camporta P.,(1985).** Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Agronomie* 5(7) : 613-620.
- 16-Carlos Garrido;Franciso J.Fernandez –Acero ;Maria Carbu; Victore E., (2012).** «Molecular Microbiology Applied to the study of Phytopathogenic Fungi», dans Sameh Magdeldin Gel Electrophoresis – Advanced Techniques. (Lire en ligne).
- 17-Chabasse, Dominique ; Bouchara, Jean-Philippe ; De Gentil, Ludovic. et al., (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation N°25. Biologie médicale. Paris. éd bioforma 230 bd Rspail 75014.
- 18-Chet, I.,(1984).** *Application of Trichoderma as a bio control agent.* Proc. 6th éd. Caire (Egypt.): cong.un. Phytopathol. Mediterr, 1984. p. 110-111.
- 19-Claydon et al., (1987).** Antifungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*. *Transactions of the britishmycological society* 88: 505-513.
- 20-Colin F.,(2000).** Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires, cas de l'atrazine dans le bassin versant du Sousson (Gers, France), Thèse de doctorat, Unité de recherche mixte : CEMAGREF-ENGREF "Structure et Systèmes Spatiaux ", Montpellier, France.274p.
- 21-Cournut, B.,(1984).** Le genre *Trichoderma hyphomycètes.* Th : Pharmacie : Marseille : 77 p.
- 22-Couteux A. ; Lejeune V.,(2003).** Index phytosanitaire. ACTA, France, 769 p.
- 23-Daami- Remadi M. and El Mahjoub M.,(2001) .** Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. *Ann. l'INRAT* 74, p.167-186.
- 24-Davet, P.,(1986).** Activité parasitaire des *Trichoderma* vis-à-vis des champignons à sclérotés ; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile. *Agronomie* 6 (9):863-867.
- 25-Davet P.,(1996).** *Vie Microbienne Du Sol Et Production Végétales,* (Edn ) Inra.Paris.
- 26-Davet P. and Rouxel F.,(1997).** *Detection et isolation des champignons du sol. ,* (edn). INRA .Paris.

- 27-Dennis C. and Webster J.,(1971)** Antagonistic Properties of Species-Groups of *Trichoderma*, li. Production of Volatile Antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society* **57**:41-48.
- 28-Dilip K. Arora,(2003).** Fungal biotechnology in agricultural, Food, and Environmental Applications, CRC Press, 700 p.
- 29-(DPV) Direction de la Protection des Végétaux,( 1995).** Index phytosanitaire de Madagascar, Antananarivo, 127p.
- 30--(DPV) Direction de la Protection des Végétaux,( 2000).** Index phytosanitaire de Madagascar, Antananarivo, 127p.
- 31-Dubourdiou, D.,(1983).** *Dégradation du glucane de Botrytis cinerea par les B13 glucanase de Trichoderma sp.* Éd. Bourdeaux (FR). XXIV colloque de la société Française de phytopathologie, n°34.
- 32-Esposito E. and Silva, M.,(1998).** Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Crit. Rev. Microbiol.*, 24 (2): 89-98.
- 33-Francisco Javier ; Fernandez-Acero; Maria Carbu; Carlos Garrido; Inmaculada vallejo et Jesus Manuel Cantoral,(2014).** « Proteomic Advances in Phytopathogenic Fungi », *Current Proteomics*, vol.4, n 2, 2014, 79-88.
- 34-Francesco Vinale; Gavin Flematti; Krishnapillai Sivasithamparam; Matteo Lorito; Roberta Marra; Brian W. Skelton et Emilio L. Ghisalberti,( 2009).** Acide Harzianic, un antifongique croissance des végétaux et la promotion des métabolites de *Trichoderma harzianum*, *J. Nat. Prod.* , 72 (11), Pp 2032-2035.
- 35-Fernandes, B., (2005).** Lutte biologique. PHM% *Revue horticole*, 465, pp.31.
- 36-Gleason ,(2011).** LUCIANA PARISI INRA-Pathologie végétale. Centre PACA, site d'Avignon Les articles de Luciana Parisi dans Jardins de France : Pommier : réémergence des maladies de la suie et des crottes de mouches.
- 37-Guiraud J.P. (1998).** *Microbiologie alimentaire*. Ed Dunod. Paris.
- 38-Harana , S. ; Scinckler, H. ; Chet, I.,(1996).** Molecular mechanism of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology* **142**:2312-2331.
- 39-Hart H.E.; Parish M.E.; Burns J.K. and Wilker L.,(1991).** Orange finisher pulpe as substrate for polygalacturonase production by *Rhizopus oryzae*. *Journal of Food Science*. **56(2)**: 480-483.

- 40-Hawksworth D.L.; Kirk P.M.; Sutton B.C. and Pegler D.N.,(1994).** Ainsworth and Bysby's dictionary of the fungi, 8 th ed . International Mycological Institute, Egham. United Kingdom.
- 41-Hibar K.; Daami-Remadi M.; Khiareddine H.; El Mahjoub M.,(2004).** Effet inhibiteur in vitro ET in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum f. sp. radicislycopersici*. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 2005 9 (3), 163-171.
- 42-Hermann H. Prell; Peter D.,(2001).** Plant-Fungal Pathogen Interaction: A Classical and Molecular View, Springer Science & Business Media, 214p.
- 43-Jim Deacon,(2005).** « Chapter 14: Fungi as plant pathogens », Blackwell Publishing (consulté le 25 mars 2014)
- 44-Kirk P.M.; Cannon P.F.; David J.C.; Egham U.K. and Stophes J.A.,(2001).** Ainsworth and Bysby's Dictionnaire of fungi , 9 th edn .CABI. Bioscience.UK. Center And central Bureau Voie. Utrecht. The Net.
- 45-Klein D.; Eveleigh D.E.,(1998).** Ecology of *Trichoderma* in *Trichoderma* and *Glicoladium*; Basic biology, taxonomy and genetics, pp.57- 74. Taylor and Francis Ltd, London, UK.
- 46-Kubicek, C.P; Bissett, J.; Druzhinina, I., Kullining-Grzdinger, C. et Szakacs, G.,(2003).**Genetic and métabolic diversity of *Trichoderma sp.*; a case study on south-east asian isolates. Fungal Genet. Biol., ,38 (3) : 310-319.
- 47-Landreau, A.,(2002).** Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii Oudemans* isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes. 201p.
- 48-Lannuse, M. ; Lung-Escarmant, B. ; Dubot B. et al., (1983).** Etude in vitro des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea*, éd Bordeaux. p. 170-192. XXIV colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
- 49-Larpant –Gourguand M. and Sanglier J.J.,(1992).** Biotechnologie. Principe et Méthodes, (edn) Doin .Paris.
- 50-Leveau J.Y. and BouixM.,(1993).** Les moisissures. In florent J Microbiologie Industrielle. Les microorganismes d'intérêt industrielle. (edn) Tec et Doc- Lavoisier.
- 51-Lorito; Roberta Marra; Brian W. Skelton et Emilio L. Ghisalberti.,(2009).** Acide Harzianic, une antifongique croissance des végétaux et la promotion des métabolites de *Trichoderma harzianum*, J. Nat. Prod. , 72 (11), pp 2032-2035.

- 52-Lyral, G. ; Joffin, J-N.,(1998).**Microbiologie technique 2eme éd. Bordeaux :CRDP. ISBN 2\_86617-334-1.P285-297. Chapitre 9.Champignons.
- 53-Mathiew R.,(1995).** *Biologie Campbell*, (edn) ISBN.
- 54-Nasraoui B.,(2006).** Les Champignons Parasites Des Plantes Cultivées, Biologie, Systématique, Pathologie, Maladies. Chapitre 1. p : 141-151. Chapitre 3 et4. p : 320-447.
- 55-Nicklin J.; Greame-Cook K.; Paget T and Killington R.,(1999).** *Essentiel en microbiologie*, (edn) BERTI. Paris.
- 56-Nishio N. and Nagai S.,(1981).** Single cell pritein production from mandarin orange peel. *Eropeen J. App. Microbiol. Biotechnol.* **11**: 156-160.
- 57-Perez-Torrado R.; Carrasco P.; Aranda A.; Gimeno-Alcaniez J.; Perez-Ortin J.E.;Matallana E. and Del Olma M.L., (2002).** Study of the first hours of microvinification by the use of osmotic stress reponse genes as probes. *Syst Appl Microbiol*25. P : 153-161.
- 58-Ptlar Méd.,(1976).** Collectte, Cl. École, 1900, p.192.
- 59-Ralph Dean et al.,(2012).** «*The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology*», *Molecular plant pathology*, vpl.13, n° 4, p.414\_430 (lire en ligne).
- 60-Rivière J., (1975).** Microbiologie industrielle et génie biochimique, (edn) Masson et Cie.
- 61-Samson R.A. ; Hoekstra E.S. et Van Oorschot,(1981).** Introduction to foodborne fungi. Edn C.B.S. Amsterdam.
- 62-Senal J.; Fraselle J.; Impens R.; Kummert J.; Lepoivre Ph.; Meulmans M.; Seilleur P.; Vandevcken J.; et Viseur J.,(1993).** *Traité de pathologie végétale*. Gembloux. Belgique.
- 63-Roquebert M-F.,(1996).** Interactions antagonistes des *Trichoderma sp.* Dans les systèmes telluriques : systématique biologie et écologie des organismes. Compte-rendu des 4 émes rencontres en toxicologie, Paris, 13-15.
- 64-Samuels, G. J. ;Petrini, O. et Mangui, S.,(1994).** Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. *Mycologia*, 86: 421-435.
- 65-Shalini, S. et A.S. Kostathane.,(2006).** Parasitism of *Rhizoctonia solani* by strains of *Trichoderma spp.* *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 6: 2272-2283.
- 66-Sivasithmparam K. and Ghisalberti E.L.,(1998).** Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. Taylor and Francis. Lendon. UK.

**67-Sy A.A.,(1976).** Contribution à l'étude de *Pyricularia oryzae* Cav. Recherche In vitro d'antagonistes dans une perspective de lutte biologique Thèse Doct. Ingénieur INP Toulouse, N°534. P : 236

**68-Tabuc Cristina,(2007).** Flore fongique de différents substrats et condition optimales de production des mycotoxines. Thèse de Doctorat. Institut polytechnique de Toulouse.

**69-Vincent J.M. and BudgeS.P.,(1990).** Screening for sclerotial mycoparasites of *Sclerotiniasclerotiorum*. *Mycological Research* **94**: 607- 612.

**70-Vining, I.c .,(1990).** Fonctions of secondary metabolites, *Annu.Rev.Microbiol.* 44: 395-427.

**71-Widden P. and Abitbol J.,(1980).** Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce-forest soil.*Mycologia*, **72**: 775-784.

**72-Zhihe, C. ; Qingping , W; Miiflong , X. et al.,(1998).** Advance of biocontrol of *Trichoderma* and *Gliocladhan*. *J. Microbiol*, 25(5) : hyyyyy 284-286.

Site web :

**1:**[http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Fruit\\_French/?uid=41&ds=806](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_French/?uid=41&ds=806)

**2:**[http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Alt%C3%A9rations+microbiennes/Alt%C3%A9rations+des+fruits+et+1%C3%A9gumes/Alt\\_Agrumes](http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Alt%C3%A9rations+microbiennes/Alt%C3%A9rations+des+fruits+et+1%C3%A9gumes/Alt_Agrumes)

**3:** <https://betterknowamicrobe.tumblr.com>

**4:**<https://agronomie.info/fr/trichoderma-harzianum/>



**Thème :** Comparaison entre l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de fongicide chimique sur quelques fruits contaminés .

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Mycètes et Biotechnologie Fongique.

### Résumé

La présente étude a été effectuée dans le but de comparé l'effet fongicide de *Trichoderma harzianum* et celui de deux fongicides chimique : La Bouillie Boredelaise Vallés et le Carbistin. Les champignons du genre *Fusarium*, *Alternaria* et *penicilium* ont été isolés partir de la fraise, l'orange et la pomme jugées contaminés ; l'identification du genre a été effectuée selon les caractères macroscopiques et microscopiques. La lutte biologique contre ces phytopathogènes, est mise en évidence par l'utilisation de deux méthodes de confrontations, en utilisant la souche du genre *Trichoderma*. Les résultats des différentes confrontations ont montrés que, *Trichoderma harzianum* a pu inhiber la croissance mycélienne des pathogènes avec un pourcentage supérieur à 50 % par rapport au témoins dans le cas de confrontation directe .Alors que , les résultats de la confrontation à distance montrent des pourcentages d'inhibition variant de 11 % à 20% avec tous les champignons isolé. Aussi, les tests de lutte par les métabolites secondaire de *Trichoderma* ont montré un effet très positif vis-à-vis des isolats pathogènes. Par ailleurs, les tests de lutte utilisant les fongicides chimiques (La Bouillie Boredelaise Vallés et le Carbistin) ; ont donné des zones d'inhibition variant de 6% à % 9 .Ces résultats sont moins importants en comparaison de ceux obtenus par l'antagoniste biologique.

**Mots clés :** *Trichoderma harzianum*, fongicide biologique de *Trichoderma harzianum*, fongicide chimique.

**Laboratoire de recherche :** laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) Chaàbet Erssas, Université des frères Mentouri, Constantine.

### Jury d'évaluation :

<b>Président du jury :</b>	Mme MIHOUBI I.	(Pr- UFM Constantine 1).
<b>Rapporteur :</b>	Melle ALMI H.	(MAB - UFM Constantine 1).
<b>Examineur :</b>	Melle KARA ALI M.	(MCB - UFM Constantine 1).

**Date de soutenance :** 13/06/2017

