

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

**Etude de l'effet antagoniste *in vitro* et *in vivo* de
Trichoderma sp. vis-à-vis des isolats de *Fusarium*
sp. agent causal de la fusariose du blé**

Présenté par :

- SOUIKI sabrina.
- ZERMANE roumeissa.

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

*Avant tout , nous remercions **ALLAH** : le tout Miséricordieux , l'unique , le puissant , Maitre des cieux et de la terre pour nous avoir guidé , protégé , aidé et nous a permis de mener à bien ce travail .*

C'est avec un grand plaisir que nous réservons ces lignes en signe de gratitude et de reconnaissance à ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail :

*Notre responsable madame **Mme BELLIL INES**, encadreur de notre mémoire, merci pour son aide, la correction du manuscrit, et pour sa patience.*

*Un grand merci à monsieur **BOUANAKA HAMZA** pour ces conseils, sa confiance, son encouragement.*

*Ensuit nous tenons à remercier les membres du jury **Mr. DEHIMAT LAID** et **Mme. DECHKRI SAKINA** pour avoir pris le temps d'évaluer et de corriger ce mémoire.*

Nous n'oublierons pas de remercier tous ceux qui nous ont soutenues et encouragées tout au long de la réalisation de ce travail.

Merci à tous.



Dédicace

*A ma très chère **mère***

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

*A mon très cher **père***

Tu es toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

*A mon cher **frère, Abdelali.***

*A ma chère **sœur, Rania.***

Puisse Dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

*A mes **grandes mères***

Qui je souhaite une bonne santé et longue vie.

*A la mémoire de mon **oncle 'chérif'***

*A ma chère et fidèle **amie 'Rym'***

*A ma chère **amie et binôme, Roumeissa.***

A qui je souhaite tout le bonheur et toute la réussite dans sa vie.

*A ma **famille**, mes proches et ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.*

Sabrina.



Dédicace

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, le respect et l'estime que j'ai toujours eu pour vous **papa**. Merci pour vos efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*A **maman**, le symbole de la tendresse, qui toujours me donne l'amour, le courage et la confiance a mon soi.*

*A ma chère **sœur** : **wissem**.*

*A mes chers **frères** : **Nesserdine** , **Nour islam**, **Sid Ali**.*

*A ma chère **amie** : **Hanane**.*

*A ma chère **amie** et **binôme** : **Sabrina** en particulière, à qui je souhaite beaucoup de réussite et de bonheur **inchallah**.*

*A mes toutes **familles** : **Zermane**, **Boumaaza**.*

*A tous nos **professeurs** qui nous ont enseigné.*

Roumeissa

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

I. Introduction 01

II. Revue bibliographique

1. Le blé 03

1.1. Généralités 03

1.2. caractéristiques botaniques du blé..... 03

1.3. Cycle végétatif du blé..... 04

1.4. Maladies du blé 05

1.4.1. Maladies causant des symptômes localisés sur feuillage..... 05

1.4.2. Maladies causant des pourritures racinaires..... 06

2. Le *Fusarium*..... 07

2.1. Taxonomie..... 07

2.1.1. Classification de *Fusarium*..... 08

2.2. La maladie de la Fusariose..... 08

2.2.1. Généralités..... 08

2.2.2. Symptômes..... 09

2.2.3. Cycle de développement de la maladie..... 10

2.3. Les mycotoxines..... 11

2.4. les moyens de lutte contre les champignons de *fusarium*..... 12

2.4.1. Moyens de luttés culturaux..... 12

2.4.2. Moyens de lutttes physiques.....	12
2.4.3. Moyens de lutttes chimiques.....	13
2.4.4. La lutte biologique.....	13
3. Le genre <i>Trichoderma</i>.....	13
3.1.Morphologie.....	14
3.2.Taxonomie.....	15
3.3.Ecologie.....	16
3.4.Pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i>	17
3.5.Mode d'action de <i>Trichoderma</i>	18

III. Matériel et méthodes

1. Matériel fongique.....	20
1.1.Agent pathogène.....	20
1.2.Agent antagoniste.....	20
1.3.Identification morphologique des isolats fongiques.....	20
1.3.1. Observation macroscopique.....	20
1.3.2. Observation microscopique.....	20
2. Matériel végétal.....	21
3. Méthodes.....	21
3.1.Étude in vitro de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp</i> vis-à-vis des isolats de <i>Fusarium sp</i>.....	21
3.1.1. Confrontation directe.....	21
3.1.2. Confrontation indirecte.....	22
3.1.3. Pourcentage d'inhibition.....	22

3.2.Étude in vivo de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp</i> vis-à-vis des isolats de <i>Fusarium sp</i>.....	23
3.2.1. Le test des tubes en verres.....	23
3.2.1.1. Préparation des tubes.....	23
3.2.1.2 .Inoculation des tubes.....	23
3.2.2. Le test des pots.....	23
3.2.2.1. Préparation des pots.....	23
3.2.2.2. Inoculation des pots.....	24

IV. Résultats et discussion

1. Identification morphologique des isolats fongiques.....	25
1.1.Observation macroscopique.....	25
1.2.Observation microscopique.....	25
1.1.1. Etude macroscopique de l'antagoniste.....	25
1.1.2. Etude microscopique de l'antagoniste.....	26
2. Étude in vitro de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp</i> vis-à-vis des isolats de <i>Fusarium sp</i>.....	27
2.1.Confrontation directe.....	27
2.2.Confrontation indirecte.....	30
3. Étude in vivo de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp</i> vis-à-vis des isolats de <i>Fusarium sp</i>.....	33
3.1.Le test des tubes en verres.....	33
3.2.Le test des pots.....	35
V. Conclusion générale et perspectives.....	37

Références bibliographiques

Annexes

Résumés

Liste des tableaux

Tableau1 : les résultats des différentes confrontations directes (pathogène- antagoniste).....28

Tableau 2 : diamètres des colonies des isolats de *Fusarium sp.* En présence de *Trichoderma sp.* Par confrontation directe après six jours d'incubation à 30°C comparativement au témoin.....29

Tableau3 : les résultats des différentes confrontations indirectes (pathogène- antagoniste)...31

Tableau 4 : diamètres des colonies des isolats de *Fusarium sp.* En présence de *Trichoderma sp* par confrontation indirecte après six jours d'incubation à 30°C comparativement au témoin.....32

Liste des figures

Figure1 : Schéma illustrant le cycle de développement du blé.....	4
Figure 2 : Septoriose sur feuille de blé.....	6
Figure 3 : Pourriture racinaire du blé.....	6
Figure 4 : Mycélium, sporodochia et spores de <i>Fusarium sp.</i> (Champion, 1997).....	7
Figure 5 : Fusariose du blé.....	9
Figure 6 : Principaux symptômes de fusariose de l'épi sur épi (A) et grain de blé (B).....	10
Figure7 : Cycle de développement de la maladie.....	11
Figure 8 : Structure morphologique de <i>Trichoderma</i>	14
Figure 9 : confrontation entre le pathogène et l'antagoniste par contact direct sur milieu gélosé.....	21
Figure10 : confrontation indirecte entre le pathogène et l'antagoniste.....	22
Figure11 : observation macroscopique du <i>Trichoderma sp</i>	25
Figure 12 : observation microscopique du <i>Trichoderma sp</i>	26
Figure 13 : Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches pathogènes par <i>Trichoderma sp.</i> Confrontation directe.....	29
Figure 14 : Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches pathogènes par <i>Trichoderma sp.</i> confrontation indirecte.....	32
Figure15 :couronne saine (A), brunissement complet de la couronne (B), la mort de la plantule (C).....	33
Figure 16 : les indices de maladie des traitements de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp.</i> Contre le pathogène <i>Fusarium sp</i>	34
Figure 17 : couronne saine (A), brunissement léger (B), brunissement de la moitié de la couronne (C), brunissement complet de la couronne (D), la mort de la plantule (E).....	35
Figure18 : les indices de maladie des traitements de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp.</i> Contre le pathogène <i>Fusarium sp</i>	36

Liste des abréviations

T14 : *Trichoderma* 14.

T12 : *Trichoderma* 12.

T9 : *Trichoderma* 9.

FC2: *Fusarium* 2.

Fc4: *Fusarium* 4.

Fc11: *Fusarium* 11.

Fc20 : *Fusarium* 20.

I(%) : représente inhibition moyenne de la croissance mycélienne

Cn : le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste.

Co : le diamètre moyen des colonies témoins.

PDA : Potato Dextrose Agar.

Introduction

1-Introduction

Les céréales et leurs dérivées constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement. La filière céréalière constitue une des principales filières de la production agricole en Algérie (DJERMOUN A, 2009).

Parmi toutes les céréales, le blé constitue une céréale d'importance primordiale à travers le monde, d'un point de vue économique et en tant que denrées alimentaires pour l'homme.

Le blé est la principale production céréalière, en Algérie. Dans le marché mondial, il représente avec le riz et le maïs 85.4 % de la production céréalière mondiale (GUSTAFON ET AL. 2009).

Au cours de sa croissance, le blé peut-être soumis à un certain nombre d'agressions de natures diverses, entre autres les maladies fongiques. Celles-ci sont nombreuses, variées et touchent le blé au cours de toute sa croissance. Parmi les agents phytopathogènes qui causent beaucoup de dégâts aux cultures, les champignons responsables de la pourriture racinaire et du collet tel que *Fusarium sp.* qui s'avèrent plus dangereux du fait de leur caractère ubiquiste (HOFTE ET AL. 1992).

En agriculture, Les champignons pathogènes du genre *Fusarium* sont responsables de contaminations majeures des blés induisant la fusariose. La fusariose entraîne des pertes dramatiques des productions céréalières ainsi qu'une détérioration de la qualité des grains. *Fusarium* est aussi connu pour la capacité qu'ont certaines espèces fusariennes à produire des mycotoxines, métabolites secondaires dont la toxicité pour l'homme, les animaux et les plantes est avérée. La contamination des grains en mycotoxines peut les rendre impropre à la consommation et soulève un réel problème de santé publique.

Par ailleurs, les produits chimiques utilisés à l'heure actuelle pour lutter contre les agents responsables de la fusariose du blé présentent des inconvénients. La plupart d'entre eux sont toxiques pour les utilisateurs qui entrent en contact avec la substance de préservation. Cela justifie les recherches actuellement menées dans ce domaine, qui tendent à mettre au point de nouvelles méthodes de lutte biologique, impliquant des organismes vivants.

La lutte biologique se considère comme une alternative très prometteuse, à cause de l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes. Ces dernières se caractérisent par leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action ainsi leur persistance

Introduction

dans l'environnement (DE KOUASSI, 2001). Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires. Les champignons et les bactéries sont les micro-organismes les plus utilisés en lutte biologique. Ils ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et sont donc l'objet d'études de plus en plus poussées.

Dans cette optique, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur la lutte biologique par l'utilisation de plusieurs souches de *Trichoderma* contre le champignon phytopathogène : *Fusarium sp.* Cette étude, repose sur plusieurs points importants : (i) identification morphologique des isolats de l'agent antagoniste *Trichoderma sp.* (ii) Etude *in vitro* de l'activité antagoniste de *Trichoderma* par deux méthodes de confrontation : directe et indirecte. (iii) Etude *in vivo* de l'activité antagoniste de *Trichoderma* par deux tests : test des tubes en verre, test des pots.

La *première* partie de notre travail est consacrée à la synthèse bibliographique approfondie contenant des informations relatives au blé, au *Fusarium* et l'agent antagoniste étudié dans ce travail *Trichoderma*.

La *seconde* partie est consacrée au travail expérimental et est basée sur les différentes techniques utilisées et d'une autre partie exposant, comparant et discutant les résultats obtenus. Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion générale et la mise en évidence des perspectives de recherche.

Revue
Bibliographique

1. Le blé

1.1. Généralités

Le blé demeure la céréale la plus consommée de façon directe par les hommes dans le monde et la plus échangée sur les marchés internationaux. Il appartient à la famille des Poacées (anciennement Graminées). Originaire des steppes semi-arides du Proche-Orient, il est étroitement associé aux peuples méditerranéens et européens. Sa culture remonte à 8000-7000 avant J.-C. Elle s'étend aujourd'hui, grâce à la diversité des variétés cultivées, sous les latitudes tempérées des deux hémisphères. Produit dans des contextes agronomiques, économiques, sociaux et politiques très divers, le blé présente des rendements à l'hectare, et encore davantage par unité de main-d'œuvre, très contrastés. Ces disparités ne manquent pas de poser problème lorsque les producteurs se trouvent confrontés, de façon plus ou moins directe en fonction des protections ou soutiens divers dont ils bénéficient, avec le cours « mondial » du blé. Le prix du blé sur le marché a cependant doublé depuis 2006, ce qui constitue un handicap pour les pays importateurs.

Aujourd'hui, le blé tendre ou *triticum aestivum* est cultivé pour fabriquer du pain, des biscuits, des pizzas ; le blé dur ou *triticum durum*, est cultivé pour les semoules et les pâtes alimentaires.

1.2. Caractéristiques botaniques du blé

Le blé appartient au genre *Triticum* de la famille des *Gramineae*. C'est une plante herbacée annuelle, monocotylédone, à feuilles alternes, formée d'un chaume portant un épi constitué de deux rangées d'épillets sessiles et aplatis. Les fleurs de cette plante sont nombreuses, petites et peu visibles. Elles sont groupées en épis situés à l'extrémité des chaumes. La fleur est cléistogame, c'est-à-dire qu'elle reste fermée, la pollinisation s'effectuant par autogamie qui est le mode de reproduction le plus fréquent chez les blés. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscant (qui ne s'ouvre pas), appelé caryopse, constitué d'une graine (composée d'un embryon et d'un tissu de réserve constitué de 70% d'amidon et 15% de gluten) et de téguments. Les principaux caractères des espèces de blé que l'homme a cherché à sélectionner sont : la robustesse de l'axe de l'épi (qui ne doit pas se casser lors de la récolte), la séparation facile des enveloppes du grain, la grande taille des grains et la compacité des épis (plus maniable que l'épi lâche), mais également la productivité et la résistance au froid ou aux maladies.

1.3. Cycle végétatif du blé

Le cycle de développement du blé (figure 1), de la graine d'une année à la graine de l'année suivante, en passant par la croissance du plant feuillé, des fleurs et la fécondation, dure moins d'un an. Les températures doivent être comprises entre -6°C et $+20^{\circ}\text{C}$; l'idéal étant un temps chaud avant la croissance et des conditions d'ensoleillement au cours des étapes ultimes.

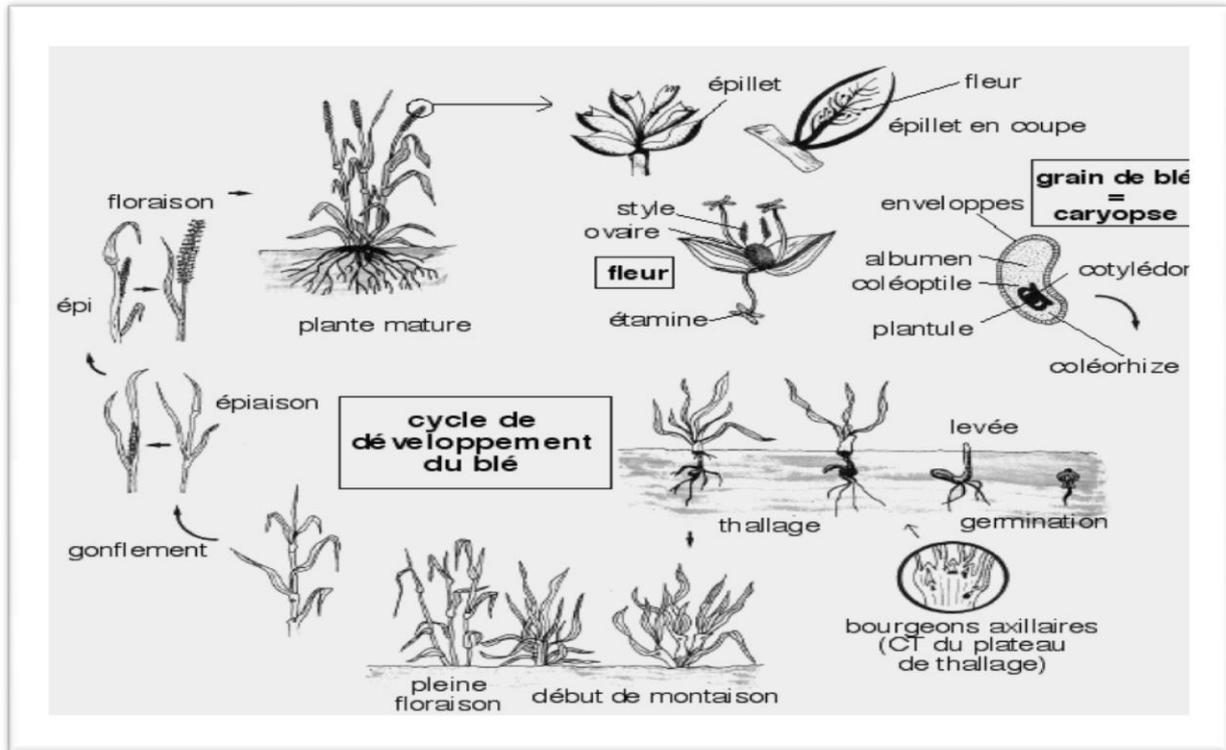


Figure 1. Schéma illustrant le cycle de développement du blé.

Le cycle débute par germination d'une graine après humidification. Quel que soit le moment où le blé est semé, il est toujours récolté en juin-juillet. Le germe développe une première partie s'ancrant dans le sol pour former les racines, et une autre pointant vers la surface. La température minimale de germination des graines est de 3°C . Les premières pousses sont visibles après dix jours à peine, c'est la levée. Le rythme d'émission des feuilles est réglé par des facteurs externes comme la durée du jour et le rayonnement au moment de la levée. Le stade "3 feuilles" est une phase repère. Des bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles et donnent des pousses, des tiges latérales creuses appelées talles. Le tallage commence de la fin de l'hiver jusqu'à mi-avril. Chaque talle primaire donne des talles secondaires. Apparaissent alors, à partir de la base du plateau de tallage, des racines secondaires ou adventives, qui seront à l'origine de l'augmentation du nombre d'épis. Au moment du plein tallage, la plante

est étalée et a un port retombant. À la fin, les talles commencent à se redresser sur les sillons. Puis commence le stade de montaison correspondant à la montée de l'épi et à l'allongement des entre-nœuds. Ensuite l'épiaison, en juin. Les épis commencent à sortir de leur gaine. Chaque épi est formé de plusieurs groupes de fleurs appelés épillets, entourés de glumelles et de glumes (enveloppes). Le blé fabrique son pollen et ses ovules. La floraison, avec la sortie des étamines, signifie que la fécondation a eu lieu. Le blé est une plante "autogame" qui se reproduit elle-même ; chaque fleur est à la fois mâle et femelle, possède pistil et étamines et s'autoféconde. Enfin la maturation de grains de blé (dernière étape avant la moisson) , Les grains se développent en plusieurs stades : le stade laiteux où le grain vert clair atteint sa taille définitive (le grain contient encore 50 % d'humidité et le stockage des protéines touche à sa fin) ; le stade pâteux où le grain, d'un vert jaune, s'écrase facilement (le grain a perdu en humidité et l'amidon a été constitué). Les feuilles sont alors sèches et les nœuds de la tige encore verts. Ensuite le grain mûrit : brillant, durci, il prend une belle couleur jaune. À maturité complète, il a la couleur typique de sa variété et la plante est sèche (la teneur en humidité atteint environ 20 %). À sur-maturité, le grain est mat et tombe tout seul de l'épi ; chaque épi porte de 45 à 60 grains : leur nombre dépend de la variété et des conditions de croissance rencontrées. Chaque grain de blé est enfermé dans la balle, formée des glumelles et glumes séchées.

L'Algérie a importé pas moins de 4,6 millions de tonnes de blé depuis les ports français. Un niveau record d'importation en hausse de 34% par rapport à la campagne 2017/2018 et représentant trois fois le niveau d'importation enregistré durant l'exercice 2016/2017. Cette hausse des achats de blé tranche avec la décision de réduction des importations prise suite à l'augmentation des niveaux de la production nationale. L'Algérie a réalisé une récolte record de 3,9 Mt sur la campagne 2018/2019, soit une hausse de 61% de la production dont 3,15 Mt de blé dur.

1.4. Maladies de blé

1.4.1. Maladies causant des symptômes localisés sur feuillage

A. Septoriose des feuilles

Principale maladie du blé, la septoriose des feuilles peut entraîner des pertes de rendements allant jusqu'à 60 q/ha. Les symptômes de la septoriose tritici apparaissent uniquement sur feuilles sous la forme de taches ovales brun clair. Des petits points noirs (pycnides) bien

visibles apparaissent le long des nervures dès le début de la formation des nécroses. L'aspect des taches est assez diversifié : irrégulières sur les bords du limbe, rectangulaires entre les nervures (figure 2).



Figure 2. Septoriose sur feuille de blé.

1.4.2. Maladies causant des pourritures racinaires

La pourriture racinaire est aussi connue sous les noms de pourriture du pied, fusariose du pied, pourriture des racines sèches, ou encore pourriture commune. Un complexe fongique qui varie selon les régions est responsable de la pourriture des racines et du collet.

Les agents pathogènes responsables des pourritures racinaires sont le *Fusarium sp.* (*Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*) qui induisent la pourriture sèche du collet, favorisés par les sols humides, ils envahissent le collet, les racines ou les gaines foliaires. Ces agents peuvent provoquer la pourriture des semences et la brûlure des semis, donnant lieu à la pourriture du collet, de la tige et des racines (figure 3).



Figure 3. Pourriture racinaire du blé.

2. Le genre *Fusarium*

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fuscus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiforme et cloisonnées (figure 4). Il appartient à la division des ascomycètes et à la famille de nectriacées. Le genre *Fusarium* inclue de champignons imparfaits ou anamorphes dont la reproduction est asexuée et se fait par le biais des conidies de formes et d'organisation très variée (JEUNOT, 2005), d'autres sont parfaits ou téléomorphes dont leur reproduction est sexuée (NELSON ET AL, 1983). Les champignons du genre *Fusarium* sont capables de produire des métabolites secondaires toxiques, les mycotoxines, dont la présence augmente l'incidence de la maladie sur les productions agricoles (SIOU, 2013). Les mycotoxines peuvent être toxiques pour l'homme et les animaux supérieures, mais aussi cancérigène, neurotoxiques, ou ... (SRAL AUVERGNE, 2010)



Figure 4. Mycélium, sporodochia et spores de *Fusarium sp.* (Champion, 1997).

2.1. Taxonomie

La taxinomie ou taxonomie a pour objet de décrire les organismes vivants et de les regrouper en entités appelées taxons afin de les identifier, les nommer et enfin les classer. Depuis la seconde moitié du XXème siècle, une nouvelle approche conceptuelle de ces classifications est possible grâce à la biologie moléculaire. La taxinomie en mycologie est donc en constante évolution suite aux données recueillies lors des différentes approches phylogénétiques. Ce remodelage des classifications s'applique également pour le genre *Fusarium*; appartenant au phylum des Ascomycota, à la classe des Sordariomycetes et à l'ordre des Hypocreales (GHORRI, 2015).

Il s'agit d'un genre polyphylétique à la taxinomie complexe. Par exemple, *Fusarium*

Solani et *Fusarium verticillioides* possèdent des formes sexuées (téléomorphes) appartenant respectivement aux genres *Nectria* ou *Gibberella* alors que *Fusarium oxysporum* n'est actuellement connu que sous sa forme asexuée (anamorphe). La taxinomie du genre autrefois basée sur les aspects morphologiques ou l'adaptation à un substrat particulier, a été revue en profondeur avec l'avènement des techniques de phylogénie moléculaire. Les données récentes issues de ces travaux montrent que les anciennes taxinomies sont en partie erronées. Ceci s'est traduit par le rattachement d'espèces des genres *Acremonium* ou *Cylindrocarpon* au sein du genre *Fusarium* telles qu'*Acremonium falciforme* ou *Cylindrocarpon lichenicola* (GHORRI, 2015).

2.1.1. Classification du genre *Fusarium*

La nouvelle classification taxonomique basée sur la phylogénie moléculaire selon (DEBOURGOGNE, 2013) est la suivante :

- Règne Fungi
- Division Ascomycota
- Classe Sordariomycetes
- Sous classe Hypocreomycetidae
- Ordre Hypocreales
- Famille Nectriaceae
- Genre *Fusarium*

2.2. La maladie de la fusariose

2.2.1. Généralités

La fusariose est une maladie des céréales dites "à petits grains" que l'on retrouve partout dans le monde (PARRY ET AL. 1995). De 1998 à 2000, les pertes dues à la fusariose ont pu être estimées à près de 2,7 milliards de dollars dans les états du centre et du nord des Etats Unis (GAUTAM, 2011). L'importance économique de la fusariose est attribuée aux pertes de rendements considérables (avortement des fleurs, diminution du nombre et du poids des grains) et à l'altération de la qualité des grains (PIRGOZLIEV ET AL., 2003) ; ce qui a des conséquences néfastes lors des processus de transformations industrielles des grains. En plus des pertes de production, certaines espèces de *Fusarium* présentes sur les céréales peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines. Ces métabolites secondaires produits par les champignons présentent une toxicité avérée vis-à-vis de nombreux

organismes. Certaines espèces de *Fusarium* qui infectent les céréales peuvent produire une ou plusieurs mycotoxines. Parmi les fusariotoxines présentes sur céréales en Europe, les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone sont les plus rencontrées.

2.2.2. Symptômes

Lorsque les conditions climatiques sont favorables, la fusariose peut attaquer à tous les stades de développement et tous les organes de la plante, depuis les racines jusqu'aux épis (Figure 5).



Figure 5. Fusariose du blé

Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de symptômes (**PARRY ET AL., 1995**) :

- "**Seedling Blight**" : fusariose des semences, provoquent des manques à la levée et des fontes des semis –
- "**Foot Rot**" : fusariose du collet, symptômes se manifestent par des nécroses sur les talles inférieures, le collet, entre noeuds, et brunissement de la partie supérieure des racines.
- "**Head Blight**": fusariose de l'épi. La fusariose des épis de blé est caractérisée par le flétrissement des épis et une sénescence prématurée, les épis apparaissent alors blanchâtres (figure6A). Les grains de blé fusariés sont petits, légers, ridés et parfois couverts d'un duvet blanc rose (figure6B). Si l'infection est plus tardive, les grains peuvent être de taille normale mais ils se décolorent en rose.



Figure 6. Principaux symptômes de fusariose de l'épi sur épi (A) et grain de blé (B).

2.2.3. Cycle de développement de la maladie

Le *Fusarium* responsable d'importants dégâts durant tout le cycle vital de la plante hôte, chez les légumineuses, est transmis essentiellement par les semences, mais peut aussi provenir du sol où il se conserve sous forme de spores durables. Parasitant les caryopses, le *Fusarium* peut être présent à la surface, soit à l'état de spores libres, soit sous forme de petites colonies mycéliennes. Plus fréquemment, il est interne et se localise dans le péricarpe ou plus profondément dans les téguments séminaux et l'embryon. Présent autour de ce dernier sous forme de mycélium, les caryopses germent et donnent des plantules qui présentent des faciès caractéristiques durant le cycle vital de la plante hôte (**CHAMPION, 1997**). Les plantules détruites par le parasite, en pré-émergence comme en post-émergence, constituent une source de contamination par des plantes voisines, c'est le premier foyer infectieux. En effet, le parasite édifié sur la plantule détruit des coussinets sporifères qui sont les spores entraînées par le vent et par la pluie. Ces spores vont infecter les autres plantes ou contaminer le sol.

Au cours des périodes successives de croissance jusqu'à celles de la reproduction de la plante puis la maturité des graines, le *Fusarium*, d'abord localisé au niveau des parties souterraines, se développe et sporule abondamment (Figure 7). Il constitue ainsi un deuxième foyer d'infection qui favorise la dissémination de la maladie aux plantes voisines. La maladie se perpétue, ainsi d'une année à une autre, soit par les caryopses infectés qui hébergent

Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules et de l'activation des gènes de défense de la plante (**WAGACHA et MUTHOMI, 2007**).

Par ce fait, ces mycotoxines sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (**PRANDINI ET AL. 2007**).

2.4. Les moyens de lutte contre les champignons de *Fusarium*

La lutte contre les maladies cryptogamiques du blé vise à minimiser et retarder le développement des maladies, afin d'éviter qu'elles n'atteignent pas les feuilles supérieures qui contribuent à plus de 50 % au remplissage du grain (**LACROIX, 2002**).

Les méthodes de lutte peuvent être chimiques, physiques, culturales ou biologiques, mais il est préférable d'intégrer ces différentes méthodes dans un seul programme, ce qui reviendra moins cher pour l'agriculteur (**EYAL, 1999**).

2.4.1. Moyens de luttés culturaux

Cette lutte vise à limiter l'accroissement du taux de l'inoculum dans le sol et consiste à :

- L'utilisation des semences saines.
- Utilisation de la fumure azotée de façon rationnelle (**MAULER ET AL. 1997**).
- L'élimination des résidus de culture contaminés par incinération ou enfouissement profond.
- La réalisation des rotations d'au moins deux ans en dehors des céréales (alterner avec des légumineuses), cela réduit la densité de l'inoculum (**GILBERT ET TEKAUZ, 2000**).
- L'utilisation de la solarisation, qui peut réduire les populations pathogènes et l'incidence de la maladie (**PANDY ET AL. 1996**).

2.4.2. Moyens de luttés physiques

ANCHISI ET AL. (1985) ont développé un traitement à l'eau chaude pour protéger les plants dans un sol où l'on sait la maladie présente. La méthode consiste à traiter les racines avec de l'eau à 48-49°C pendant 30 secondes avant de transplanter au moins de 48 heures après. Cela stimule la croissance des racines. La taille des racines amène aussi une protection

contre la fusariose pour la même raison. La stérilisation ou la solarisation ne sont pas des solutions à long terme.

2.4.3. Moyens de luttés chimiques

L'utilisation des fongicides cette dernière décennie est devenue très répandue car elle s'est révélée efficace de 50 à 70% dans la réduction de la maladie une fois appliqué aux temps appropriés. Parmi les fongicides utilisés contre la fusariose du blé on peut citer : fludioxonilbenomyl, le tubuconazole, l'azoxystrobine et le mancozeb, il se peut que le tubuconazole et l'azoxystrobin pourraient augmenter la production de mycotoxines (DON) ce qui représente l'inconvénient de l'utilisation de ces fongicides (**KHAN ET AL., 2011 ; DAMMER ET AL., 2011**).

2.4.4. La lutte biologique

La lutte biologique peut être définie comme étant l'introduction d'un ennemi naturel à un ravageur/pathogène donné pour réduire les dommages causés par ce dernier. Les ennemis naturels ainsi que les ravageurs/pathogènes sont de plusieurs natures: plantes, insectes, nématodes, champignons, bactéries, virus, etc.

Un biopesticide est composé d'un organisme vivant (Plante, nématode, bactérie, champignon ou virus) ou d'un produit dérivé de cet organisme, qui est utilisé pour supprimer ou réprimer un ravageur/pathogène. Plusieurs bio pesticides ont pour principes actifs des microorganismes antagonistes. Les microorganismes peuvent exercer une activité antagoniste selon différents mécanismes incluant: la compétition, les interactions directes cellule à cellule, l'antibiose, la dégradation des signaux de quorum sensing (QS), et les actions sur la résistance de l'hôte (**BOJANOWSKI, 2011**).

Parmi les champignons antagonistes les plus utilisés dans la lutte biologique contre les maladies cryptogamiques, nous citons les genres : *Trichoderma*, *pythium*, *Aspergillus*...etc.

3. Le genre *Trichoderma*

Le terme *Trichoderma* a été introduit dans la mycologie en 1794 par Person (**ROUSSOS, 1985 ; BISSETT, 1991**). Il désigne des champignons microscopiques considérés durant 200ans comme étant des Gastéromycètes. Ces organismes cosmopolites appartiennent à un grand ensemble de champignons sans reproduction sexuée connue (**VINING, 1990 ; GENILLOU ET AL., 1994 ; ROQUEBERT, 1996**).

En milieu terrestre, leur production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma sp.* Des agents potentiels en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (PRIETO ET AL. 1997). Quelques-unes des quelques 35 espèces établies à ce jour sont d'intérêt économique, pour leur production d'enzymes cellulolytiques et sont utilisées comme agent de lutte biologique en raison de leur antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques. (ROQUEBERT, 1996 ; COONEY ET AL., 1997., PRIETO ET AL.; 1997 ; GRONDONA ET AL.,1997 ; VERBIST,2000 ;KUBICEK ET AL.,2003) .

3.1. Morphologie

Le genre *Trichoderma* est caractérisé par une vitesse de croissance rapide et une sporulation abondante sur milieu de culture (GAMS ET BISSET, 1998). Il est facilement reconnaissable en culture grâce à la couleur généralement verte de ses spores (DUBOS, 1986). Ce genre est caractérisé par des conidiophores fortement ramifiés selon une structure pyramidale et se terminant par une ou plusieurs phialides (figure 8). Ces phialides peuvent être cylindriques ou subglobuleuses, regroupés en masse ou solitaires. Les conidies sont hyalines, ellipsoïdes et lisses chez la plupart des espèces, les conidies globuleuses sont rares. Certaines espèces peuvent produire des chlamydospores globuleuses, qui sont intercalaires ou terminales (SAMUELS ET AL., 2006).

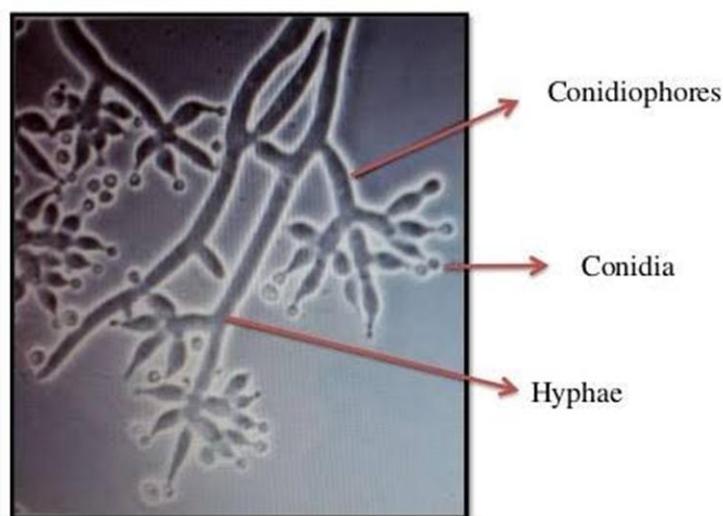


Figure 8. Structure morphologique de *Trichoderma*.

3.2. Taxonomie

Trichoderma. **PERS. (1794)** est un genre qui appartient au Deutéromycètes (hyphomycètes, moniliales, moniliaceae). La forme parfaite des espèces de *Trichoderma* appartient à l'ordre des Hypocreales, au genre *Hypocrea* (Hypocreaceae, Hypocreales, Hypocreomycetidae, Sordariomycetes, Ascomycota, Fungi), mais certaines espèces de *Trichoderma* ont été rattachées au genre *Podostroma* P. Karst. Et Sarawakus Lloyd 1924. Depuis 1860 plusieurs espèces du genre *Hypocrea* ont été cultivées et leur anamorphe *Trichoderma* sont décrits (**SAMUELS, 1996**).

Le genre *Trichoderma* avait été introduit à l'origine par Persoon en 1794. En 1865, les frères Tulasne ont bien illustré le lien entre *T. viride* et la forme sexuée *Hypocrearufa* (**PERS.**) Fr. (**SAMUELS, 2006**).

Au départ, la taxonomie de ce genre a été basée essentiellement sur les caractères morphologiques et les résultats les plus importants dans ce domaine ont été publiés par **RIFAI (1969) ET BISSET (1984 ; 1991A ; 1991B ; 1991C)**. La première tentative de subdiviser le genre *Trichoderma* a été réalisée par **RIFAI (1969)** qui a subdivisé le genre *Trichoderma* en 9 espèces agrégats tout en reconnaissant que les dernières espèces qu'il a décrit ne sont pas vraiment des espèces biologiques. Cet auteur a bien connu que chaque espèce agrégat est hétérogène et comprend plus d'une espèce biologique, car il n'était pas possible de définir les limites des espèces biologiques individualisées.

Les neuf espèces agrégats décrites par **RIFAI (1969)** sont :

1. *Trichoderma piluliferum* **WEBSTER ET RIFAI**
2. *Trichoderma polysporum* (**LINK**) **RIFAI**
3. *Trichoderma hamatum* (**BONORD.**) **BAINIER**
4. *Trichoderma koningii* Oudem
5. *Trichoderma aureoviride* **RIFAI**
6. *Trichoderma harzianum* **RIFAI**
7. *Trichoderma longibrachiatum* **RIFAI**
8. *Trichoderma pseudokoningii* **RIFAI**
9. *Trichoderma viride* **PERS.** : Fr.

Bisset dans ses travaux (**1984, 1991A, 1991B, 1991C**) a inclut des souches préalablement étudiées par **RIFAI (1969)**, mais les deux auteurs ont abouti à des conclusions différentes à

propos de l'identité des espèces chez le genre *Trichoderma*. **BISSET (1991A)** a essentiellement érigé les espèces de **RIFAI (1969)** au rang de section, et reconnu 5 sections et dans chaque section, a identifié deux à plusieurs espèces.

Les sections de *Trichoderma* décrites par **BISSET (1991A)** sont :

1. La section *Trichoderma*
2. La section *Longibrachiatum* **BISSET**
3. La section *Saturnisporum* **DOI ET AL**
4. La section *Pachybasium* **SACC.**
5. La section *Hypocreanum* **SECT.NOV**

BISSET (1991B) avait rapporté que l'identification précise des espèces de *Trichoderma* ne peut se faire sans intégrer les caractères morphologiques, l'analyse moléculaire, et l'étude du cycle de vie du champignon (holomorphe).

Actuellement, la taxonomie du genre *Trichoderma* repose essentiellement sur la phylogénie basée sur l'analyse de l'ADN (**SAMUELS, 2006**).

3.3. Ecologie

Le genre *Trichoderma* est distribué à travers le monde, dans les sols et dans d'autres habitats qui contiennent des matières organiques. Il se trouve aussi sur les racines des plantes, surtout lorsqu'elles sont colonisées par d'autres champignons et il se développe même sur des sclérotés ou d'autres propagules de champignons (**PAPAVIZAS, 1985**). Plus récemment, il a été trouvé dans la poussière des maisons (**SAMUELS, 2006**).

La préférence écologique de *Trichoderma* a été discutée dans les travaux de **DANIELSON** et **DAVEY (1973A, 1973B)** qui mentionnent que les populations de *Trichoderma* augmentent dans les conditions de longue sécheresse du sol. Ils ont aussi conclu que certaines souches de *T. harmatum* et *T. pseudokoningii* sont adaptées aux conditions d'humidité excessive du sol, *T. viride* et *T. polysporum* sont restreints aux endroits de basse température et que *T. harzianum* est largement distribué dans les régions à climat chaud.

L'abondance de *Trichoderma* dans les sols variés est couplée à son habilité à dégrader différents substrats organiques, son adaptabilité métabolique et sa résistance aux inhibiteurs microbiens. Tous ces caractères permettent à *Trichoderma* de survivre dans plusieurs niches écologiques qui dépendent des conditions et des espèces ou des souches impliquées (**PAPAVIZAS, 1985**).

3.4. 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 mondiales. Les modèles étudiés s'intéressaient essentiellement aux parasites du sol mais déjà, en 1952, Wood signalait l'efficacité de *Trichoderma viride* pour contrôler *Botrytis cinerea* sur la laitue. *Trichoderma* est un champignon du sol, filamenteux, connu comme un agent de biocontrôle efficace contre certains pathogènes du sol. Il est l'agent de biocontrôle le plus étudié contre les phytopathogènes. **WEINDLING ET EMERSON (1936)** ont démontré que *Trichoderma* est capable de sécréter une substance extracellulaire, appelée «Gliotoxine», capable de dégrader les pathogènes. *Trichoderma* est un genre de champignon à reproduction asexuée qui se caractérise par des colonies à croissance rapide et colonise les plantes ligneuses et les herbacées. Les *Trichoderma* présentent une diversité génétique très élevée et peuvent être utilisés pour produire des produits à intérêt écologique et commercial marqué. Ils produisent des protéines extracellulaires et sont connus comme meilleurs producteurs d'enzymes dégradant la cellulose et la chitine en plus d'autres enzymes à différents usages qui ont été identifiés (**HARAN ET AL. 1996; HARMAN ET AL., 2004**).

Trichoderma viride est efficace pour le contrôle de *Rizoctonia solani*, un champignon qui cause la fonte des semis et la pourriture des racines, cependant, soixante-dix souches de *Trichoderma* y compris *T. viride*, *T. harzianum* et *T. aureoviride* ont été testées contre le *R. solani* in vitro et ont montré une inhibition totale de sa croissance de *R. solani*. Les recherches récentes ont prouvé que les *Trichoderma* sont des opportunistes qui vivent en association bénéfique avec des plantes autant qu'ils soient des parasites pour quelques champignons. Au moins quelques souches établissent une colonisation robuste et durable au niveau des surfaces racinaires et pénètrent jusqu'à l'épiderme ce qui améliore la croissance racinaire, la productivité, la résistance au stress abiotique, et l'assimilation et l'utilisation des nutriments (**HARMAN ET AL. 2004**).

Trichoderma a été connu comme producteur de substances antibiotiques et parasite d'autres champignons (**LINDSEY ET AL. 1967; CHANG ET AL. 1986**). Le parasitisme de *T. viride*, par exemple, est défini par la sécrétion d'un type d'enzyme incluant les cellulases, les chitinases et des antibiotiques, tel que la gliotoxine (**HARAN ET AL., 1996**). Des récentes recherches ont montré que *T. viride* est un améliorateur de croissance chez le

soja (HARMAN, 2001), il protège la tomate, le piment (VERMA, 2007) et quelques cucurbitacées contre les phytopathogène.

HARMAN ET AL. (2004) ont ajouté que la colonisation des racines par *Trichoderma* améliore la croissance et le développement de ces derniers, la productivité, la résistance au stress abiotique et le prélèvement et l'utilisation des nutriments. Le maïs répond généralement à l'ajout de fertilisants riches en azote par l'amplification de l'intensité de la couleur verte, une bonne croissance et un rendement maximum. Cependant, les plantes de maïs issues de semences traitées avec *Trichoderma* T-22 ont donné un rendement maximum avec un fertilisant contenant 40% moins d'azote par rapport à des semences non traitées avec T-22 (HARMAN, 2001).

3.5. Mode d'action de *Trichoderma*

Trichoderma a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action. Il peut utiliser :

- **l'antibiose** qui résulte de la production de substances qui agissent comme des « antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène;
- **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 pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables;
- **le parasitisme** 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.

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. Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires en présence et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...).

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 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

Revue bibliographique

aérienne. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes.

***Matériel &
Méthodes***

1. Matériel fongique

L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'effet antagoniste des isolats de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de l'agent pathogène de la fusariose, "*Fusarium sp.*".

1.1. Agent pathogène

Le matériel fongique utilisé est composé d'une collection de 4 isolats de *Fusarium sp.* FC2, FC4, FC20, FC11. Les isolats appartiennent à la mycothèque du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales.

1.2. Agent antagoniste

15 isolats appartenant au genre *Trichoderma* ont été utilisés pour évaluer l'activité antagoniste *in vitro* et *in vivo* à l'égard des isolats de *Fusarium sp.* Les isolats appartiennent à la mycothèque du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales.

1.3. Identification morphologique des isolats fongiques

L'identification des isolats se base sur les caractères macroscopiques et microscopiques de ces derniers.

1.3.1. Observation macroscopique

L'observation macroscopique a été effectuée à l'œil nu, en observant les caractères suivants :

- la vitesse de croissance,
- la couleur et l'aspect de la colonie fongique.

1.3.2. Observation microscopique

L'identification microscopique fait appel aux caractères morphologiques des hyphes et des structures de reproduction (la présence ou non de cloisons, structure et disposition des spores couleur, forme, cloisons et taille). L'observation a été réalisée selon la méthode de **RIFAI (1969)**, qui consiste à prélever un fragment de culture qui sera déposé sur une lamelle contenant une goutte de bleu coton. Après 5 min, l'observation a été réalisée avec l'objectif 40 en utilisant un microscope optique.

2. Matériel végétal

Pour tester l'effet antagoniste du genre *Trichoderma* à l'égard des champignons du genre *Fusarium* responsables de la fusariose du blé, une variété de blé dur (*Triticum durum*) SIMETO a été utilisée. Cette variété d'origine italienne est bien connue pour ses caractéristiques importantes à savoir un rendement élevé, un PMG élevé, une qualité semoulière très bonne et une teneur en protéines de 15, 80 %, mais cette variété est très sensible à la fusariose du blé. C'est cette dernière caractéristique qui est recherchée dans notre étude pour tester le pouvoir des champignons du genre *Trichoderma* à anéantir les champignons du genre *Fusarium*.

3. Méthodes

3.1. Étude *in vitro* de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.*

3.1.1. Confrontation directe

La technique utilisée est celle décrite par **BENHAMOU ET CHET (1997)**. Cette technique consiste à placer dans la même boîte de pétrie (9 cm de diamètre) contenant le milieu PDA, deux pastilles gélosées, l'une portant l'antagoniste et l'autre le pathogène. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 3 cm et à équidistance du centre de la boîte (figure 9). Les repiquages sont effectués en même temps. L'incubation est réalisée à 30 °C pendant six jours. Des boîtes témoins ne contenant que l'agent pathogène sont incubées dans les mêmes conditions.

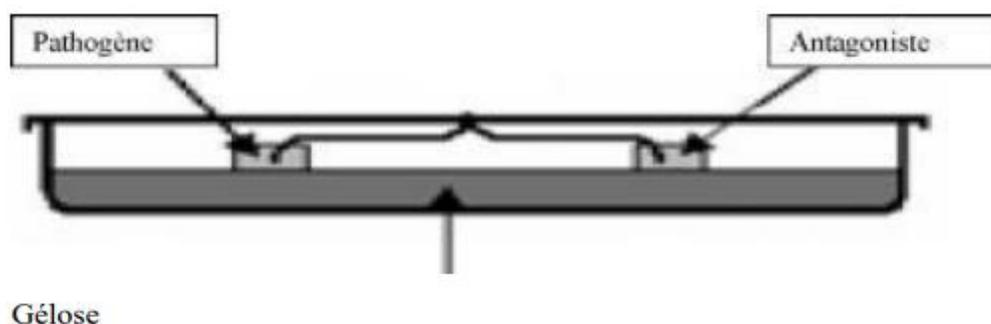


Figure 9 : confrontation entre le pathogène et l'antagoniste par contact direct sur milieu gélosé.

3.1.2. Confrontation indirecte

Le principe de cette méthode consiste à repiquer l'agent antagoniste et l'agent pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage a été réalisé par la superposition de deux boîtes, l'agent antagoniste en bas et le pathogène *Fusarium sp.* en haut (Figure 10). La jonction des boîtes a été assurée par des couches de para film afin d'éviter toute déperdition de substances volatiles. Le témoin a été préparé par superposition de deux boîtes, celle du haut contenant une pastille de *Fusarium sp.* Alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA. Les conditions de culture ont été identiques à celle de la confrontation par contact direct.

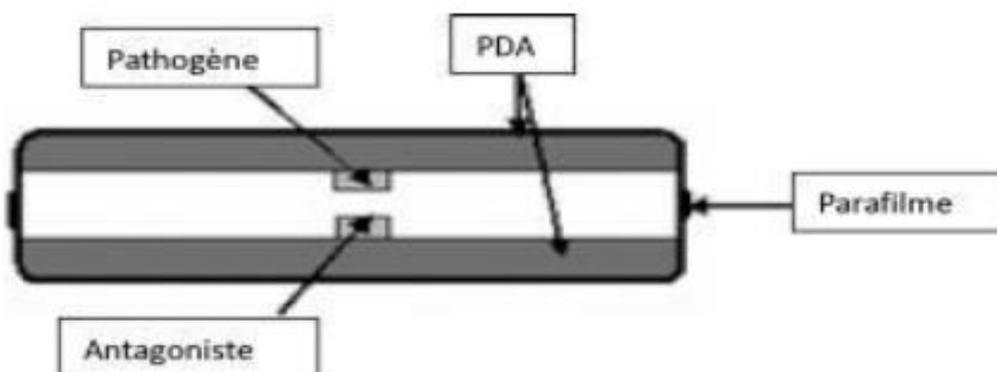


Figure 10 : confrontation indirecte entre le pathogène et l'antagoniste.

3.1.3. Pourcentage d'inhibition

Pour déterminer le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène causé par l'agent antagoniste *Trichoderma sp.* Des mesures du diamètre de la colonie sont effectuées. Le taux d'inhibition de la croissance est calculé selon la formule suivante (HAMOUNI ET AL, 1996):

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

I(%) : représente inhibition moyenne de la croissance mycélienne

Cn : le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste.

Co : le diamètre moyen des colonies témoins.

3.2. Étude *in vivo* de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.*

3.2.1. Le test des tubes en verres

3.2.1.1. Préparation des tubes

Des tubes de 16cm x 2cm au nombre de 50 ont été préparés en remplissant le fond des tubes avec 5cm de coton. 10 ml d'eau distillée ont été ajoutés à chaque tube et les couvercles ont été recouverts de papier aluminium puis autoclavés à 121°C et à une pression de 1,5 kg/cm² pendant 1h. Les graines de blé qui ont été désinfectées en surface par 1 % de l'hypochlorite de sodium (NaClO) pendant deux minutes et lavées deux fois à l'eau distillée stérilisée ont été placées sur le coton humide dans chaque tube (5graines/tube). Les tubes sont par la suite placés dans la chambre de culture pour la germination.

3.2.1.2. Inoculation des tubes

Après 3 jours de germination, les 50 tubes ont été répartis en 5 séries de 10 tubes chacune. Dans la première dizaine, un disque de 13mm du pathogène «FC2» du genre *Fusarium* a été placé dans chaque tube. Dans la deuxième dizaine et dans chaque tube, un disque de 13 mm de l'antagoniste « T14 » du genre *Trichoderma* a été placé. La troisième série est une série témoin, et dans la quatrième dizaine un disque du pathogène «FC2» et un disque de l'antagoniste «T14» sont placés dans chaque tube. Enfin, dans la dernière dizaine, un disque du pathogène «FC2» avec une suspension préparée à base de l'antagoniste « T14 » sont placés dans chaque tube.

3.2.2. Le test des pots

3.2.2.1. Préparation des pots

Quatre isolats de *Fusarium* (FC2, FC4, FC20, FC11) ont été testés. Avant de semer les graines dans des pots en plastique (12 cm de hauteur × 11cm de largeur), les graines de blé ont été désinfectées en surface. Elles ont été lavées pendant 5min à l'eau courante du robinet, puis immergées dans de l'éthanol à 70 % et dans du NaOCl à 1 % pendant 1min, deux rinçages à l'eau distillée. Enfin elles ont été séchées sous un flux laminaire capot. Les graines ont été semées à une profondeur de 2 cm dans chaque pot (50 pots). Tous les pots ont été remplis de terre stérilisée (sable et tourbe) dans l'autoclave (121°C et pression 1,5 kg/cm²

pendant 20 minutes deux fois). Chaque réplique consistait en un pot, et cinq graines ont été plantées dans chaque pot.

3.2.2.2. Inoculation des pots

Vingt et un jours après la plantation, les semis ont été inoculés à la base de la tige. Les 50 pots ont été répartis en 5 séries de 10 pots chacune. Dans la première dizaine, dans chaque pot un disque de 13 mm de pathogène «FC2» a été placé. Dans la deuxième dizaine et dans chaque pot semis, une suspension de l'antagoniste «T14» a été appliquée. La troisième dizaine est une série témoin, dans la quatrième dizaine, un disque de 13 mm du pathogène «FC2» et un disque de 13 mm de l'antagoniste «T14 » ont été placés dans chaque pot. Enfin, dans la dernière dizaine, un disque du pathogène «FC2» et un volume de 10 ml d'une suspension de spores (1×10^6 spores/ml) de l'antagoniste «T14» ont été ajoutés à la base de chaque tige de plante. Toutes les plantes ont été arrosées quotidiennement. La gravité de la maladie et l'incidence de la pourriture du collet et des racines de chaque plante étaient évaluées. L'expérience a été évaluée six jours après l'inoculation.

Résultats & Discussion

IV. Résultats et discussion

Le présent travail porte sur la lutte biologique contre le champignon phytopathogène *Fusarium*, agent causal de la maladie de fusariose du blé, par l'utilisation de plusieurs souches d'un champignon antagoniste du genre *Trichoderma*.

1. Identification morphologique des isolats fongiques

L'identification d'isolat se base sur les caractères macroscopique et microscopique.

1.1. Observation macroscopique et microscopique

1.1.1. Etude macroscopique de l'antagoniste

Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés ont été étudiés sur le milieu PDA. La figure présente l'aspect de la colonie purifiée : surface et consistance, couleur du revers de la colonie ainsi que la présence ou l'absence de pigments (figure11).



Figure 11 : observation macroscopique du *Trichoderma sp.*

Les isolats antagonistes sélectionnés, sur gélose PDA, montrent une croissance rapide et extensive, avec un aspect laineux de couleur blanche au départ, puis verte avec le temps. **COURNUT, 1984 ; LANDREAU, 2001, KUBICEK ET AL. 2003**, ont montré que l'aspect macroscopique des *Trichoderma sp.* est apprécié à partir de cultures sur géloses appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa

Résultats et discussion

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, correspondant à la conidiogénèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16ème et le 20ème jour un feutrage épais se superpose à la culture.

1.1.2. Etude microscopique de l'antagoniste

L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques de la souche fongique sélectionnée. La figure 12 résume les différents caractères microscopiques observés.

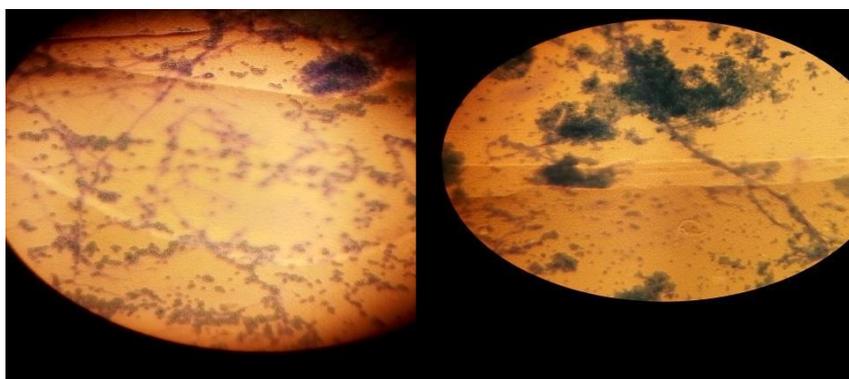


Figure12 : observation microscopique du *Trichoderma sp.*

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores (Figure12) ont une forme conique ou pyramidale.

Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (**COURNUT, 1984 ; LANDREAU, 2001, KUBICEK ET AL. 2003**).

D'après les observations macroscopiques (aspect, couleur et vitesse de croissance des colonies) et microscopiques (nature du filament, présence de conidiophores et forme des conidies), il a été constaté que la souche antagoniste sélectionnée appartient au genre *Trichoderma*.

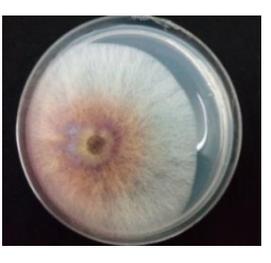
2. Étude *in vitro* de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.*

2.1. Confrontation directe

Le repiquage simultané de 15 isolats de *Trichoderma sp.* et les 4 isolats de *Fusarium sp.* a montré que la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante en comparaison à ceux obtenus avec les différentes confrontations (pathogène –Antagoniste). Au bout de six jours d'incubation les isolats de *Trichoderma sp.* ont montré une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.* Et ce, par l'apparition d'une zone d'inhibition suivie par un arrêt de croissance pour l'ensemble des souches pathogène. Parmi les 15 isolats de *Trichoderma sp.* Les meilleurs résultats sont obtenus avec les 3 isolats T9, T12, T14. Les résultats de la confrontation directe, sont récapitulés dans le tableau 1.

Résultats et discussion

Tableau 1 : les résultats des différentes confrontations directes (pathogène – Antagoniste).

	Fc20	Fc11	Fc4	Fc2
T9				
T12				
T14				
Témoin				

Les résultats obtenus montrent une nette réduction du diamètre moyen des colonies des pathogènes en présence de *Trichoderma* par rapport au témoin non traité.

Après six jours d'incubation, cette réduction atteint 22mm pour FC11 traduisant une inhibition de l'ordre de 71%, 18mm pour FC2 traduisant un pourcentage de 80%, 16mm pour FC4 avec un pourcentage de 82% et 28mm pour FC20 pour un pourcentage de 68% (tableau 2 et figure 13).

Résultats et discussion

Tableau 2 : diamètres des colonies des isolats de *Fusarium sp.* En présence de *Trichoderma sp.* par confrontation directe après six jours d'incubation à 30°C comparativement au témoin.

	Fc11	Fc2	Fc4	Fc20
	DMP (mm)	DMP (mm)	DMP (mm)	DMP (mm)
T9	22 mm	26 mm	16 mm	28 mm
T12	25 mm	20 mm	25 mm	33 mm
T14	29 mm	18 mm	17 mm	30 mm
Témoin	75 mm	88 mm	88 mm	87 mm

*DMP= diamètre moyen de pathogène

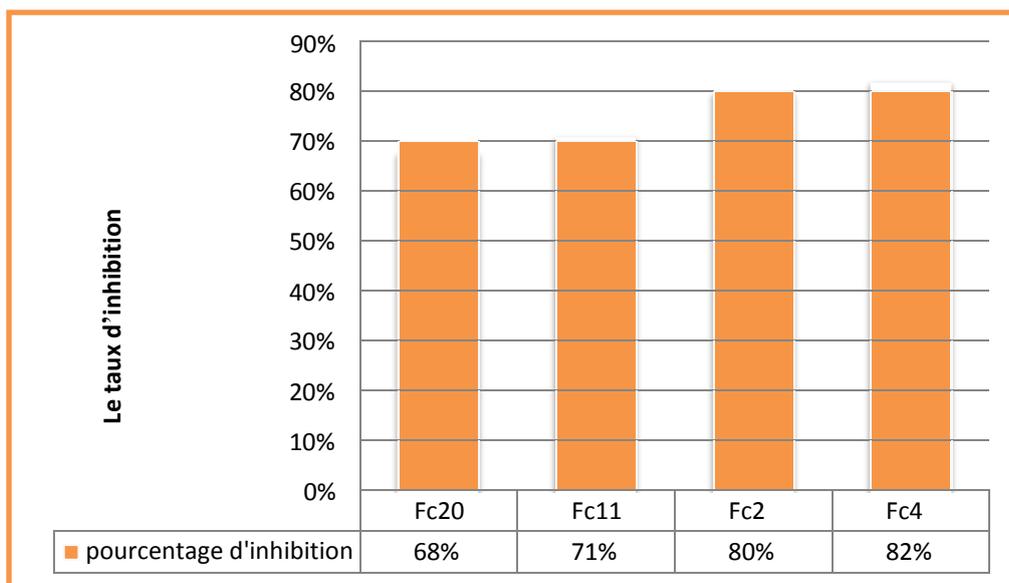


Figure 13 : Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches pathogènes par *Trichoderma sp.* Confrontation directe.

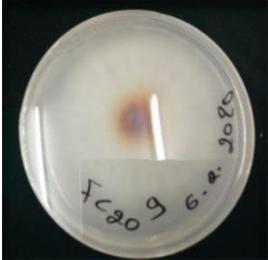
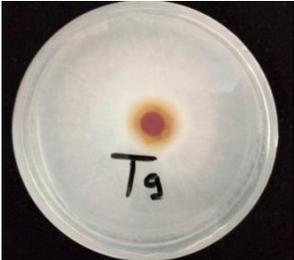
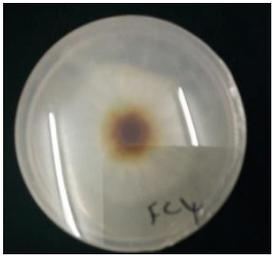
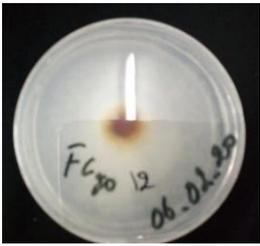
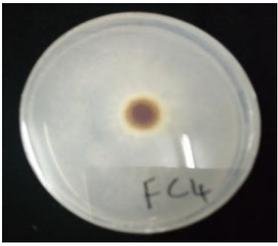
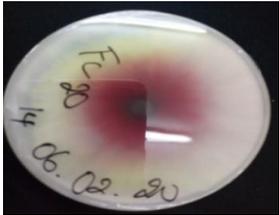
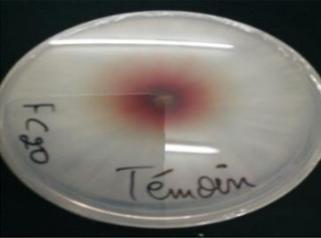
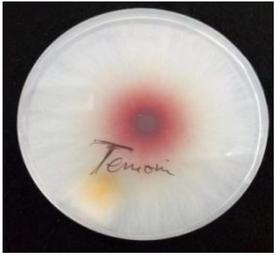
2.2. Confrontation indirecte

Cette méthode nous a permis aussi de *mettre* en évidence l'effet inhibiteur même à distance de *Trichoderma sp.* vis-à-vis de *Fusarium sp.*

Les résultats obtenus de cet essai montrent un ralentissement de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium sp.* Exercé par les isolats antagonistes de *Trichoderma sp.* 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 de pathogènes. Ceci s'expliquerait par l'aptitude des agents antagonistes à produire des substances volatiles qui provoqueraient la lyse du mycélium et des spores du pathogène et sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène. Cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies de *Fusarium* cultivé en présence et en l'absence de l'antagoniste (tableau 3).

Résultats et discussion

Tableau 3 : les résultats des différentes confrontations indirectes (pathogène – Antagoniste).

	FC20	FC11	FC4
T9			
T12			
T14			
Témoin			

Les résultats obtenus montrent une nette réduction du diamètre moyen des colonies des pathogènes en présence de *Trichoderma* par rapport au témoin non traité. Après six jours d'incubation, cette réduction atteint 35mm pour FC11 traduisant une inhibition de l'ordre de 56%, 55mm pour FC2 pour un pourcentage de 33%, 38mm pour FC4 pour un pourcentage de 54% et 43mm pour FC20 pour un pourcentage de 49% (tableau 4) et (figure 13).

Résultats et discussion

Tableau 4 : diamètres des colonies des isolats de *Fusarium sp.* en présence de *Trichoderma sp* par confrontation indirecte après six jours d'incubation à 30°C comparativement au témoin.

	Fc11	Fc2	Fc4	Fc20
	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)	Diamètre (mm)
T9	41 mm	58 mm	62 mm	63 mm
T12	40mm	55 mm	38 mm	43 mm
T14	35 mm	64 mm	48 mm	73 mm
Témoin	80 mm	82 mm	87 mm	84 mm

***DMP**= diamètre moyen de pathogène

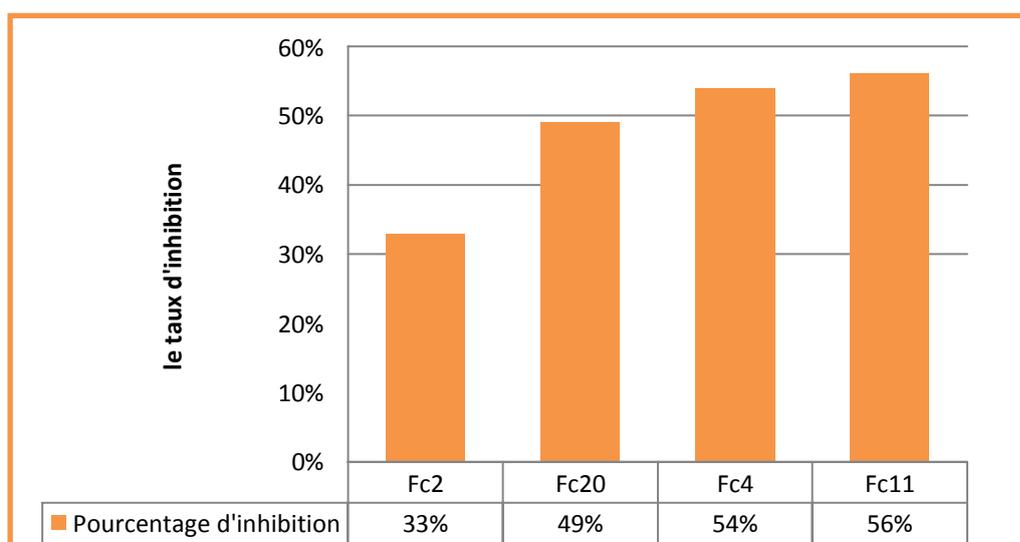


Figure14: Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches pathogènes par *Trichoderma sp.* Confrontation indirecte.

3. Étude *in vivo* de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* vis-a –vis des isolats de *Fusarium sp.*

3.1. Le test des tubes en verres

Résultats *in vivo* du test de pathogénicité de l'isolat de *Fusarium* : FC2, sur le cultivar de blé dur Simeto ont montré des symptômes distinctifs de la classe 0 : couronne saine, classe 3 : brunissement complet de la couronne et même la classe 4 : la mort de la plantule (figure15).

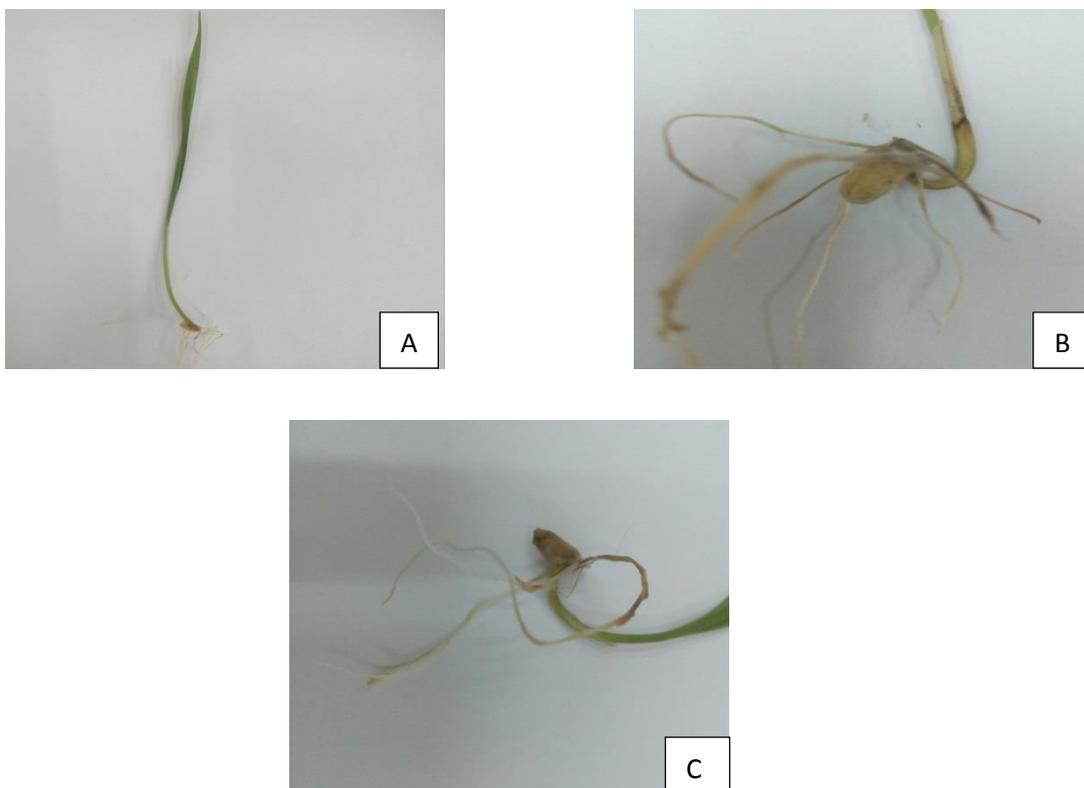


Figure 15 : couronne saine (A), brunissement complet de la couronne (B), la mort de la plantule (C).

Le semis simultané du blé dans des tubes témoins et les tubes de l'antagoniste a montré que l'indice de maladie est égal à 0, en comparaison à ceux obtenus avec les résultats des tubes de pathogène qui montrent que l'indice de maladie est égale à 68.

Les résultats obtenus de la confrontation directe entre un disque de pathogène « FC 2 » et un disque de l'antagoniste « T14 » montrent que l'indice de maladie est égale à 34,

Résultats et discussion

comparativement aux résultats de la confrontation directe entre un disque de pathogène «Fc2» et une suspension sporale de l'antagoniste « T14 » qui représente un indice de maladies égale à 60 (Figure16).

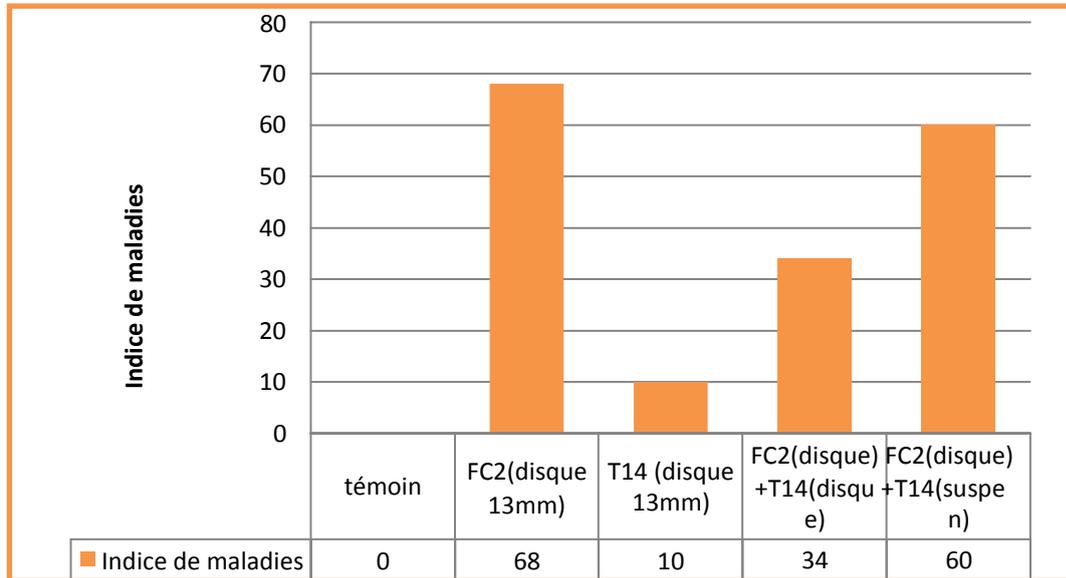


Figure 16 : les indices de maladie des traitements de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* Contre le pathogène *Fusarium sp.*

On conclut que, les résultats de l'évaluation de l'inhibition exercée par *Trichoderma sp.* En disque est plus significative comparativement aux résultats obtenus par *Trichoderma sp.* en suspension.

La gravité de la maladie (DS) de chaque traitement est évaluée à l'aide de l'indice de **MCKINNEY(1923)**, qui exprime le pourcentage de la gravité de la maladie selon la formule suivante :

$$DS = \left[\frac{\sum(c \times f)}{n \times N} \right] \times 100$$

c : la classe de la maladie

f : fréquence

N : la plus grande valeur de l'échelle empirique adoptée (classe4)

n : nombre d'observations

3.2. Le test des pots

Résultats *in vivo* de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* contre l'isolat de *Fusarium sp.* : Fc2, sur le cultivar de blé dur Simeto ont montré des symptômes distinctifs de la classe 0 : couronne saine, classe 1 : brunissement léger de la couronne, classe 2 : brunissement de la moitié de la couronne classe 3 brunissement complet de la couronne et même la classe 4 : la mort de la plantule (figure 17).



Figure 17 : couronne saine (A), brunissement léger (B), brunissement de la moitié de la couronne (C), brunissement complet de la couronne (D), la mort de la plantule (E).

Résultats et discussion

Le semis simultané du blé dans des pots témoin montre un indice de maladie égale à 0, comparativement aux résultats des pots de pathogène qui montrent que l'indice de maladie est égal à 60.5.

Les résultats obtenus de la confrontation directe entre un disque de pathogène «FC2» et une suspension sporale de l'antagoniste « T14 » pulvérisée à la fois avec le semis du blé montrent que l'indice de maladie est égale à 34, comparativement aux résultats de la confrontation directe entre un disque de pathogène « Fc2 »et une suspension de l'antagoniste « T14 » qui représente le même indice de maladie contrairement aux résultats obtenus avec la confrontation direct entre un disque de l'antagoniste « T14 » et un disque de pathogène « Fc2 » qui montre un indice de maladie est égale à 22(Figure18).

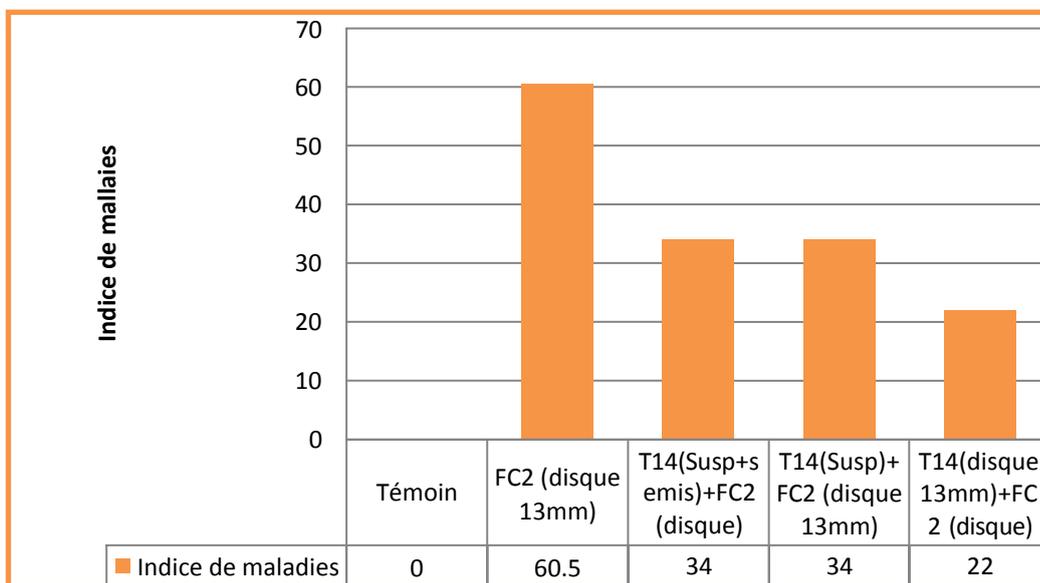


Figure 18 : les indices de maladie des traitements de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* contre le pathogène *Fusarium sp.*

On conclut que, les résultats de l'évaluation de l'inhibition exercée par *Trichoderma sp.* En disque est plus significative comparativement aux résultats obtenus par *Trichoderma sp.* En suspension.

Les résultats montrent que les semis du blé pulvérisés par *Trichoderma sp.* En disque sont moins exposés aux symptômes de maladies et mortalité par rapport au semis du blé pulvérisés par l'agent pathogène.

*Conclusion &
perspectives*

Conclusion générale et perspectives

Le présent travail porte sur l'étude de l'effet antagoniste *in vitro* et *in vivo* de 15 isolats de *Trichoderma sp.* (T1.T2.T3.....T15) sur 4 isolats de *Fusarium sp.* (Fc2.Fc20.Fc11.Fc4). L'identification des isolats de l'antagoniste a été effectuée selon les caractères morphologiques macroscopique et microscopique, au sein du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales.

L'essai *in vitro* se fait par l'utilisation de deux méthodes à savoir la confrontation directe sur milieu de culture et la confrontation à distance par action de substances volatiles. Pour les deux tests de confrontation, les résultats obtenus montrent une inhibition de la croissance et de la sporulation du pathogène.

La confrontation directe de *Trichoderma sp.* avec *Fusarium sp.* se traduit par un arrêt à distance de la croissance mycélienne du pathogène avec des forts pourcentages d'inhibition de l'ordre de 71% pour Fc11, 80% pour Fc2, 82% pour Fc4 et 68% pour Fc20. Le test de confrontation indirecte montre que l'effet des substances volatiles des *Trichoderma sp.* a significativement réduit la croissance mycélienne et la sporulation des souches de *Fusarium sp.* Avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 56% pour Fc11, 33% pour Fc2, 54% pour Fc4 et 49% pour Fc20.

L'essai *in vivo* se fait par deux tests de pathogénicité de l'isolat de *Fusarium* : Fc2 sur le cultivar de blé dur siméto dans des tubes et dans des pots.

Pour les deux tests de pathogénicité, les résultats montrent que les semis du blé inoculés par *Trichoderma sp.* en disque sont moins exposés aux symptômes de maladies et mortalités par rapport à ceux inoculés par l'agent pathogène.

En résumé, 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 souches de *Fusarium* testées.

En se basant sur ces résultats, il est d'intérêt primordial de fixer les points suivants comme perspectives:

- L'élongation des tests des *Trichoderma* isolées sur une gamme plus large des *Fusarium* pathogènes.
- La confirmation de l'identification des souches isolées (pathogènes et antagoniste) par voie moléculaire

Conclusion générale et perspectives

□□ Le montage d'une start up spécialisée dans la production des bio fongicides à base de *trichoderma* et les autres microorganismes antagonistes dans l'objectif protégé les cultures du blé en Algérie.

Résumés

Résumés

Le présent travail a été effectué dans le but de l'étude *in vitro* et *in vivo* de l'effet d'antagonisme de *Trichoderma sp.* Sur *Fusarium sp.* L'agent causal de la fusariose du blé, en utilisant deux méthodes de la confrontation directe sur milieu de culture et la confrontation indirecte.

Les résultats obtenus *in vitro* montrent que la confrontation directe des isolats de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.* Se traduit par une inhibition de la croissance à distance de l'agent pathogène de plus de 60% par rapport au témoin et ce, après six jours d'incubation à 30°C.

Les résultats de la confrontation indirecte révèlent également une réduction de la croissance et de la sporulation de *Fusarium sp.* de plus de 30% après six jours d'incubation, sous l'action des substances volatiles émises par *Trichoderma sp.*

Nous remarquons que T9, T12, T14 sont les souches les plus inhibitrices sur l'ensemble des isolats de *Fusarium sp.* Testés.

Des résultats intéressants ont également été obtenus *in vivo* : en effet, le semis simultané du blé dans des tubes et des pots pulvérisé par une suspension sporale et inoculé par un disque de *Trichoderma sp.* A réduit l'incidence de la fusariose comparativement au blé inoculé par le pathogène uniquement.

Le blé traité par le *Trichoderma sp.* présente une croissance végétative meilleure et un système racinaire vigoureux.

Mots clés : antagonisme, substances volatiles, *Trichoderma sp.* *Fusarium sp.* , étude *in vitro*, étude *in vivo*, confrontation directe, confrontation indirecte.

Abstract

The present work was carried out for the purpose of *in vitro* and *in vivo* study of the antagonistic effect of *Trichoderma sp.* On *Fusarium sp.*, the causative agent of *Fusarium* head blight in wheat, using two methods of direct confrontation on culture medium and indirect confrontation.

Results obtained *in vitro* shows that direct confrontation of isolates of *Trichoderma sp.* with *Fusarium sp.* isolates results in an inhibition of the remote growth of the pathogen of more than 60% compared to the control after six days of incubation at 30°C.

The results of the indirect confrontation also reveal a reduction in the growth and sporulation of *Fusarium sp.* of more than 30% after six days of incubation, under the action of the volatile substances emitted by *Trichoderma sp.*

We notice that T9, T12, T14 are the most inhibitory strains of all *Fusarium sp.* Isolates tested.

Interesting results have also been obtained *in vivo*: in fact, simultaneous sowing of wheat in tubes and pots sprayed with a spore suspension and inoculated with a *Trichoderma sp.* disc reduced the incidence of *Fusarium* head blight compared to wheat inoculated with the pathogen only.

Wheat treated with *Trichoderma sp.* Shows better vegetative growth and a vigorous root system.

Keywords: antagonism, volatile substances, *Trichoderma sp.*, *Fusarium sp.*, *in vitro* study, *in vivo* study, direct confrontation, indirect confrontation.

Résumé en arabe

تركز هذا العمل على دراسة في المختبر و في الجسم الحي حول تأثير العدائي ل *Trichoderma sp.* على *Fusarium sp.* العامل المسبب لمرض الذبول الفيوزاريومي في القمح. و ذلك باستخدام طريقتين: المواجهة المباشرة في وسط الزرع وغير المباشرة.

النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر. تبين ان المواجهة المباشرة للمستعمرات *Trichoderma sp.* مع العامل الممرض *Fusarium sp.* تتمثل في تثبيط ثم توقف تام لنمو الطفيل بنسبة تزيد عن 60 %.

بالإضافة إلى ذلك. اظهرت نتائج المواجهة غير المباشرة انخفاض نمو وتبوغ *Fusarium sp.* تحت تأثير المواد المتطايرة من *Trichoderma sp.* بنسبة أكثر من 30 % .

تبين نتائج المواجهة المباشرة وغير المباشرة المتحصل عليها ان T14 , T12, T9 هي النوع الاكثر تثبيطا على جميع انواع *Fusarium sp.* المختبرة.

اما في الجسم الحي اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها. ان القمح المزروع داخل الانابيب والملقح بقرص و المعلق البوغي من *Trichoderma sp.* تتمثل في تخفيض حدوث الذبول الفيوزاريومي مقارنة بالقمح الملقح ب *Fusarium sp.*

الكلمات المفتاحية: المواد المتطايرة ، *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.* دراسة في المختبر, دراسة في الجسم الحي، المواجهة المباشرة، المواجهة غير المباشرة.

*Références
bibliographique*

Références bibliographique

- ✓ **Abbassenne F., Bouzerzour H., Hachemi L. 1998.** Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride. *Ann. Agron. INA*, (18): 24-36.
- ✓ **Abdellaoui Z., Tissekrat H., Belhadj A. et Zaghouane O. 2010.** Etude comparative de l'effet du travail conventionnel, semi direct et travail minimum sur le comportement du blé dur. In actes des 4ème rencontres méditerranéennes du semis direct. Sétif, du 3 au 5 mai 2010. Recherche agronomique INRAA. Pp 68-82.
- ✓ **Abis (2012)** Le blé en Méditerranée sociétés, commerce et stratégies. Economie et territoire relations commerciales CIHEAM paris : 241-247.
- ✓ **Adams, P.B. (1990).** The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annu. Rev. agents de lutte biologique*; INRA, UMR Microbiologie Géochimie des sols.
- ✓ **Agence de réglementation.** (2002). Fongicide biologique RootShield *Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2. Santé Canada. 32 p.
- ✓ **Akrami M., Hadi G., Ahmadzadeh M., (2011).** Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. *African Journal of Biotechnology*, 10: 2653-2658.
- ✓ **Al-Tovi BSS, Haleem RA.** Pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown and root rot of wheat (*Triticum aestivum*) under different condition. *Revista Innovaciencia*. 2019;7(1):1-9.
- ✓ **Alexander, L. J., Tucker, C. M. (1945).** Physiologic specialization in Baker, R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants, *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 7 (2): 97-106.
- ✓ **Ammar M (2014)** organisation de la chaîne logistique dans la filière céréales en Algérie états des lieux et perspective. Thèse de doctorat de CIHEAM Montpellier : p
- ✓ **Amreen T, Kumar VBS., (2012)** In vitro evaluation of native *Trichoderma harzianum* against major fungal pathogen of flower and fruit crops. *Environment and Ecology* 30: 1039-1041
- ✓ **Bisset, J.A., Can. J. Bot. (1991).** Revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. (b), 69 : 2357-2372
- ✓ **Bissett J., (1991)** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.*, 69: 2357-2372
- ✓ **Bissett, J.A. (2004).** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric

Références bibliographique

- classification. (b) Can. J. Bot., 1991, 73 : 2280-2300.
- ✓ **Bonjean A .et Picard E., (1990)** - Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. Eds Nathan, 235 pages.
 - ✓ **Boukhris L. (1992).** Identification des bactéries phytopathogènes transmissibles par la semence du blé en algérie. Mémoire Ing. Agro. Département de botanique, INA El harrach, 73 p.
 - ✓ **Caron, J. (1993).** Isolement et caractérisation de divers isolats de Trichoderma comme agent de lutte
 - ✓ **Carosolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortes, C., Guttierrez, A., Chet, I., Herrea Estrella, A. (1999).** Role of the Trichoderma harzianum endochitinase gene, ech 42, in mycoparasitism. Applied and Environmental Microbiology 65: 929-935.
 - ✓ **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)
 - ✓ **Comporata. (1985).** « Antagonisme in vitro de Trichoderma spp vis à vis de Rhizoctinia solani, pp. 613-620. INRA Paris (FR).
 - ✓ **Corbaz , R .(1999).** Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaires romandes. 9 : 167-255.
 - ✓ **Crystel L., 2014.** Le marché du blé dur : service agronomie- Economie- Environnement. Mercredi 06 Février 2014. Édition : ARVALIS. n. 79.
 - ✓ **Davet, P. (1983).** Les Trichoderma: exemple de champignons antagonistes d'agents pathogènes. Pages 193-204 dans Journées d'études et d'informations, Paris. ACTA.
 - ✓ **Davet., P. and Rouxel, F. (1997)** .Détection et isolement des champignons du sol. Institut national de la recherche Agronomique.
 - ✓ **De Kouassi.,(2001).** Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon entomopathogène B. bassiana. Vertigo 2 :2 (2001).
 - ✓ **Degenkolb T., Dohren H. V., Nielsen N. F., Samuels G. J., and Bruckner H (2008)** Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin research, and their importance for chemotaxonomy of Trichoderma and Hypocrea. Chem. Biodivers., 5: 671-680
 - ✓ **Domain A.L., (1995).** Emerging concepts of secondary metabolism in Devaux, A., (1995). Rapport No.4 : Essais sur la Resistance du blé à la fusariose del'épi (fusarium graminearum). Ministère de l'agriculture des Pêcheries et de l'alimentation du Québec.
 - ✓ **Druz hinina ,I. and kopchinskiy, A. (2004)** Trichoderma morphology ([www. Isth .](http://www.Isth)

Références bibliographique

info / morphology . php).

- ✓ **Dubos B.,(1985).** L'utilisation des Trichoderma comme agent de lutte biologique à l'égard de deux parasites aériens: *Chondrostereum purpureum* (Pers. Ex. fr.) pouzar (plomb des arbres fruitiers) et *Botritis cinerea* pers. (pourriture grise de la vigne. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures, pp 35-49. INRA, Paris (FR).
- ✓ **Esposito, E. et silva, M.,(1998).** Systematics and environmental application of genus *Trichoderma*.1998. Crit. Rev. Microbiol., 24(2) : 89-98.
- ✓ **Fraval A .and silvy C. (1999).** Da lutte biologique (II). Dossiers de l'Environnement de l'INRA N° 19 paris. (Http : // www. Inra. Fr/ internet /produits / dpenr/ gre god 19.htM).
- ✓ **Fusariose.** In: Wikipédia [Internet]. 2020 [cité 14 août 2020]. Disponible sur: <https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Fusariose&oldid=166826345>
- ✓ **Gams, W. et Bissett, j. (1998).** Morphology and identification of *Trichoderma* sp. *Trichoderma & Gliocladium*, Volume 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Londres. -Kubicek, C.P.; Harman, G.E. & Ondik, K.L., CRC Press., (1998). pp.3-34, 300 P.
- ✓ **Gams, W. et Bissett, j.,(1998).** Morphology and identification of *Trichoderma* sp. *Trichoderma & Gliocladium*, Volume 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Londres. -Kubicek, C.P.; Harman, G.E. & Ondik, K.L., CRC Press.,(1998). pp.3-34, 300 P
- ✓ **Gams, W., Bissett J. (1998).** Morphology and identification of *Trichoderma* sp.
- ✓ **Goswami RS, Kistler HC, 2005.** Pathogenicity and in planta mycotoxin accumulation among members of the *Fusarium graminearum* species complex on wheat and rice. *Phytopathology* 95, 1397-1404
- ✓ Gourdain E, Rosengarten P, 2011. Effects of infection time by *Fusarium graminearum* on ear blight, Deoxynivalenol and Zearalenon production in wheat. *Plant Breeding and Seed Science* 63, 67-76
- ✓ **Grignac P., (1978).** Amélioration variétale de blé dur (*Triticum durum* Desf.).*Annale de l'INA (El –Harrach)* : 83 -110.
- ✓ **Guenther J, Trail F, 2005.** The development and differentiation of *Gibberella zeae* (anamorph: *Fusarium graminearum*) during colonization of wheat. *Mycologia*, 97(1), 229- 237
- ✓ **Harris LJ, Desjardins AE, Plattner RD, Nicholson P, Butler G, Young JC,**

Références bibliographique

- Weston G, Proctor RH, Hohn TM, 1999.** Possible role of trichothecene mycotoxins in virulence of *Fusarium graminearum* on maize. *Plant disease* 83, 954-960.
- ✓ **Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B. and Pegler D.N.,(1995).** Dictionnaire of the fungi , 8th ed. CAB. International Walling Ford. United Kingdom.
 - ✓ **Henni, J.E. (1998).** Morphologie,pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran, p 171.
 - ✓ **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
 - ✓ **Howell CR. (2003).** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, p.4–10.
 - ✓ **Howell CR., (2003).** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, p. 4–10.
 - ✓ **Jeunot B ; (2005).** Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse : pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université.
 - ✓ **Khaled Hibar, Mejda Daami-Remadi, HaifaKhiar eddine etMohamed El Mahjoub,.(2005)** . «Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma*harzianum sur *Fusariumoxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*», Base [En ligne], volume 9, numéro 3, 163-171 URL : <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=1442>.
 - ✓ **La fusariose du blé - Maladies du blé [Internet].** [Cité 14 août 2020]. Disponible sur: https://www.agro.basf.fr/fr/cultures/ble/maladies_du_ble/fusariose_du_ble.html
 - ✓ **Lanusse, M., Lung-escarmant, B., Dubot, B., Taris B. (1983).** Etude in-vitro des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea* , pp 179-192. XXIV colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
 - ✓ **Le cycle végétatif du blé - La claie des champs [Internet].** 2014 [cité 13 août 2020]. Disponible sur: <http://laclaiedeschamps.canalblog.com/archives/2014/07/05/30196698.html>
 - ✓ **Le cycle végétatif du blé - La claie des champs [Internet].** 2014 [cité 13 août 2020].

Références bibliographique

Disponible

sur:

<http://laclaiedeschamps.canalblog.com/archives/2014/07/05/30196698.html>

- ✓ Le genre *Trichoderma* - agronomie [Internet]. [cité 14 août 2020]. Disponible sur: <https://agronomie.info/fr/le-genre-trichoderma/>
- ✓ **Leuchtman, A. ; petrini, O. et samuels, g., (1996)**. Isozymes subgroups in *Trichoderma* section *Longibrachiatum*. *Mycologia*, 1996, 88 (3) : 384-394
- ✓ **Liddell CM, 2003**. Systematics of *Fusarium* species and allies associated with *Fusarium* head blight. Pages 35-43 in: *Fusarium* head blight of wheat and barley. K. J. Leonard and W. R. Bushnell, eds. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- ✓ **Maslouhi A., (1989)**. Contribution à l'étude in vitro des antagonistes de *Fusarium oxysporum* F.sp *Albedinis*, agent causal du Bayoud, pp 4-8. Thèse de doctorat. INA, Marrakech (Maroc).
- ✓ **Menzies, J G. (1993)**. A strain of *Trichoderma viride* pathogenic to germinating seedlings of cucumber, pepper and tomato. *Plant Pathol.* 42: 784-791
- ✓ **Nicolaisen M, Suproniene S, Nielsen LK, Lazzaro I, Spliid NH, Justesen AF, 2008**. Real-time PCR for quantification of eleven individual *Fusarium* species in cereals. *Journal of Microbiological Methods* 76(3), 234-240
- ✓ **Nielsen LK, Jensen JD, Nielsen GC, Jensen JE, Spliid NH, Thomsen IK, Justesen AF, Collinge DB, Jørgensen LN, 2011**. *Fusarium* head blight of cereals in Denmark: Species complex and related mycotoxins. *Phytopathology* 101, 960-969.
- ✓ **Pauvet P., (1984)**. Les fusarioses des céréales. *Phytoma*, 202: 15-16. Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger :
- ✓ **Prandini A, Sigolo S, Filippi L, Battilani P, Piva G., (2009)**. Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47(5), 927-931
- ✓ **Rapilly F., lemaire J.M et cassini R .(1971)** .les principale maladies cryptogamique des céréales . Eds.I.N.R.A paris 310p
- ✓ **Roco, A. and Pérez, L. M. (2001)**. In vitro biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. *Electronic journal of Biotechnology* . 6 p.
- ✓ **Rodriguez-Galvez, E. and Mendgen, K., .**The infection process of *Fusarium oxysporum* in cotton root tips. *Protoplasma*, 1995; 189(1-2): 61-72
- ✓ **Roquebert M-F., (1996)**. Intéractions antagonistes des *Trichoderma* sp. Dans les

Références bibliographique

systèmes telluriques : systématique biologie et écologie des organismes. Comptendu des 4 emes rencontres en toxicologie, paris, 13-15.

- ✓ **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>).
- ✓ **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>).
- ✓ **Tivoli .B.,(1988).** Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de Fusarium rencontrées en france sur la pomme de terre et dans son environnement .Agronomie, 8 (3) :211-222
- ✓ **Verma, M.,(2007).** Développement d'un processus d'obtention d'agents biologiques à base de Trichoderma SPP en utilisant des eaux usées ou des boues d'épuration comme substrats de fermentation. Thèse de doctorat, INRS-ETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada,424 p.
- ✓ **Widden, P. et Abitbol, J.J.,(1980).** Seasonality of Trichoderma species in a spruce-forest soil. Mycologia, 72 : 775-784.
- ✓ **Xu XM, Nicholson P, Ritieni A.,(2007).** Effects of fungal interactions among Fusarium head blight pathogens on disease development and mycotoxin accumulation. International Journal of Food Microbiology 119, 67-71.
- ✓ **Yedida, I., A.K. Srivastva, Y. Kapulnik et I.Chet.,(2001).** Effect of Trichoderma harzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant soil, 235: 235-242.

Annexes

Annexes

Annexe 1 : classification du blé.

Règne	Plantae
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Liliopsida</i>
Ordre	<i>cyperales</i>
Famille	<i>poaceae</i>
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i>

Annexe 2 : Milieux de cultures.

Milieu PDA : POTATO DEXTROSE AGAR.

- Pomme de terre200g.
- Glucose.....20g.
- Agar20g.
- Eau distillécompléter jusqu'à 1000 ml.
- PH6.

- Laver la pomme de terre non pelée.
- Couper en cubes dans 500ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 30 -45 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans 500 ml d'eau distillée.
- Ecraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat a la solution d'agar.
- Ajouter le glucose.

Annexes

- Compléter le volume a1000 ml
- Stériliser par autoclavage a 121°C / 15min.

Composition du milieu finale :

- 1000 ml Extrait de pomme de terre.
- 20g de glucose.
- 20g Agar.

Annexe 3 : les indices de maladie des traitements de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* Contre le pathogène *Fusarium sp* (test des tubes).

indice de maladie	0	3	4	ID
témoin	25	0	0	0
FC2 (disque 13mm)	2	2	13	68
T14 (disque 13mm)	17	0	0	10
FC2 (disque) +T14 (disque)	9	4	3	34
FC2 (disque) +T14 (suspen)	4	6	8	60

Annexe 4 : les indices de maladie des traitements de l'activité antagoniste de *Trichoderma sp.* Contre le pathogène *Fusarium sp* (test des pots).

test des pots	class 0	class 1	class 2	class 3	class 4	indice de maladie
Témoin	50	0	0	0	0	0
FC2 (disque 13mm)	1	10	14	17	8	60,5
T14 (Susp+semis)+FC2 (disque)	11	18	14	6	1	34
T14(Susp)+FC2 (disque 13mm)	14	14	14	6	2	34
T14 (disque 13mm) +FC2 (disque)	20	19	8	3	0	22

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

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie fongique

Titre : Etude de l'effet antagoniste *in vitro* et *in vivo* de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.* agent causal de la fusariose du blé

Résumé

Le présent travail a été effectué dans le but de l'étude *in vitro* et *in vivo* de l'effet d'antagonisme de *Trichoderma sp.* sur *Fusarium sp.* l'agent causal de la fusariose du blé, en utilisant deux méthodes de la confrontation directe sur milieu de culture et la confrontation indirecte.

Les résultats obtenus *in vitro* montrent que la confrontation directe des isolats de *Trichoderma sp.* vis-à-vis des isolats de *Fusarium sp.* se traduit par une inhibition de la croissance à distance de l'agent pathogène de plus de 60% par rapport au témoin et ce, après six jours d'incubation à 30°C.

Les résultats de la confrontation indirecte révèlent également une réduction de la croissance et de la sporulation de *Fusarium sp.* de plus de 30% après six jours d'incubation, sous l'action des substances volatiles émises par *Trichoderma sp.*

Nous remarquons que T9, T12, T14 sont les souches les plus inhibitrices sur l'ensemble des isolats de *Fusarium sp.* testés.

Des résultats intéressants ont également été obtenus *in vivo* : en effet, le semis simultané du blé dans des tubes et des pots pulvérisé par une suspension sporale et inoculé par un disque de *Trichoderma sp.* a réduit l'incidence de la fusariose comparativement au blé inoculé par le pathogène uniquement.

Le blé traité par le *Trichoderma sp.* présente une croissance végétative meilleure et un système racinaire vigoureux.

Mot clés : antagonisme, substances volatiles, *Trichoderma sp.* *Fusarium sp.* étude *in vitro*, étude *in vivo*, confrontation directe, confrontation indirecte

Membre du jury :

Président du jury : *Mr. DEHIMAT Laid Pr. Univ. Des Frères Mentouri Constantine*

Examineur : *Mme. BECHKRI Sakina Dr. Univ. Des Frères Mentouri Constantine*

Encadreur : *Mme. BELLIL ines Dr. Univ. Des Frères Mentouri Constantine*

Présentée par :
SOUIKI Sabrina & ZERMANE Roumeissa

Année universitaire :
2019 -2020