

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Frères Mentouri Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

N° d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie
Option : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Effet bénéfique des champignons du genre *Trichoderma* sur les cultures : cas de la tomate

Présenté par :

- BELLIBEL Nour Elhouda
- CHEMORI Zahra

Devant le jury :

- Président du jury : Prof. DEHIMAT Laid. (UFMC1)
- Examineur : Dr BECHKRI Sakina. (UFMC1)
- Encadreur : Dr BELLIL Inès. (UFMC1)

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Nos remerciements vont à dieu de nous avoir donné la force et la patience de réaliser ce travail

Merci à nos familles notamment nos parents, sans vous, rien n'aurait possible, merci de votre soutien moral et de votre amour

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur Mme Bellil Ines pour sa disponibilité, ses conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et ses directives du début à la fin de ce travail

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer notre mémoire.

Finalement, nous remercions tout particulièrement les personnes avec lesquelles nous sommes étroitement collabore et qui m'ont fait part de leurs connaissances et de leur savoir-faire durant nos études scolaires et universitaires et tous les enseignants de la microbiologie.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes chers parents qui m'ont encouragé durant toutes mes études.

*A mes chères sœurs : « Meriem » « Amina » « Fatima » et je n'oublie pas ces enfants
« Walae , Jana , Djawed ,Abdou Tamim et Sadj » aussi « Rabiaà »et ma petite sœur
« Salsabil »*

A toute ma famille « Chemori »

A toute mes chères amis « Rim » « Soumia » et « Djihed »

A tous ceux que j'aime

ZAHRA

Dédicace

Je décide ce travail

Aux êtres les plus chères : Mes parents

A ce qui sont les plus chères au monde, nos parents que dieu protège.

En témoignage de nos profondes affectation. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien.

J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A mes chères frères : Taki et Zaki.

A ma chère sœur : Hanane.

A mon fiancé : Farid

Je vous remercie pour votre soutien moral, ta patience et votre dévouement.

*A tous ma famille paternelle **Bellibel**.*

A mes amies d'université : Souha, Nedjma, Yousra, Manel et Adra.

A mes ami(e)s de la promotion de master MBF.

Nour el Houda

Liste des abréviations

CMD: Corn Mael Dextrose Agar.

CWDEs: cell wall degrading enzymes.

LBPP : laboratoire de botanique et de protection des plantes.

MAPK : mitogene-activated protein kinases.

MEA: malt extract agar.

mEq : milliéquivalent.

PDA: potato dextrose agar.

PPDS : plus petite différence significative.

ROS: reactive oxygen species.

TFs : Facteur de transcription.

TH1: *Trichoderma harzianum* 1.

TH2: *Trichoderma harzianum* 2.

TV1 : *Trichoderma viride*.

Listes des figures et des tableaux

Figure 01 Aspect morphologique d'un conidiophore de <i>Trichoderma</i>	10
Figure 02 Quelques molécules bioactives en antibiose sécrété par <i>Trichoderma harzianum</i>	13
Figure 03 Mécanisme de mycoparasitisme exercé par les souches de <i>Trichoderma</i>	14
Figure 04 Effet de l'inoculation des racines des plants de tomate par différentes souche du <i>Trichoderma</i> sur (A) la croissance et le développement des plants de tomate; (B) le développement du système racinaire; (C) la colonisation des racines.....	23
Figure 05 Colonisation des racines des plants de tomate par différentes souches du <i>Trichoderma</i>	25
Figure 06 Populations des souches du <i>Trichoderma</i> (A) au niveau de la rhizosphère des plants de tomate et (B) à distance des racines, à la fin de l'essai.....	26

Liste des tableaux

Tableau 01 La position taxonomique actuelle des <i>Trichoderma sp</i>	11
Tableau 02 Souches de <i>Trichoderma</i> avec leurs désignations et origine.....	17
Tableau 03 Variation des paramètres de rendement des plants de tomate inoculés par différentes souches de <i>Trichoderma</i>	22

Sommaire

Introduction générale.....	01
Première partie : revue bibliographique	
Chapitre 01 : La lutte biologique	
1. Les stratégies de la lutte biologique.....	02
1.1. Par conservation.....	02
1.2. Classique.....	03
1.3. Par inondation.....	05
2. Organismes utilisées en lutte biologique.....	04
1.1. Prédateurs.....	04
2.2. Hyménoptères.....	04
2.3. Microorganismes.....	05
2.2.1. Bactéries.....	05
2.2.2. Champignon.....	05
2.3.2. Virus.....	06
3. Préoccupation environnementales.....	06
Chapitre 02 : LE genre <i>Trichoderma</i>	
1. Historique.....	08
2. Morphologie	09
3. Taxonomie.....	10
4. Ecologie.....	11
5. Le pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i>	12
6. Mode d'action de <i>Trichoderma</i>	12
6.1. L'antibiose.....	13
6.2. Le mycoparasitisme.....	14
6.3. La compétition.....	15
7. Les techniques d'isollements.....	15
7.1. Direct.....	16
7.2. Indirect.....	16
Deuxième partie : Etude expérimentale	
Chapitre 01 : Matériel et méthodes	
1. Préambule.....	17
2. Matériel.....	17
2.1. Matériel biologique.....	17

2.1.1. Culture de tomate.....	17
2.1.2. Le champignon antagoniste.....	17
3. Méthodes.....	18
3.1. Culture de tomate.....	18
3.2. Procédé d'inoculation.....	18
3.2.1. Préparation des suspensions sporales.....	19
3.2.2. Effet sur la biomasse végétative et racinaire.....	19
3.2.2.1. Variation des paramètres de rendement.....	19
3.2.2.2. Colonisation des racines et maintien dans le substrat.....	20
3.2.2.3 Numérations des colonies.....	20
4. Analyses statistiques.....	20

Chapitre 02 : Résultats et discussions

1. Résultats.....	21
1.1. Effet du <i>Trichoderma</i> sur les paramètres de rendement.....	21
1.2. Colonisation des racines par le <i>Trichoderma</i>	23
1.3. Maintien du <i>Trichoderma</i> dans le substrat de culture.....	24
2. Discussion.....	26
3. Conclusion.....	29
Conclusion générale.....	32

Références bibliographiques

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction

Générale

Introduction générale

Les plantes cultivées par l'homme sont affectées à tous moments par des maladies (virales, bactériennes..) ou par des ravageurs (insectes; oiseaux...). La lutte contre ces agents pathogènes s'effectue principalement au moyen de produits phytosanitaires de synthèse. Ces produits chimiques sont considérés comme l'arme la plus efficace pour traiter ce problème, mais ces matériaux présentent des inconvénients sur l'environnement comme l'accumulation de résidus et la pollution des sols, l'apparition de nouveaux pathotypes résistants et le déséquilibre microflore tellurique qui pourrait conduire à la destruction du milieu écologique (Ousalah, 2003).

En raison de ces effets cumulatifs et pour résoudre ces différents problèmes, la recherche continue de développer de nouvelles méthodes telles que la lutte biologique.

La lutte biologique, plus particulièrement l'usage des microorganismes, contre les phytopathogènes réduit leurs effets néfastes. *Trichoderma harzianum* est parmi ces microorganismes bénéfiques les plus utilisés dans la bio protection des plantes contre les champignons phytopathogènes.

A la lumière de ces données, notre travail a pour objectif d'étudier et d'apprécier l'effet de diverses souches du *Trichoderma* sur les cultures et porte sur l'analyse d'un article scientifique traitant du sujet en l'occurrence "Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance et le rendement d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*, 88(3) ;103-110".

Ce présent mémoire contient trois parties :

- La première partie porte la lutte biologique et le champignon du genre *Trichoderma*.
- La deuxième partie portant sur l'analyse de l'article scientifique choisi pour l'appréciation de l'effet du *Trichoderma* sur les cultures.
- La troisième partie de ce mémoire comporte une conclusion générale clôturant notre travail.

Première partie
Revue bibliographique

Chapitre 1 : La lutte biologique

1. Les stratégies de la lutte biologique

La lutte biologique est fondée sur l'exploitation, par l'homme et à son profit, d'une relation naturelle entre deux êtres vivants : la cible, qui est un organisme indésirable (ravageur d'une plante cultivée, mauvaise herbe, agent pathogène ou parasite du bétail) ; l'agent de lutte, ou auxiliaire, qui est le plus souvent un parasite (ou un parasitoïde), un prédateur ou un pathogène de l'espèce cible. Elle repose sur trois stratégies majeures :

- La lutte biologique par conservation.
- La lutte biologique classique.
- La lutte biologique par inondation

1.1. La lutte biologique par conservation

La lutte biologique par conservation consiste donc à favoriser les auxiliaires naturels en conservant et créant, autour des parcelles à protéger les éléments (haies, fossés, jachères, bandes fleuries...) apportant les ressources (pollen, nectar, proies et hôtes de substitution, micro-habitats refuges...) nécessaires à l'ensemble de leur cycle biologique. Ainsi, en cas d'attaque sur la culture, les auxiliaires déjà présents dans le milieu sont en mesure d'utiliser rapidement la population de ravageurs émergente comme ressource. Le rééquilibrage écologique se fait spontanément en cessant tout recours à des pesticides-herbicides). Ce mode de lutte favorise une agriculture plus respectueuse de l'environnement et plus durable (Guy.R et al ; 2012).

1.2. La lutte biologique classique (par acclimatation)

Dite aussi lutte par importation, elle consiste à introduire intentionnellement un agent de lutte biologique exotique (i.e. espèce antagoniste du ravageur ciblé) pour un établissement permanent et un contrôle de ravageurs, généralement non-natifs, sur le long terme. C'est la stratégie qui a longtemps été la plus importante et qui a connu un certain nombre de succès. La lutte biologique par acclimatation consiste : à introduire un auxiliaire d'origine exotique dans un milieu colonisé par un ravageur, dans le but qu'il s'y établisse de manière permanente et qu'il y assure une régulation durable des populations du ravageur.

Première partie : Revue bibliographique

- L'auxiliaire introduit provient en général de la même aire d'origine que l'espèce nuisible.
- La lutte par acclimatation d'auxiliaires est une méthode de gestion durable des ravageurs qui ne nécessite pas ou peu d'intervention une fois l'introduction réalisée, la dispersion des auxiliaires s'effectuant ensuite naturellement.
- Les résultats actuels montrent que cette lutte concerne davantage les cultures pérennes car il est nécessaire d'offrir un habitat durable aux auxiliaires.

1.3. La lutte biologique par inondation

La Lutte biologique par augmentation recouvre les stratégies d'augmentation par inoculation (Inoculative biological control) et par inondation (Inundative biological control). Ces stratégies consistent à relâcher des auxiliaires dans des environnements où les populations sont absentes ou trop faibles pour assurer un contrôle suffisant (e.g. dans des environnements clos comme les serres). Dans la lutte biologique par inoculation l'efficacité de la régulation dépend surtout de la propension de l'agent de lutte à se multiplier et donc de la descendance des organismes introduits, alors que la lutte biologique par inondation consiste à relâcher en masse des ennemis naturels élevés en conditions contrôlées (Gurr et al ; 2003 et Rusch et al ; 2010).

2. Organismes utilisés en lutte biologique

Il existe une grande variété de microorganismes et de modes d'action utilisables en lutte biologique (Volkoff, 2009). Les principaux types de microorganismes utilisés en lutte biologique sont les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires.

2.1. Prédateurs

Un prédateur est un organisme vivant qui capture des proies vivantes pour s'en nourrir et nourrir sa progéniture. Les prédateurs tuent leur proie pour satisfaire leurs besoins nutritifs. On distingue deux types de prédateurs : les Sténophages et les Euryphages (Suty, L. 2010).

2.1.1. Les Sténophages

Sont des spécialistes et leur cycle biologique est synchronisé à celui de leurs proies. En lutte biologique, les familles les plus utilisées sont certaines espèces de *Syrphidae*, *Cecidomyiidae*, *Coccinellidae* et *Chamaeyiidae* (Agarwala et Saha, 1984;).

Première partie : Revue bibliographique

2.1.2. Les Euryphages

Sont plutôt généralistes et peuvent utiliser d'autres sources de nutrition non-animale comme le pollen, champignon ou matière végétale (Begon et al., 1990) .

2.2. Hyménoptères

Les Hyménoptères utilisés en lutte biologique sont avant tout des parasites (parasitoïdes), utilisés contre des phytophages. Parmi les insectes parasitoïdes, les plus fréquemment utilisés en lutte biologique contre des ravageurs avec 88 % des essais de lutte contre 12 % pour les Diptères, essentiellement des *Tachinidae*. La plupart des tentatives de lutte biologique par Hyménoptères ont été faites avec des insectes appartenant aux deux supers familles suivantes : les *Chalcidoidea* (58 %) et les *Ichneumonoidea* (31 %) (I.M. Hall & P.H. Dunn, 1957).

2.3. Micro organismes (bactéries, champignons, virus)

Les micro-organismes pathogènes comprennent les bactéries, les champignons et les virus. Ils tuent ou affaiblissent leur hôte et sont relativement spécifiques à l'hôte. Diverses maladies microbiennes des insectes sont naturelles, mais peuvent également être utilisées en tant que pesticides biologiques.

2.3.1. Bactéries

Les bactéries utilisées pour la lutte biologique infectent les insectes par leur tube digestif, ce qui rend difficile leur utilisation pour le contrôle des insectes "suceurs" comme les pucerons et les cochenilles.

- *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* contre: Piéride (*Pieris* spp.) , Teignes des crucifères (*Plutella xylostella*).
- *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* contre : les larves de moustiques (vecteurs maladies), tipules, sciarides, (*Vectobac*)

2.3.2. Champignons

Les champignons sont les seules solutions envisageables pour la lutte microbiologique contre les insectes piqueurs. Ils agissent par contact en traversant le tégument des insectes. Les champignons utilisés contre les insectes sont les champignons entomopathogènes.

Première partie : Revue bibliographique

- *Beauveria bassiana* contre: les Aleurodes (*Trialeurodes vaporariorum* et *Bemisia tabaci*), (*Naturalis-L*).
- *Beauveria brongniartii* contre : larves de hanneton commun (*Melolontha melolontha*), (Beupro).
- *Paecilomyces fumosoroseus* contre: les Aleurodes.

Exemple de champignons contre des champignons pathogènes :

- *Trichoderma harzianum* et *T. polysporum* contre: *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia solani* .
- *Coniothyrium minitans* contre: *Sclerotinia sclerotiorum* et *S. minor*.

2.3.3. Virus

On peut citer l'exemple du virus de la granulose du carpocapse (carpovirusine) qui attaque les larves après ingestion en se multipliant dans les cellules du système digestif puis dans tout l'organisme (Marguit; 2013).

3. Préoccupation environnementales

Le but de la lutte biologique est de proposer des méthodes utilisant l'introduction volontaire par l'homme de prédateurs, de parasites ou de microorganismes pour réduire ou supprimer des espèces considérées comme nuisibles ; mais toute modification du milieu, naturelle ou provoquée, peut avoir des conséquences sur ces populations.

Les organismes de lutte biologique ne sont pas toujours sans danger pour la faune, plusieurs espèces de nématodes utilisées pour la lutte biologique peuvent, en laboratoire, provoquer des mortalités massives chez les bourdons. Il faut améliorer la connaissance de la biodiversité et des spécificités d'hôte et apprendre à gérer les diverses populations en présence

La lutte biologique nécessite donc une approche pluridisciplinaire qui va mêler la biologie (microbiologie, biologie végétale, biologie animale), la génétique, la dynamique des populations, l'écologie et la pathologie, en particulier la phytopathologie (Guy.R et al 2012).

Chapitre 2 : Le genre *Trichoderma*

1. Historique

Le développement des connaissances en écologie microbienne, en particulier sur les relations antagonistes entre les microorganismes du sol, a fait naître l'idée d'utiliser les antagonistes pour lutter contre les maladies des plantes d'origine tellurique. L'imprégnation des graines par des germes antagonistes du parasite a donné des résultats satisfaisants (Ousalah, 2003).

En 1930, le potentiel des espèces de *Trichoderma* a été étudié comme agent de biocontrôle contre les pathogènes des plantes (Hermosa *et al.*, 2000 ; Orr et Knudsen, 2004 ; Shelton, 1997). D'autre part, l'étude des transformations de l'équilibre microbien du sol après traitement chimique a permis de comprendre l'intérêt de cette forme de lutte.

C'est ainsi qu'en 1951, Bliss constate que la fumigation d'un sol infesté par *Armellaria mellea* avec du sulfure de carbone n'aboutit à la disparition complète de ce champignon pathogène qu'après 24 jours de fumigation. Or cet effet coïncide avec la colonisation massive du sol traité par *Trichoderma viride*. L'auteur en a déduit qu'*Armellaria mellea* a disparu, non sous l'effet direct du sulfure de carbone mais victime de l'antagonisme de *Trichoderma viride* (Ousalah, 2003). Il a été montré que le bromure de méthyle en fumigation diffuse profondément dans le sol, participe très activement à la mort des fragments mycéliens et semble accélérer leur destruction par *Trichoderma* (Mariau, 1999).

Dès 1956, les études ont indiqué que des antibiotiques pourraient être détectés sur les graines semées dans le sol. Les espèces de *Penicillium*, de *Trichoderma* ont été également isolées de la tomate, de l'oignon et du chou (Nelson, 2004). Les capacités antagoniques de ces microbes ont été connues depuis les années 30 (Chet *et al.*, 2006). Cependant, elles commencent maintenant à être employées commercialement (Shelton, 1997).

En France, où Grosclaude en 1979 a mis au point une méthode de lutte contre l'agent de la maladie du plomb du pêcher, *Stereum purpureum*, en utilisant *Trichoderma harzianum* (Corbaz, 1990).

En 1999, l'Amérique du Nord le considère un des premiers agents de biocontrôle en excédant 3 millions de Dollars pour réaliser ce niveau de succès (Paulitz et Belanger, 2001).

Les espèces de *Trichoderma* sont des mycètes présents en nombres importants dans presque tous les sols agricoles et dans d'autres environnements tels que le bois pourrissant (Chet *et al.*, 2006 ; Harman, 2006 ; Samuels *et al.*, 2006 ; Shelton, 1997). Quelques souches sont

Première partie : Revue bibliographique

fortement rhizosphères compétentes, capables de coloniser et de se développer sur des racines (Harman, 2006). Elles peuvent protéger le système entier de la racine pendant la vie de la plante. D'ailleurs, elles sont efficaces contre une large gamme de mycètes phytopathogènes dont *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium* sp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotium rolfsii*, et *Sclerotinia homoeocarpa* (Shelton, 1997).

2. Morphologie

Le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons imparfaits saprophytes qui se retrouvent couramment dans le sol, sur le bois mort, les débris végétaux et les organes aériens des plants. 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). *Trichoderma* a un thalle à croissance rapide, d'abord lisse plus ou moins floconneux, souvent zoné, blanc ou vert (Botton et al., 1990).

Les conidiophores se terminent en un ou quelques phialides (Samuels et al., 2006). Ils sont très ramifiés, en touffes plus ou moins compactes, irrégulièrement verticillées avec des ramifications à angle droit (Botton et al., 1990). (figure 01).

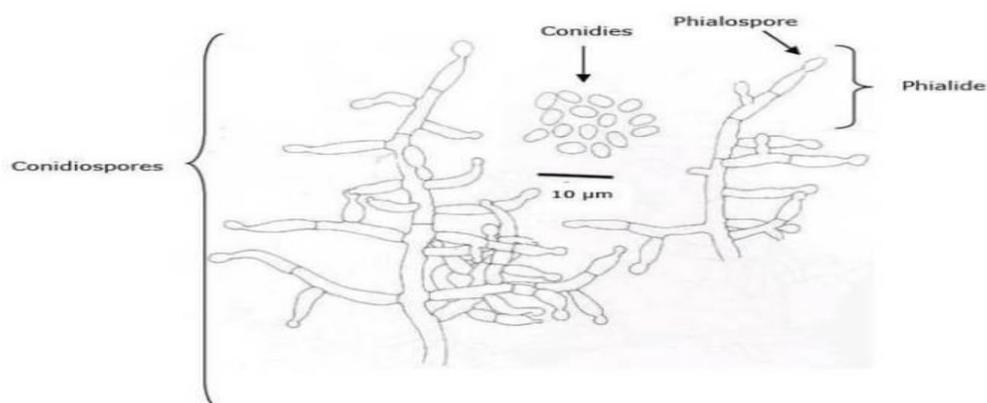


Figure 01: Aspect morphologique d'un conidiophore de *Trichoderma*

(<https://i1.wp.com/agronomie.info/fr/wpcontent/uploads/2017/09/5.jpg?resize=768%2C522&ssl=1>)

Les phialides sont de formes solitaires ou groupées en verticilles, généralement perpendiculaires à l'axe (Botton et al., 1990 ; Pitt et Hocking, 1985). Les conidies sont produites successivement à partir des bouts de phialides, et se rassemblent en petites masses mouillées (Malloch, 1997). Elles sont généralement de 3 à 5 µm de diamètre, libérées en grands nombres (Harman et al., 2006), le plus souvent vertes, lisses ou granuleuses à une croissance très rapide (Botton et al., 1990 ; Hermosa et al. 2000 ; Pitt et Hocking, 1985). Les

Première partie : Revue bibliographique

chlamydospores, des spores de résistance, le plus souvent à paroi épaisse, différenciées par transformation de cellules ou d'articles du mycélium (Botton et al., 1990). Les chlamydospores peuvent être produites par toutes les espèces. Le milieu Corn Mael Dextrose Agar (CMD) empêche leur production à 20C° dans 10 jours (Samuels et al., 2006). La plupart des souches de *Trichoderma* produisent des spores asexuelles.

3. Taxonomie

La division du genre *Trichoderma* en espèces a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de discussions. Dans le règne vivant les limites de «l'espèce» reposent sur la possibilité de croisement entre individus. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects cultureux et la morphologie des appareils sporogènes (Roquebert, 1996) ainsi que sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaires (Gams et Bissett, 1998).

La classification de *Trichoderma* introduit les conidies comme élément majeur dans la discrimination des taxons. (A.R.S.,2006 ; Harman, 2006).La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente comme suit (selon Bissett, 2004) (Tableau 01).

Tableau 01 La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.*

<i>EMBRANCHEMENT</i>	<i>AMASTIGOMYCOTA ET/OU EUMYCETES</i>
<i>SOUS EMBRANCHEMENT</i>	<i>ASCOMYCOTINA</i>
<i>CLASSE</i>	<i>SORDARIOMYCETES</i>
<i>ORDRE</i>	<i>HYPOCREALES</i>
<i>FAMILLE</i>	<i>HYPOCRACEAE</i>
<i>GENRE</i>	<i>HYPOCREA MITOSPORIQUE (TRICHODERMA)</i>

4. Ecologie

Trichoderma spp. est largement distribué dans le monde entier (Domsch et al., 1980) et se rencontre dans presque tous les sols et autres habitats naturels, en particulier ceux contenant de la matière organique (Papavizas et al., 1984). *Trichoderma spp.* semble être un

Première partie : Revue bibliographique

colonisateur secondaire en raison de l'isolement fréquent de la matière organique bien décomposée (Danielson et Davey, 1973). *Trichoderma spp.* se trouve également sur les surfaces racinaires de diverses plantes (Davet, 1979), sur l'écorce en décomposition, surtout lorsqu'elle est endommagée par d'autres champignons, et sur les sclérotés ou autres propagules d'autres champignons (Davet, 1979).

L'abondance de *Trichoderma spp.* dans divers sols couplés à leur capacité à dégrader divers substrats organiques du sol, leur polyvalence métabolique et leur résistance aux inhibiteurs microbiens, suggèrent qu'ils peuvent posséder la capacité de survivre dans de nombreuses niches écologiques en fonction des conditions existantes et de l'espèce ou de la souche impliquée. Certaines conidies de *T. harzianum* ajoutées au sol sans amendements apportant des nutriments ont survécu entre 110 et 130 jours, mais la durée de survie dépendait de l'isolat utilisé (Papaviza, 1981; Papaviza et al., 1982). La plupart des conidies ont probablement lysé sans première germination, ou ont germé en réponse à certains nutriments libérés par la matière organique et ont ensuite été lysées en l'absence de bases alimentaires suffisamment adéquates pour soutenir la croissance et la sporulation. Les hyphes ont également la capacité de survivre dans le sol (Papavizas et al. 1984).

Lewis et Papavizas (1984) ont démontré le potentiel de divers agrégats d'espèces de *Trichoderma* pour former des chlamydospores facilement et en grand nombre dans le sol naturel ou dans des fragments de matière organique après l'introduction du champignon dans le sol sous forme de conidies.

Les niveaux de pH acides améliorent la croissance in vitro de *T. harzianum* et stimulent la formation de chlamydospores et la germination des conidies (Chet et Baker, 1980). De plus, l'humidité du sol améliore les *Trichoderma conidia* pour survivre plus longtemps que dans un sol sec (Lui et Baker, 1980). De plus, *Trichoderma* peut tolérer des fongicides, tels que le bromure de méthyle, le captane et le manèbe (Ruppel et al., 1983).

5. Pouvoir antagoniste de *Trichoderma*

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* 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 mondiale. *Trichoderma* est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Il permet, au niveau des

Première partie : Revue bibliographique

racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Le même effet est observé lorsqu'il est utilisé en pulvérisation aérienne. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes. (Johanne Caron)

6. Mode d'action de *Trichoderma*

Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade la pectinase et d'autres enzymes qui sont essentiels pour les phytopathogènes. En plus de son effet inhibiteur des phytopathogènes, *Trichoderma* est aussi capable d'induire une résistance localisée et systématique. *Trichoderma* possède une batterie de mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais qui demeurent toutefois complexes. Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène, Ils sont :

- L'antibiose
- Le mycoparasitisme,
- La compétition

6.1. L'antibiose qui résulte de la production de substances qui agissent comme des «antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène. La production des antibiotiques dépend des paramètres environnementaux tels le substrat colonisé, le pH et la température. Les antibiotiques, peuvent être classés en trois groupes : des composés volatiles, des composés solubles dans l'eau et les peptaiboles qui agissent avec la membrane plasmique. En effet, les deux premiers groupes d'antibiotiques sont dérivés de plusieurs voies métaboliques. Par contre, le troisième groupe : les peptaiboles ; forme le plus important groupe d'antibiotiques (Degenklob et al., 2003) ; il regroupe plus de 300 molécules dont 54 molécules sont isolées à partir de *Trichoderma harzianum* (Peptaibol Database, 2007). Parmi les molécules bioactives en antibiose, celles qui sont mentionnées dans la figure.... (Figure 02)

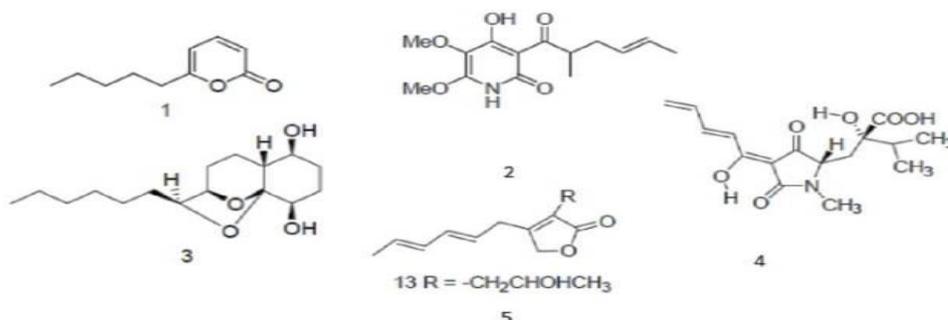


Figure 02 : Quelques molécules bioactives en antibiose sécrété par *Trichoderma harzianum* ;
1 : 6PP ; 2 : Harzianopyridone ; 3 : Koninginins A ; 4 : acide Harziamique ; 5 : Hazrianolide.

Première partie : Revue bibliographique

6.2. Le mycoparasitisme qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui «injectant » des substances (enzymes) qui le détruisent. Durant le mycoparasitisme (Figure 03), les souches de *Trichoderma* reconnaissent le champignon pathogène par l'intermédiaire de petites molécules libérés par ce de dernier, certains d'entre ces molécules sont des fragments peptidiques qui sont libérés par l'action des protéases sécrétés par *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004).

Ces molécules peuvent se lier à un récepteur G couplés à une protéine ou à des récepteurs Gpr1 qui se trouvent sur la surface des hyphes de *Trichoderma*. En effet, cet attachement provoque une cascade de signalisation comprenant les protéines G et les protéines kinases activées par les mitogènes (MAPK), qui peuvent moduler les activités des facteurs de transcriptions (TFs) qui ne sont pas encore connues. Les facteurs TFs ainsi activés, augmentent l'expression constitutive de gènes de régulation qui codent pour la biosynthèse des métabolites secondaires qui sont des enzymes de dégradation appelé CWDEs (β -1,6, glucanases, β -1,3, glucanases, α -1,3, glucanases...), capable d'hydrolyser la paroi cellulaire et libérer des oligomères (Kubicek *et al.*, 2004). à ce stade, *Trichoderma* s'enroule autour du pathogène. L'attachement du *Trichoderma* est médié par la liaison des glucides dans la paroi cellulaire de *Trichoderma* et les lectines du champignon (Inbar *et al.*, 1996). En même temps, le pathogène réagit en formant des métabolites secondaire et les ROS (reactive oxygen species) qui élicitent une réponse au stress et à la désintoxication dans *Trichoderma* (Irina *et al.*, 2011).

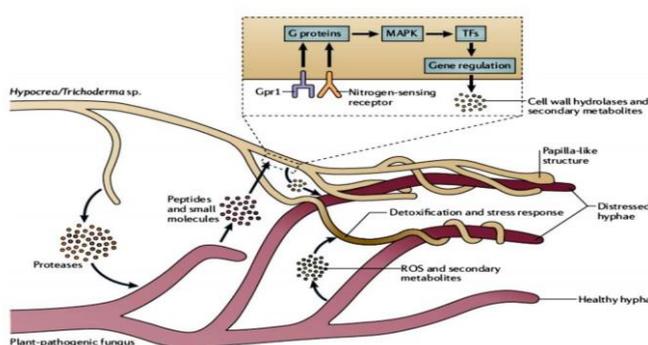


Figure 03 : Mécanisme de mycoparasitisme exercé par les souches de *Trichoderma* (Irina *et al.*, 2001).

6.3. La compétition qui se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons

Première partie : Revue bibliographique

pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables. Les souches de *Trichoderma*, sont des biodégradeurs (Wardle et al., 1993) et compétiteurs avec les gants pathogènes dans leurs phases saprophytique surtout lorsque les nutriments forment le facteur limitant (Simon et Sivasithamparam, 1989). En effet, pour qu'une espèce de *Trichoderma* soient compétente, elle doit coloniser la rhizosphère à une distance au-delà de 2 cm de profondeur de la graine (Ahmad et Baker, 1987). Une fois installé, *Trichoderma* établit une zone d'interaction dans la partie cortex des racines est sécrète des molécules tels que les sidérophores qui absorbent le fer et arrêtent la croissance du pathogène (Chet et al., 1997 ; Eisendle et al., 2004). Pour cette raison, la composition du sol influe sur l'efficacité de l'agent antagoniste. L'utilisation efficace des nutriments disponibles par les souches de *Trichoderma*, est basé sur la capacité de *Trichoderma* d'obtenir l'ATP à partir du métabolisme de différents sucres, tels que les dérivés de polymères (Grondona et al., 1997). Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires en présence et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...). (Johanne Caron.....)

7. Les techniques d'isolements

Lorsque les racines d'une plante sont victime d'une agression microbienne, il est souvent difficile de réunir assez d'indices pour démasquer directement l'agresseur. Cela est possible par la proposition d'un substrat, naturel ou artificiel, malgré la concurrence des autres microorganismes du sol. Il faut donc trouver des substrats qui stimulent la croissance de l'organisme recherché tout en limitant ou en supprimant le développement de ses concurrents avant de commencer les opérations d'isolement (Davet et Rouxel, 1997). L'échantillonnage est une phase essentielle puisque sa bonne réalisation dépend de la fiabilité des résultats, qu'il s'agisse d'isolement à partir du sol ou d'un végétal (Davet et Rouxel, 1997 ; Küçük et Kivanç, 2002).

C'est souvent à partir de plantes malades que l'on est amené à isoler les champignons du sol, dans l'horizon de 30 à 40 cm d'épaisseur. Il existe deux types de techniques permettant de détecter la présence des champignons du sol et de les isoler (Davet et Rouxel, 1997).

7.1. Les techniques directes soit par incorporation du sol dans le milieu nutritif plus ou moins sélectif, soit, plus rarement, par immersion dans le sol du milieu fixé sur un support. Ces méthodes sont utilisées pour les champignons capables d'un développement saprophytique.

Première partie : Revue bibliographique

7.2. Les techniques indirectes qui consistent à piéger le champignon dans le sol à l'aide de substrats. Le principe consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau stérile, puis à incorporer les différentes dilutions de cette suspension dans le milieu d'isolement. Les milieux ; potato dextrose agar (PDA), malt extract agar (MEA) et rose Bengale agar de farine d'avoine, incubés à 28 C° pendant 5 jours, peuvent servir pour l'isolement du *Trichoderma* (Hermosa, et al., 2000 ; Küçük et Kivanç, 2002).

Deuxième partie

Etude et analyse d'article scientifique

« Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance et le rendement d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat »

Phytoprotection, 88(3) ;103-110".

Chapitre 1 : Matériel et méthode

1. Préambule

Depuis les recherches multipliées sur le champignon *Trichoderma* (Lamy et al.1981) ; ce champignon a été utilisé comme agent de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes et telluriques (Campportora 1985 ; Davet 1986; Ouazzani-Touhami et al.1994) que foliaires (Hmouni et al.1999; Mouria et al.1997a, b).

D'autres travaux ont montré l'action stimulatrice de certaines souches du *Trichoderma* sur la croissance de certaines plantes, et ont étudié la lutte du *Trichoderma* contre *Rhizoctonia solani kuhn* et *Pythium ultimum Trow* (Baker 1988) et de (Lynch et al. 1991). Ils n'ont aussi démontré aucun effet pathogène. Mais cette découverte n'a pas donné lieu à d'autres recherches.

Au Maroc l'étude n'a porté que sur la stimulation des plantes donc, Dans la présente étude, l'objectif est de déterminer l'effet de diverses souches du *Trichoderma harzianum Rifai* et du *T.viride Pers* .sur la croissance et le rendement d'une culture de tomate en serre.

2. Matériel

2.1. Matériel biologique

2.1.1. Culture de tomate

Les cultures de tomates utilisées dans cette étude consistent en la variété Campbell 33, les semences de tomate ont été désinfectées à l'hypochlorite de sodium dilué à 1 % pendant 10 min avant l'étape de germination.

2.1.2. Le champignon antagoniste

Six souches de *Trichoderma* ont été cultivées sur milieu PDA et incubées à 28 °C pendant 5 j à l'obscurité et 5 j de lumière afin de favoriser leur sporulation (Tableau 02).

Tableau 02: Souches de *Trichoderma* avec leurs désignations et origine.

<i>SOUCHE</i>	<i>DESIGNATIONS</i>	<i>ORIGINE</i>
01	TCTOM	FEUILLES DE PLANTS DE TOMATE APPARTENANT A LA VARIETE CAMPBELL 33
02	TGRAINE	GRAINES DU RICINUS
03	TCOMP	COMPOST DE DECHETS URBAINS

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

04_05	TH1 ET TH2	TRICHODERMA HARZIANUM
06	TV1 (<i>T. VIRIDE</i>)	LA MYCOTHEQUE DU LBPP (LABORATOIRE DE BOTANIQUE ET DE PROTECTION DES PLANTES)

Les souches TH1 et TH2 du *Trichoderma harzianum* et TV1 du *T.viride*, ont été utilisées à titre comparatif. L'identification des souches Tctom, Tcomp et Tgraine a été effectuée en se basant sur leurs caractères morphologiques. Toutes les souches ont été conservées sur papier filtre à -15 °C. La prolifération des bactéries a été évitée en ajoutant du chloramphénicol dans le milieu à raison de 100 mg L⁻¹.

3. Méthodes

3.1. Culture de tomate

.Des semences de tomate préalablement désinfectées ont été rincées abondamment sous un courant d'eau. Après séchage, les graines ont été mises à prégermer dans des plateaux alvéolés à 77 trous remplis de tourbe noire. Les plateaux ont été couverts d'un film plastique de 20 µm d'épaisseur pendant 2 j pour assurer une bonne germination. Le repiquage des plantules a été effectué lorsque celles-ci ont atteint le stade de deux vraies feuilles bien étalées soit 18 j après semis, dans des pots de 17 cm x 14 cm (4 L) en polyéthylène perforés à la base (Woo et al. 1996).

3.2. Procédé d'inoculation

3.2.1. Préparation des suspensions sporales

.Des suspensions de spores ont été préparées en grattant la surface de ces cultures immergées avec de l'eau distillée stérile. La filtration a été obtenue en faisant passer les suspensions à travers quatre couches de gaze et leurs concentrations ont été ajustées à 10⁷ ml de spores ml⁻¹. L'inoculation a été réalisée en trempant les racines de plants de tomates recouvertes d'un substrat de germination dans des suspensions conidiennes pendant 30 minutes.

.Ensuite, les plants ont été repiqués dans des pots contenant de la terre de la forêt de "Mamora" : C'est un sol très sableux (91,1% de sable) avec une structure lâche, un pH

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

légèrement basique, avec une faible capacité d'échange cationique 7 mEq 100 g⁻¹ et une très faible salinité (Zidane ; 2004).

Ensuite les pots ont été placés dans une serre pendant 5 semaines à une température de 18 à 25 ° C et une période optique de 12 heures. Ce protocole a été conçu aléatoirement en blocs avec cinq répétitions par souche et une plante par conteneur. Les plantes témoins ont été implantées dans de l'eau stérile au lieu de spores suspendues. L'arrosage se fait tous les deux jours à l'eau du robinet. Cette fréquence d'arrosage est suffisante pour faire pousser des tomates en pot car le drainage est médiocre, surtout lorsque la température est basse et l'évaporation est faible.

3.2.2. Effet sur la biomasse végétative et racinaire

3.2.2.1. Variation des paramètres de rendement

Les pots ont été retournés de la serre et les bourgeons ont été coupés au niveau du collet. La hauteur des bourgeons a été mesurée du collet à l'entrée de la plus petite feuille. Le nombre de feuilles, de fleurs et de fruits a été calculé pour chaque plante et le pourcentage de feuilles avec des lésions ou une nécrose a été calculé comme suit :

$$\% Fa = (NFa / NFt) * 100\%$$

Fa = pourcentage de feuilles attaquées.

NFa = nombre de feuilles attaquées.

NFt= nombre total de feuilles.

3.2.2.2. Colonisation des racines et maintien dans le substrat

Les racines ont été séparées doucement du sol et lavées sous un courant d'eau pour éliminer les particules de sol adhérentes. (De trois plants pour déterminer le poids frais et sec, et deux pour la mise en évidence de la colonisation par le *Trichoderma* dans le système racinaire). Ces dernières ont été lavées, désinfectées superficiellement à l'alcool 90° pendant 1 min, rincées abondamment à l'eau distillée stérile, séchées, découpées en petits morceaux et déposées dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée(16 fragments par boîte de Pétri et trois répétitions pour chaque plante). Le pourcentage de colonisation des racines a été calculé à partir du nombre de fragments de racines entourés par un mycélium du *Trichoderma* selon la relation suivante : $\% CO = (NFc / NFT) * 100$

% Co = pourcentage de colonisation.

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

Nfc = nombre de fragments colonisé.

NTf = nombre total de fragments.

3.2.2.3 Numérations des colonies

L'estimation de la population du *Trichoderma* dans le substrat de culture a été menée sur deux types d'échantillons à raison de cinq répétitions pour chaque échantillon :

- sol de la rhizosphère en contact direct avec les racines.
- sol à distance des racines prélevé à 2 cm de la bordure des pots et à 5 cm de profondeur.

En utilisant la technique des suspensions-dilutions, 0,1 mL de chaque dilution a été étalé sur milieu S modifié (Messian et al ; 1965). Le dénombrement des colonies a été effectué après 64 h d'incubation à 25 °C. Le nombre de propagules par g de sol a été calculé selon la formule suivante : **Nombre UFC g-1 de sol = (Nc/0,1 mL) * Fd**

UFC = unités formant des colonies.

Nc = nombre de colonies.

Fd = facteur de dilution.

4. Analyses statistiques

Consiste en une analyse de la variance et un test PPDS ou de comparaison planifiée, basé sur la théorie de stimulation de la croissance des plantes, à l'aide du logiciel STATISTICA au seuil de 5 %.

Les analyses statistiques ont porté sur :

- Les résultats des trois plants pour la partie stimulation de la croissance.
- Les trois répétitions de chacun des deux autres plants pour la colonisation des racines.
- Les cinq répétitions dans le cas du maintien du *Trichoderma* dans le sol et la rhizosphère.

Chapitre 2 : Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Effet du *Trichoderma* sur les paramètres de rendement

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

L'effet du *Trichoderma* sur les paramètres de rendement sur l'inoculation des racines des plantes de tomate est présenté dans le tableau 03.

L'analyse de la variance au seuil de 5 % a montré que la souche TH1 du *T. harzainum* a induit la meilleure réponse de stimulation des paramètres de croissance des plants de tomate, une meilleure croissance axiale des plantes, une meilleure genèse des feuilles et des fleurs (tableau 3 et fig 4). Aussi, les poids frais et secs des pousses, et surtout des racines de ces plantes, ont surpassé ceux des autres lots.

Tableau 03 Variation des paramètres de rendement des plants de tomate inoculés par différentes souches de *Trichoderma*.

TRAITEMENT	TAILLE (CM)	FEUILLES (NB /PLANT)	FEUILLES ATTAQUE ES ₁ (%)	POIDS FRAIS DES POUSES (G)	POIDS SEC DES POUSES(G)	POIDS FRAIS DES RACINES (G)	POIDS SEC DES RACINES (G)	FLEURS NB/PLANT
TEMOIN	38,83 D ²	10,33 B	22,42 A	5,30 D	2,46 D	5,53 E	0,56 D	4,33 C
TH1	56,66 A	13,66 A	0,00 B	42,90 A	7,53 A	16,80 A	1,53 A	14,33 A
TH2	52,00 BC	12 ,66AB	0,00 B	32,20 C	5,56 B	13,73 B	1,30 AB	11,6 AB
TCOMP	54,16 AB	12,33 AB	0,00 B	38,23 B	8,03 A	10,83 C	1,07 BC	7,66 BC
TCTOM	50,66 C	11,00 B	0,00 B	30,46 C	5,13 BC	7,96 DE	0,87 C	8,00 BC
TGRAINE	50,33 C	11, 33 B	5,80 B	30,50 C	4,43 C	10,06 CD	1,05 BC	7,66 BC
TV1	41,00 D	11,00 B	9,09 B	18,80 D	2 ,53 D	5,40 E	0,28 D	6 ,33 C

¹ Feuilles présentant des lésions ou des nécroses. ²Dans chaque colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % selon le tes de PPDS ou de comparaison planifiée.

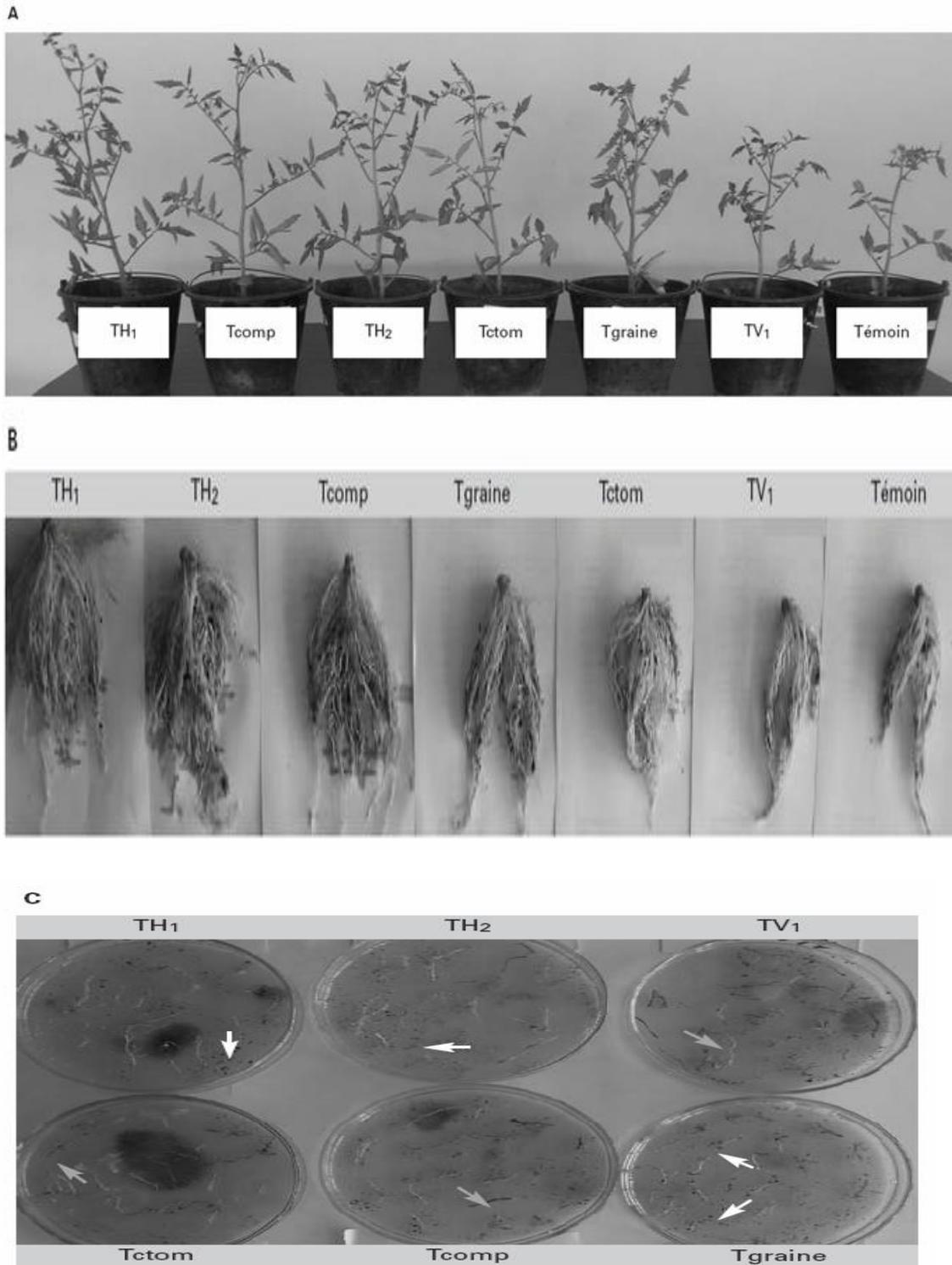


Figure 04 Effet de l'inoculation des racines des plants de tomate par différentes souches du *Trichoderma* sur (A) la croissance et le développement des plants de tomate; (B) le développement du système racinaire; (C) la colonisation des racines (les flèches blanches indiquent les propagules du *Trichoderma* et les flèches grises indiquent les fragments de pailles).

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

- Les souches TH2, Tcomp, Tctom et Tgraine ont induit une réponse nettement supérieure à celle des témoins non inoculés.
- La souche Tcomp a engendré une croissance axiale, nombre de feuille et biomasse végétative proche de ceux engendrées par la souche TH1.
- La souche TH2 s'est plutôt intégrée avec la souche TH1 en nombre de feuilles, en biomasse racinaire et en nombre de fleurs.
- La souche Tctom caractérise la seule plante qui produit un fruit.
- La souche TV1 du *T.viride* est la seule parmi les six souches testées qui a un effet négatif sur les plantes inoculées, leurs paramètres de croissance ont été similaires à ceux des témoins.
- Les plantes inoculées par les souches, TH1, TH2, Tcomp ont enregistré une protection totale des feuilles.
- Les plantes inoculées par les souches Tgraine et TV1 ont présenté des lésions engendrées par le genre *Alternaria*.
- Les plantes témoins ont présenté des lésions et des nécroses, le diamètre des lésions était nettement plus élevé que celui des plantes traitées par ces deux souches de *Trichoderma*.

1.2. Colonisation des racines par le *Trichoderma*

Les pourcentages de la colonisation des racines de tomate par différents souches du *Trichoderma* sont illustrés dans la figure 05.

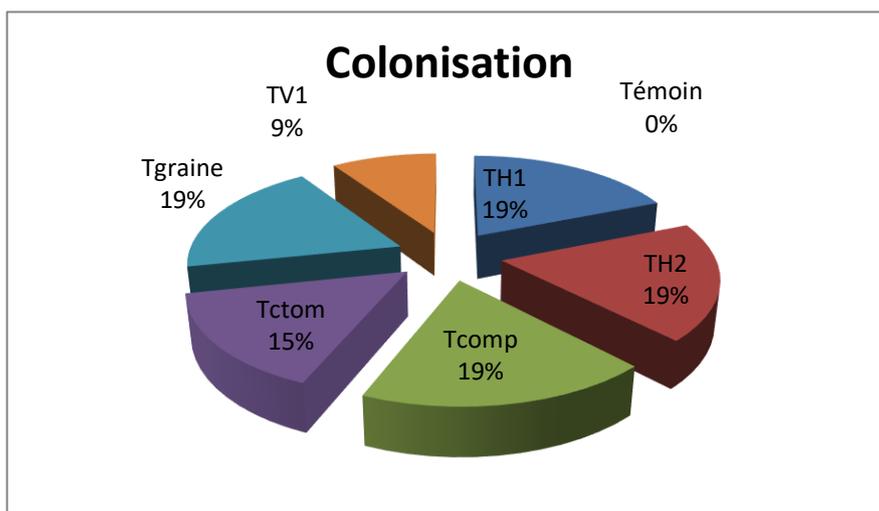


Figure 05 Colonisation des racines des plants de tomate par différentes souches du *Trichoderma*

La souche TV1 : il n'y a pas de différence significative de la colonisation des racines des plantes de tomate par *Trichoderma*.

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

Il existe une différence entre les souches dans la capacité à empêcher les champignons du sol de pénétrer dans les racines (Fig. 1C).

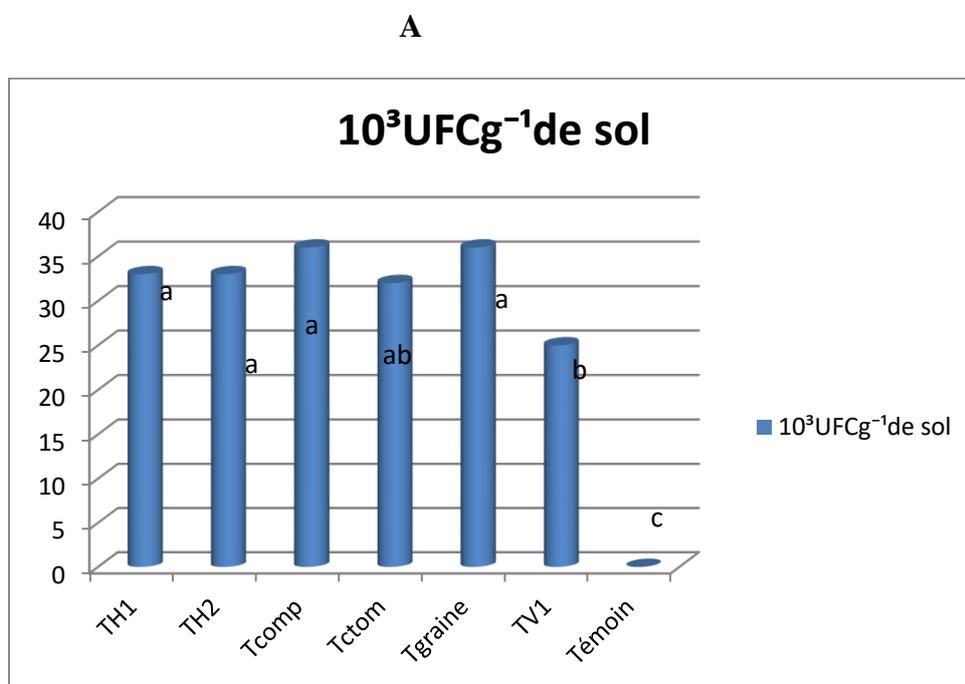
En présence des souches Tgraine, TH2 et Tcomp une faible croissance des champignons est notée.

Le repiquage sur milieu gélosé des racines des plantes inoculées par Tgraine n'a révélé la présence d'aucune autre espèce de champignons.

L'identification des espèces isolées à partir des racines a montré la dominance des champignons suivant : *Alternaria alternata* (Fr. keissl.), *Aspergillus fumigatus* Fresen., *Helminthosporium spiciferum* L., *Fusarium sp.* et *Ulocladium atrum* Preuss.

1.3. Maintien du *Trichoderma* dans le substrat de culture

Les niveaux des populations des souches du *Trichoderma* dans le substrat de culture des plants de tomate au niveau de la rhizosphère (3A) et à distance de racine (3B), sont illustrés dans la figure 03. Des concentrations des souches du *Trichoderma* au niveau de rhizosphère sont plus élevées que celle à distance des racines. Les différentes souches du *Trichoderma* à distance des racines demeurent nettement supérieures à celle rencontrées au niveau du sol et de la rhizosphère des lots témoins ou l'apparition des colonies du *Trichoderma* était faible.



B

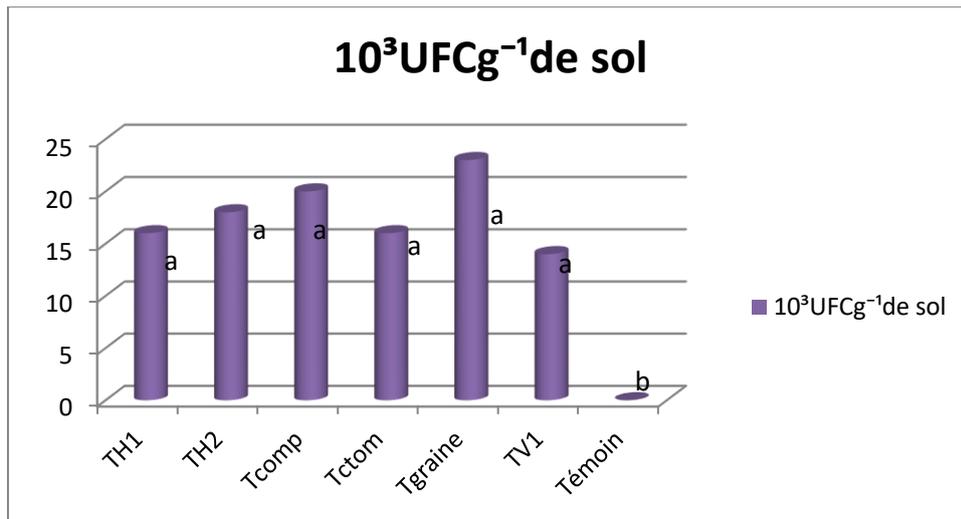


Figure 06 Populations des souches du *Trichoderma* (A) au niveau de la rhizosphère des plants de tomate et (B) à distance des racines, à la fin de l'essai.

2. Discussion

L'utilisation du tourbe comme base nutritive à l'inoculum du *Trichoderma* permet de se multiplier au cours des premiers jours et éviter l'influence des microorganismes du sol. Les résultats montrent que :

Presque toutes les souches du *Trichoderma* sont parvenues à stimuler les paramètres de croissance des plants de tomate à des degrés variables. Cette stimulation traduite par une meilleure croissance axiale, et une biomasse importante. La stimulation de la biomasse est apparue dans les deux parties aérienne et racinaire (270 à 320) par rapport au témoin. L'augmentation a été régnée pour les poids frais que pour les poids secs ce qui montre un accroissement général du métabolisme et d'une absorption excessive d'eau.

L'addition du *T. harzianum* et du *T. koningii* à un sol préalablement autoclavé augmentait le poids sec des racines ainsi que de la partie aérienne de la tomate et du tabac de 213 à 291 % par rapport au témoin non traité. Ceci en accord avec les travaux de Windham et al. (1986). Le poids sec de plantes de radis avait augmenté de plus de 274 % après traitement par la souche T-95 du *T. harzianum* ceci est confirmé par les travaux (Baker et al. 1948). L'inoculation de tomate avec une souche de *T. atroviride* ou *P. karst* permettait d'augmenter la surface racinaire et le poids des plantules de tomate *in vitro* ainsi que le rendement commercialisable en serre (Gravel et al. 2005).

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

A partir d'une comparaison des tomates inoculées par une souche pathogène du *F. oxysporum Schlechtend.:Fr.* et par *T. harzianum* avec des plants témoins sains non inoculés et non traités, ils ont constatés que les plantes inoculées par le pathogène et l'antagoniste présentaient un développement végétatif et racinaire plus important que les témoins (Hibar et al. 2005). Les souches *T. harzianum* ont amélioré les paramètres de croissance des plantes, alors que *T. viride* ont donné une réponse similaire à celle des témoins. La plupart des travaux démontrent l'effet stimulateur de croissance de *T. harzianum* l'ont confirmé sur le pourcentage de germination, la matière sèche et le nombre moyen de fleurs des plants de tomate et de concombre, et inhibant sur le *Pythiu* (Bmesnared et Davet 1993).

Pour bien illustrer les mécanismes de stimulation de la croissance des plantes par *Trichoderma*, les chercheurs ont expliqué du développement d'une culture de melon suite à l'application du *T. harzianum* par une activation du système de défense de la plante, une augmentation de l'activité chitinase et peroxidase et un accroissement de l'activité enzymatique dans les feuilles induisant une résistance systémique chez ces plants (Hibar et al. 2005 ; Yedidia et al. 1999).

Alors que, ce phénomène à l'inhibition des pathogènes mineurs, induisant ainsi une forte croissance et un meilleur approvisionnement des nutriments (Ousley et al. 1993). Dans cette étude, les souches du *Trichoderma* en particulier *T. harzianum* ont confirmé la stimulation de croissance des plantes à partir de la réduction de pourcentage des lésions sur les feuilles de tomate par rapport aux témoins.

Encore, d'autres travaux ont mis en évidence l'aptitude des espèces du *Trichoderma* à stimuler la croissance des plantes sans aucuns agents pathogènes. (Chang et al. 1986; Kleifel et Chet 1992; MacKenzie et al. 1995; Paulitz et al. 1986; Windham et al. 1986).

Cette étude montre que les souches du *Trichoderma* en plus de leur effet de défense, elles influent aussi sur les métabolismes et l'activité enzymatique. Les souches de *Trichoderma* étudiées produisaient des régulateurs de croissance qui ont amélioré le taux de germination et les poids secs des pousses, on conclut que les réponses de stimulation de *Trichoderma* sont en raison de sa capacité à lutter contre les pathogènes mineurs, et produire des régulateurs de croissance (Windham et al. 1986 ; et Baker 1988).

L'aptitude à survivre dans un milieu différent au milieu d'origine est une caractéristique très importante à habituer et à coloniser les racines des plantes afin de les protéger contre les pathogènes (Namec et al. 1996).

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

Dans cette étude la colonisation des racines des plantes par les souches de *Trichoderma* et leur aptitude à la compétition avec les autres microorganismes du sol diffèrent d'une souche à une autre. Les souches Tgraine, Tcomp, sont plus compétitives vis-à-vis des microorganismes du sol que les autres souches de *Trichoderma*.

Ces résultats confirment les travaux qui ont rapporté que la stimulation de croissance des plantes par le *T. harzianum* serait due à l'augmentation du transfert des nutriments à partir du sol jusqu'aux racines grâce à la colonisation de celles-ci par le *Trichoderma* (Kleifield et Chet 1992). *T. harzianum* améliore le transfert des nutriments du compost jusqu'aux racines d'une manière similaire aux effets des mycorhizes, on suppose que la stimulation des plantes est due à la production de métabolites thermostables qui stimulent la croissance ou à la capacité du *T. harzianum* à inactiver les matières toxiques du sol qui inhibent la croissance des plantes (Ousley et al. (1994).

Les souches du *Trichoderma* colonisent l'épiderme des racines et les couches corticales externes et libèrent des molécules bioactives, en plus de l'induction de la résistance chez les plantes, l'amélioration de la croissance des plantes et l'approvisionnement en nutriments (Harman 2006).

L'identification de composés responsables de la stimulation de croissance et la démonstration de leur effet sur des plantes cultivées en serre devraient permettre de conclure sur le mécanisme mis en jeu (Besnard et Davet 1993).

D'un autre côté, la stimulation des plantes par le *Trichoderma* dépend de sa capacité à survivre et à se maintenir dans la rhizosphère (Kleifield et Chet (1992).

A la fin des essais l'estimation des populations du *Trichoderma* a montré leur capacité à se maintenir à un niveau élevé dans la rhizosphère, et ce niveau varie d'une souche à l'autre. Le classement des souches du *Trichoderma* selon la population estimée au niveau de la rhizosphère et à distance selon leur aptitude compétitive (Ozbay et Newman (2004) ; et Besnard et Davet 1993).

3. Conclusion

Dans cette étude nous concluons que les souches du *T. harzianum*, de plus en plus utilisés à la fois pour leur capacité à favoriser la croissance des plantes et leur effet protecteur contre les pathogènes, exercent un effet stimulateur sur la croissance des plants de tomates. Pour obtenir des plantes vigoureuses contre les phytopathogènes et un bon rendement, il est nécessaire

Deuxième partie : étude et analyse d'un article scientifique

d'inoculer des racines de plantules dans un substrat de germination qui constitue donc un moyen efficace, positif et peu coûteux.

Il est intéressant de noter que l'application du *T. harzianum* en agriculture est une approche très efficace qui permet de réduire l'utilisation des régulateurs et des fongicides et donc limiter les impacts négatifs sur l'environnement et donner une meilleure production. Les plantes traitées au *Trichoderma* bénéficient d'un meilleur développement et d'une meilleure protection. Mieux encore, la recherche est toujours en cours sur le mécanisme de sécrétion des métabolites ou des régulateurs de croissance du *T. harzianum* afin de le confirmer.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Au cours de notre travail nous avons essayé de montrer l'effet du champignon du genre *Trichoderma* sur les cultures à travers l'analyse d'un article scientifique portant sur « L'effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat ». Plus spécifiquement dans cette étude, et d'après les analyses statistiques, il a été démontré l'aptitude des *Trichoderma* à stimuler la croissance des plantes de tomates.

Les résultats ont bien montré l'effet excellent de *T. harzianum* par rapport aux autres souches dans la stimulation de la croissance de tomate notamment les biomasses végétatives et racinaires à partir de la croissance axiale des plantes, réduction de pourcentage des lésions sur les feuilles de tomate, une meilleure genèse des feuilles et des fleurs. Aussi, les poids frais et secs des pousses, et surtout des racines de ces plantes. De plus la production des régulateurs de croissance afin de protéger les plantes contre les impacts pathogènes.

A l'instar de ces résultats, nous montrons que *Trichoderma harzianum* possède une énorme capacité pour améliorer et favoriser la croissance des plantes de tomates, et donc la recherche est toujours en cours pour confirmer les intérêts pratiques du *Trichoderma harzianum* en lutte biologique pour la culture de la tomate.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- Agarwala et Saha, 1984, Begon et al., 1990 Mathias de Kouassi, « Les possibilités de la lutte microbiologique », Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement [Online], Volume 2 Numéro 2 | octobre 2001, Online since 01 October 2001, connection on 24 August 2020. URL : <http://journals.openedition.org/vertigo/4091> ;DOI :<https://doi.org/10.4000/vertigo.4091>
- Baker, R. 1988.Trichoderma spp. as plant-growth stimulants, CRC Crit. Rev. Biotechnol. 7 (2) : 97-106.
- Baker, R., Y. Elad et I. Chet. 1984.The controlled experiment in the scientific method wi special emphasis on biological control. Phytopathology 74 : 1019-1021
- Besnard, O. et P. Davet. 1993.Mise en évidence de souches de Trichoderma spp. à la fois antagonistes de Pythium ultimum et stimulatrices de la croissance des plantes.Agronomie 13 : 413-421
- Camporota, P. 1985.Antagonisme in vitro de Trichoderma spp. vis-à-vis de Rhizoctonia solani Kühn. Agronomie 5 (7) : 613-620.
- Chang, Y.C., Y.C. Chang, R. Baker, O. Kleifeld et I. Chet. 1986.Increased growth of plants in the presence of the biocontrol agent Trichoderma harzianum.Plant Dis.70 (2) : 145-148
- Chet, I., Viterbo ,A. and Brotman ,Y. (2006) . plant Biocontrol by *Trichoderma spp.* Department of biological chemistry. [www.weizmann.ac.il / biological chemistry / scientist / chet / chet . html/](http://www.weizmann.ac.il/biological_chemistry/scientist/chet/chet.html) .
- Corbaz , R .(1999). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes . presses polytechniques et universitaires romandes . 9 : 167-255.
- Davet, P. 1979.Technique pour l'analyse des populations de Trichoderma et de Gliocladium virens dans le sol. Ann.Phytopathol. 11 (4) : 529-533
- 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
- Davet, P., M. Artigues et C. Martin. 1981.Productions en conditions non aseptique d'inoculum de Trichoderma harzianum Rifai pour des essais de lutte biologique.Agronomie 1 (10) : 933-936
- Davet,. P. and Rouxel, F. (1997) .Détection et isolement des champignons du sol. Institut national de la recherche Agronomique.

Références bibliographiques

- Elsevier Inc., Rusch A, Valantin-Morison M, Sarthou JP & Roger-Estrade J, 2010. Biological control of insect pests in agroecosystem: effects of crop management, farming systems and seminatural habitats at the landscape scale: a review. Chapter 6 in *Advances in Agronomy* 109: 219-259.
- Gurr GM, Wratten SD & Luna JM, 2003. Multi-function agricultural biodiversity : pest management and other benefits. *Basic Appl. Ecol.* 4: 107-116.,
- Gravel, V., C. Martinez, H. Antoun et R.J. Tweddell. 2005. Stimulation de la croissance de plants de tomate en hydroponie par le *Pseudomonas putida* et le *Trichoderma atroviride*. 97^e Assemblée annuelle de la Société de protection des plantes du Québec, 9 et 10 juin 2005. *Phytoprotection* 86 : 71-79.
- Guy, R. René , S. Christine S, « LUTTE BIOLOGIQUE », *Encyclopædia Universalis* [en ligne], consulté le 20 Juillet 2020. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/lutte-biologique>
- Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96 : 190-194
- Harman, G. E. (2006). *Trichoderma* spp. Including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. kongii*, *T. hamatum* and other spp. Cornell University , Geneva . (<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/trichoderma.htm>)
- Hemosá, M .R. , Grondona, I ., Iturriaga, E. A., Diaz – Minguez, J.M., Castroc, C., Monte, E. and Garcia – Acha, I. (2000). Molecular characterization and Identification of biocontrol Isolates of *Trichoderma* spp. university Spain. /Universidad de Salamanca ,spain
- Hibar, K., M. Daami-Remadi, H. Khiareddine et M. El Mahjoub. 2005. Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 9 (3) : 163-171
- Hmouni, A., M. Massoui et A. Douira. 1999. Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium* spp. à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *Al Awamia* 100 : 75-92
- I.M. Hall & P.H. Dunn, « Entomophagous Fungi Parasitic on the Spotted Alfalfa Aphid », *Hilgardia*, septembre 1957
- Kleiweled, O. et I. Chet. 1992. *Trichoderma harzianum*-Interaction with plants and effects growth response. *Plant Soil* 144 (2) : 267-272

Références bibliographiques

- k̄uc̄uk,Ç. and kivanç, M . (2002) Isolation of *Trichoderma spp* .and Determination of Their *Antifungan*,Biochemical and Physiological Features . University Turkey.
- Lamy Krafft, P. et M.F. Roquebert. 1981.Analyse des interactions entre deux champignons antagonistes :*Trichoderma viride* Pers. et *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. Études préliminaires. *Cryptogam. Mycol.* 2 : 137-151
- Lynch, J.M., R.D. Lumsden, P.T. Atkey et M.A. Ousley. 1991a.Prospects for control of *Pythium damping-off* of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Enterobacter spp.**Biol. Fertil. Soils* 12 : 95-99.
- Lynch, J.M., K.L. Wilson, M.A. Ousley et J.M. Whipps. 1991b.Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. *Lett. Appl.Microbiol.* 12 : 56-61.
- Marguit,R 2013 « Le permaculture conseils et principes de base pour jardinier autrement Edition OUEST –France <https://www.jardiner-autrement.fr/les-micro-organismes/>
- Messiaen, C.M. et R. Lafon. 1965. Les maladies des plantesmaraîchères. INRA, Paris. Tome 2
- Mouria, A., A. Ouazzani-Touhami, A. Douira, R. Benkirane,A. Mlaiki et M. El Yachioui. 1997a. Antagonisme in vitro de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *P. oryzae*.*Al Awamia* 96 :9-17
- Mouria, A., A. Ouazzani-Touhami, A. Mlaiki, M. El Yachioui et A. Douira. 1997b.Lutte biologique contre *Helminthosporium oryzae*: Antagonisme in vivo Des *Trichoderma spp.* vis-à-vis de l'*H. oryzae*. Troisième congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 23-24 déc. P. 113-116
- Nelson , E.B.(2004) .Microbial dynamics et interactions dans le spermosphere . *Annuel reviews phytopathology* .New York. 25 p.
- Nemeç, S., L. Datnoff et J. Strandberg. 1996.Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus.*Crop Prot.* 15 : 735-742
- Ousley, M.A., J.M. Lynch et J.M. Whipps. 1994.Potential of *Trichoderma spp.* as consistent plant growth stimulators.*Biol. Fertil. Soils* 17 (1) : 85-90.
- Ousalah , A.(2003). Recherche des activités microbiennes antagonistes des populations fusariennes (cas de la microflore bactérienne et actinomycetale thermophile antagoniste *Fusarium oxysporum albedinis*). These de MAGISTERE en phytopathologie Université " SAAD DAHLEB" de Blida . 157 p .

Références bibliographiques

- Ozbay, N. et S.E. Newman. 2004. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedling. *Acta Hortic.* 635 : 131-135
- Paulitz, T. C. and Bélanger, R.R. (2001). *Biological Control in Greenhouse Systems. Annual Reviews.Phytopathology* . 348 p.
- Paulitz, T., M. Windham et R. Baker. 1986.Effect of peat:vermiculite mixes containing *Trichoderma harzianum* on increased growth response of radish. *J. Am. Soc. Hortic.Sci.* 111 (5) : 810-816
- Samuels, G.j., Chaverri, P.,Farr, D.F. and McCray, E.B.(2006). *Trichoderma* Online, systematic Botany and.Mycology Laboratory. ([http://nt.ars-grin.gov/taxadescriptions/keys TrichodermaIndex.cfm](http://nt.ars-grin.gov/taxadescriptions/keys%20TrichodermaIndex.cfm)).
- Shelton, T. (1997). *Trichoderma* for Biocontrol of Plant Pathogens: From Basic Research to commercialized products.Cornell University NYSAES. Geneva.p8 <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/bcconf/talks/harman.htm>).
- Suty , L, « Chapitre 6. Utilisation de prédateurs », dans : , *La lutte biologique. Vers de nouveaux équilibres écologiques*, sous la direction de Suty Lydie. Dijon cedex, Éducagri éditions, « Sciences en partage », 2010, p. 135-148. URL : <https://www.cairn.info/la-lutte-biologique--9782844447722-page-135.htm>
- Volkof , 2009. Utilisation des microorganismes. In "La lutte biologique - Application aux arthropodes ravageurs et aux adventices". B. Pintureau (ed), pp99-124. Editions Ellipses, Collection Technosup.
- Windham, M.T., Y. Elad et R. Baker. 1986.A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp.*Phytopathology* 76 : 518-521.
- Yedidia, I., N. Benhamou et I. Chet. 1999.Induction of defence responses in cucumber plant (*Cucumis sativus*L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl.Environ. Microbiol.* 65 : 1061-1070
- Zidane, L. 2004.Étude des groupements messicoles dominés par l'avoine stérile (*Avena sterilis* L. spp. *macrocarpa*Mo.) dans quelques régions du Maroc occidental et de la compétitivité de cette adventice vis-à-vis du blé dur.Thèse de Doctorat d'État Es-Sciences Naturelles.Université Ibn Tofaïl, Faculté des Sciences, Kénitra. 178 pp.

Résumés

Résumé

Les champignons du genre *Trichoderma* ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre les phytopathogènes. Plusieurs études ont prouvé les différents effets bénéfiques des *Trichoderma* à stimuler la croissance de certaines plantes. L'effet de six souches de *Trichoderma* sur les paramètres de croissance et de rendement d'une culture de tomate en serre a été étudié dans un travail que nous avons analysé dans la partie expérimentale de ce mémoire, et les résultats montrent que toutes les souches du *T.harzianum* ont stimulé la croissance de tomate et augmenté la biomasse végétative et racinaire, alors que *T.viride* a un effet différent et similaire au témoin. En plus de la stimulation, *T.harzianum* ont protégé les feuilles de tomate contre les nécroses et des lésions. Ensuite le pourcentage de colonisation des racines par les différentes souches du *T.harzianum* est plus élevé (86 à 100 %) alors qu'elle est significativement plus faible pour la souche TV du *T.viride*. Aussi les différentes souches du *Trichoderma* ont pu se maintenir au niveau de la rhizosphère à des concentrations plus élevées par rapport au témoin.

Mots clés croissance, stimulation, biomasse racinaire, biomasse végétative, *Trichoderma*.

ملخص

تم استخدام الفطريات من جنس *Trichoderma* كعوامل تحكم بيولوجية ضد مسببات الأمراض النباتية ، وقد أثبتت العديد من الدراسات الآثار المفيدة المختلفة للتريكوديرما في تحفيز نمو بعض النباتات. تمت دراسة تأثير ست سلالات من *Trichoderma* على معاملات النمو والإنتاجية لمحصول طماطم الدفيئة في عمل قمنا بتحليله في جزء هذه الأطروحة ، وأظهرت النتائج أن جميع سلالات *T.harzianum* من قام بتحفيز نمو الطماطم وزيادة الكتلة الحيوية الخضرية والجنزية ، بينما كان لـ *T. viride* تأثير مختلف ومثابه لعنصر التحكم. بالإضافة إلى التحفيز ، قام *T. harzianum* بحماية أوراق الطماطم من النخر و الآفات. ثم كانت نسبة استعمار الجذور بواسطة سلالات مختلفة من *T. harzianum* أعلى (86 إلى 100٪) بينما كانت أقل بكثير بالنسبة لسلالة *T. virid* التلفزيونية ، كما تمكنت سلالات *Trichoderma* المختلفة من الحفاظ عليها. على مستوى منطقة الجذور بتركيزات أعلى مقارنة بالمجموعة الضابطة.

الكلمات المفتاحية النمو ، التحفيز ، الكتلة الحيوية للجذر ، الكتلة الحيوية الخضرية ، التريكويديرما.

Résumés

Abstract

Fungi of the genus *Trichoderma* have been used as biological control agents against phytopathogens. Several studies have proven the different beneficial effects of *Trichoderma* in stimulating the growth of certain plants. The effect of six strains of *Trichoderma* on the growth and yield parameters of a greenhouse tomato crop was studied in a work that we analyzed in the practical part of this thesis, and the results show that all the strains *T. harzianum* stimulated tomato growth and increased vegetative and root biomass, while *T. viride* had a different and similar effect to the control. In addition to the stimulation, *T. harzianum* protected tomato leaves against necrosis and lesions. Then the percentage of root colonization by the different strains of *T. harzianum* is higher (86 to 100%) whereas it is significantly lower for the TV strain of *T. viride*.

Also the different strains of *Trichoderma* were able to maintain themselves in the rhizosphere at higher concentrations compared to the control.

Key words: growth, stimulation, root biomass, vegetative biomass, *Trichoderma*.

Année universitaire : **2019/2020**

Présenté par : BELLIBEL Nour Elhouda

CHEMORI Zahra

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie

Option : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Thème : Effet bénéfique des champignons du genre *Trichoderma* sur les cultures : cas de la tomate

Résumé

Les champignons du genre *Trichoderma* ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre les phytopathogènes. Plusieurs études ont prouvé les différents effets bénéfiques des *Trichoderma* à stimuler la croissance de certaines plantes. L'effet de six souches de *Trichoderma* sur les paramètres de croissance et de rendement d'une culture de tomate en serre a été étudié dans un travail que nous avons analysé dans la partie expérimentale de ce mémoire, et les résultats montrent que toutes les souches du *T.harzianum* ont stimulé la croissance de tomate et augmenté la biomasse végétative et racinaire, alors que *T.viride* a un effet différent et similaire au témoin. En plus de la stimulation, *T.harzianum* ont protégé les feuilles de tomate contre les nécroses et des lésions. Ensuite le pourcentage de colonisation des racines par les différentes souches du *T.harzianum* est plus élevé (86 à 100 %) alors qu'elle est significativement plus faible pour la souche TV du *T.viride*. Aussi les différentes souches du *Trichoderma* ont pu se maintenir au niveau de la rhizosphère à des concentrations plus élevées par rapport au témoin.

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Frères Mentouri Constantine 1.

Mots clés croissance, stimulation, biomasse racinaire, biomasse végétative, *Trichoderma*.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Pr. DEHIMAT Laid (UFMC1)

Encadreur : Dr. BELLIL Ines (UFMC1)

Examineur : Dr. BECHKRI Sakina (UFMC1)