



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : de Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : microbiologie, Option : Mycologie et biotechnologie fongique

Intitulé :

Recherche de l'effet antagoniste de quelques isolats de *Trichoderma* sp. à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent du flétrissement fusarien de la tomate

Présenté et soutenu par :

BOUGHABA Hibet Allah

BOUZIT Aya Khaoula

Jury d'évaluation :

Président du jury : M. BOULAHROUF Khaled (Maître de conférences B -UFM Constantine).

Examinatrice : Mme. BOUCHLOUKH Warda (Maître assistante A -UFM Constantine).

Encadré par : M. DEBBI Ali (Maître de recherche B - C. R. Bt. Constantine).

Année universitaire
2019- 2020

Avant-propos

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au Laboratoire de mycologie au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) de Constantine.

L'encadrement scientifique de ce travail a été assuré par Mr Debbi Ali, Maître de recherche B au Centre de recherche de biotechnologie de Constantine.

Remerciement

Nous remercions, tout d'abord, Dieu tout puissant, qui nous a donné la force et la volonté pour terminer ce travail.

Suite à l'achèvement de ce modeste travail, Nous tenons ensuite à exprimer notre reconnaissance et nos respects sans limite pour notre directeur de mémoire Mr DEBBI Ali pour sa prise en charge, ses conseils précieux, merci pour tout ce que vous avez apporté à nos connaissances.

Nos remerciements vont au président du jury Mr. BOULAHROUF Khaled, d'avoir accepté de présider et de juger ce travail.

Nos remerciements vont également à Mme. BOUCHLOUKH Warda d'avoir accepté d'examiner ce travail et pour sa participation à ce jury.

Nous remercions par la suite très vivement Mr LATRECHE Mohamed El Hadi recteur de l'université des Frères Mentouri Constantine 01 et Mr AZIOUN Amar, Merci de nous avoir accueillis au niveau du centre de recherche en Biotechnologie (C.R.BT) à Constantine pour réaliser la partie expérimentale de ce travail.

Sans oublier de remercier le personnel du Laboratoire mycologie (C.R.BT) notamment BOULAHBEL Houda, notre grand respect pour cet humble ingénieur qui n'a jamais lésiné sur son temps pour orienter et conseiller tous les étudiants sans exception.

Enfin un grand remerciement à toutes les personnes qui ont contribué, de près comme de loin, au bon déroulement de l'étude, ainsi ceux qui ont bien voulu nous apporter leur soutien moral et matériel dans l'élaboration de ce travail.

Dédicaces

- ❖ Je dédie ce travail à mes chers parents, Merci pour vos encouragements, votre dévouement et compréhension et surtout pour tous les efforts que vous faites pour que mes ambitions se réalisent.
- ❖ À mon frère Amdjed.
- ❖ À Mon fiancé Hamza merci pour ton soutien et tes encouragements merci d'être toujours là pour moi.
- ❖ À mes cousins, Amina, Aymen, Aya et Aridje.
- ❖ À mes chères tantes, à toute ma famille.

Hiba

Dédicaces

- ❖ Je dédie ce modeste travail à mes chers parents Pour leur patience,
leur amour, leurs encouragements, et leur soutiens tout au long mes
études que dieux me les gardes tous les deux

- ❖ A mon frère Mounji et ma sœur Yara

- ❖ À mon fiancé Mehdi qui m'a aidé et supporté dans les moments
difficiles.

- ❖ A tous ma famille paternelle et maternelle

- ❖ A tous mes amies (Manel, Imen, Chaima)

Résumé

Fusarium oxysporum est un champignon d'origine tellurique ubiquiste qui a la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales d'intérêt économique. En effet certaines souches de *F. oxysporum* sont pathogènes. Deux formes spéciales sont inféodées à la tomate restent des principales causes de pertes de rendement en Algérie, *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* qui provoque des trachéomycoses alors que *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-lycopersici* engendre des nécroses racinaires. L'identification morphologique a permis d'identifier les isolats comme étant des *Fusarium oxysporum*. En outre les observations macroscopique et microscopique ont confirmé l'appartenance des isolats de l'agent antagoniste au genre *Trichoderma*. Les tests d'activité antagoniste *in vitro* (confrontation direct, sur membrane de cellulose et sur membrane de cellophane) ont donné des résultats positifs au moyen d'utilisation de l'antagoniste *Trichoderma* spp. à l'égard de l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* (*Fol*). Le test de bio-contrôle *in vivo* effectué par le traitement des graines de la tomate de la variété Super Marmande avec une suspension sporale des mêmes isolats testés *in vitro* a donné des résultats encourageants en réduisant de manière significative l'incidence de la fusariose sur les plantes infectées, révélant ainsi leur effet antagoniste efficace contre l'agent pathogène testé (*Fol*). Ces résultats suggèrent que l'antagoniste a un effet inhibiteur sur le *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* et protège les plantes par des différents modes d'action de *Trichoderma* spp.

Mots clé : activité antagoniste, fusariose, *Fol*, *Trichoderma* spp., tomate.

Abstract

Fusarium oxysporum is an ubiquitous land-based fungus that has the ability to cause disease in many plant species of economic interest. In fact, certain so-called pathogenic strains of *F. oxysporum*, two special forms are subservient to the tomato and remain the main causes of yield losses in Algeria, *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici*, which causes tracheomyces while *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersici* causes root necrosis. Morphological identification identified the isolates as *Fusarium oxysporum*. In addition, macroscopic and microscopic observation confirmed that the isolates of the antagonist agent belonged to the genus *Trichoderma*. *In vitro* antagonist activity tests (direct confrontation, cellulose membrane, cellophane membrane) have given positive results using the antagonist *Trichoderma* spp. against the pathogen *Fusarium oxysporum* (*Fol*). The *in vivo* antagonist activity test carried out by treating the seeds of the tomato variety Super Marmande with a spore suspension of the same isolates tested *in vitro* has given an encouraging results by significantly reducing the incidence of *Fusarium* wilt on the infected plants, thus revealing their effective antagonist effect against the pathogen tested (*Fusarium oxysporum*), these results suggest that the antagonist has an inhibitory effect on *Fusarium oxysporum* and protects the plants by different modes of action of *Trichoderma* spp.

Key words: antagonist activity, *Fusarium* wilt, *Fol*, *Trichoderma* spp., tomato.

المخلص

فوزاريوم أوكسيبوروم هو فطر يعيش في بيئات مختلفة وله القدرة على إحداث الامراض في العديد من أنواع النباتات ذات الأهمية الاقتصادية. في الواقع، سلالات معينة من فوزاريوم أوكسيبوروم تُعرف باسم المُمرضَة ، هناك شكلين خاصين تابعين للطماطم وهي من الأسباب الرئيسية لفقدان الغلة في الجزائر *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* الذي يسبب داء فطري في ساق النبتة بينما *Fusarium oxysporum f.sp radices lycopersici* يسبب نخر في الجذور. حدد التعريف المورفولوجي للعزلات على أنها فوزاريوم أوكسيبوروم. بالإضافة إلى ذلك ، أكدت الملاحظة المجهرية والميكروسكوبية أن عزلات العامل المضاد تنتمي إلى جنس *Trichoderma* . أعطت اختبارات النشاط المضاد في المختبر (المواجهة المباشرة ، غشاء السليلوز ، غشاء السيلوفان) نتائج إيجابية باستخدام المضاد *Trichoderma spp.* ضد الفطر الممرض *Fusarium oxysporum (Fol)*. إن اختبار النشاط المضاد في الجسم الحي الذي تم إجراؤه عن طريق معالجة بذور صنف الطماطم Super Marmande بمحلول البويغات لنفس العزلات المختبرة في المختبر قد أعطى نتائج مشجعة عن طريق الحد بشكل كبير من حدوث ذبول الفيوزاريوم على النباتات المصابة، وهذا يكشف تأثيرها المضاد الفعال ضد العامل الممرض الذي تم اختباره (*Fusarium oxysporum*)، تشير هذه النتائج إلى أن العامل المضاد له تأثير مثبت على *Fusarium oxysporum* ويحمي النباتات بأنماط مختلفة من عمل *Trichoderma spp.*

الكلمات المفتاحية: نشاط المضاد، ذبول الفوزاريوم، *Fol*، *Trichoderma spp.*، الطماطم.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Résumé | V |
| Introduction..... | 1 |
| I. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES | 3 |
| 1 La plante hôte (la tomate) | 4 |
| 1.1 La production de la tomate en Algérie | 4 |
| 1.2 Exigences de la tomate | 4 |
| 1.2.1 Les exigences climatiques | 4 |
| 1.2.1.1 La température | 4 |
| 1.2.1.2 Humidité relative, (H.R. %)..... | 5 |
| 1.2.1.3 La lumière | 5 |
| 1.2.2 Les exigences édaphiques | 6 |
| 1.2.2.1 Le sol | 6 |
| 1.2.2.2 Le pH..... | 6 |
| 1.2.2.3 L'eau..... | 6 |
| 1.3 Les maladies de la tomate | 6 |
| 2 L'agent pathogène (<i>Fusarium oxysporum</i>) | 12 |
| 2.1 Le genre <i>Fusarium</i> | 12 |
| 2.2 L'espèce : <i>Fusarium oxysporum</i> | 12 |
| 2.3 Position systématique..... | 12 |
| 2.4 Identification de <i>Fusarium oxysporum</i> | 13 |
| 2.4.1 Les microconidies | 13 |
| 2.4.2 Les macroconidies | 14 |
| 2.4.3 Les chlamydospores..... | 14 |
| 2.5 Cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i> : | 15 |
| 2.6 La fusariose de la tomate..... | 16 |
| 2.7 Les moyens de lutte de la fusariose | 17 |
| 2.7.1 La lutte culturale | 17 |
| 2.7.2 La lutte chimique | 17 |
| 2.7.3 La lutte physique..... | 18 |
| 2.7.4 Lutte agronomique | 18 |
| 2.7.5 La lutte biologique | 18 |
| 3 L'agent antagoniste <i>Trichoderma</i> spp..... | 19 |
| 3.1 Le genre <i>Trichoderma</i> | 19 |

| | | |
|--|---|-----------|
| 3.2 | Position systématique..... | 19 |
| 3.3 | Morphologie de <i>Trichoderma</i> spp. | 20 |
| 3.4 | L'habitat de <i>Trichoderma</i> spp 21 | 21 |
| 3.5 | Cycle biologique..... | 21 |
| 3.6 | Le pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp..... | 23 |
| 3.7 | Mode d'action de <i>Trichoderma</i> spp. en lutte biologique..... | 23 |
| II. MATERIEL ET METHODES | | 25 |
| 1 Matériel | | 26 |
| 1.1 | Matériel fongique..... | 26 |
| 1.2 | Matériel végétale..... | 26 |
| 2 Méthodes..... | | 26 |
| 2.1 Isolement et identification des isolats fongiques | | 26 |
| 2.1.1 | Isolement et purification de l'agent phytopathogène | 26 |
| 2.1.1.1 | L'isolement | 26 |
| 2.1.1.2 | Purification..... | 27 |
| 2.1.1.3 | Identification..... | 27 |
| 2.1.2 | Isolement et purification de l'agent antagoniste..... | 28 |
| 2.2 Activité antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp vis à vis de <i>f. sp. lycopersici</i>..... | | 28 |
| 2.2.1 | Activité antagoniste <i>in vitro</i> | 28 |
| 2.2.1.1 | Confrontation directe..... | 28 |
| 2.2.1.2 | Activité antifongique sur membranes de cellophane | 29 |
| 2.2.1.3 | Activité antifongique sur membranes de cellulose | 29 |
| 2.2.2 | Activité antagoniste <i>in vivo</i> | 30 |
| III. RESULTATS ET DISCUSSION..... | | 32 |
| 1 Résultats | | 33 |
| 1.1 Caractérisation des isolats fongiques utilisés dans cette étude..... | | 33 |
| 1.1.1 | Identification morphologique des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> | 33 |
| 1.1.2 | Identification morphologique des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. | 34 |
| 1.2 Etude de l'activité antifongique des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. <i>in vitro</i>.... | | 36 |
| 1.2.1 | Test de confrontation directe..... | 36 |
| 1.2.2 | Activité antifongique sur membranes | 36 |
| 1.3 Activité antifongique des isolats de <i>Trichoderma</i> contre l'isolat <i>F. oxysporum</i> <i>f.sp. lycopersici in vivo</i>..... | | 41 |
| 2 Discussion | | 44 |
| CONCLUSION GENERALE..... | | 46 |

| | |
|--|-----------|
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 49 |
| Annexes..... | i |

Liste des abréviations

ANOVA : *Analyse Of Variance*

C.R.BT : centre de recherche en biotechnologie de Constantine

FAO: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*

Fo: Fusarium oxysporum

Fol: Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici

Forl: Fusarium oxysporum f.sp. radicis-lycopersici

f.sp: forme spéciale

IMM : Indice moyen de la Maladie

IM : Incidence de la Maladie

ITCMI : Institut Technique des Cultures Maraichères et Industrielles

PDA : *Potato Dextrose Agar*

RIM : Réduction de l'Incidence de la Maladie

UV : Ultraviolet

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: (A) Mycélium de <i>Fusarium oxysporum</i> ;(B), Microconidies ;(C), Macroconidies ;(D) Chlamydozoospores (Tousount et Nelson., 1976)..... | 14 |
| Figure 2 : cycle de vie de <i>Fusarium oxysporum</i> (Kabouch, 2014)..... | 15 |
| Figure 3: Symptômes de <i>Fusarium oxysporum</i> (Fol) sur feuilles et tiges de tomate (Spiga, 2015)..... | 16 |
| Figure 4: Aspect macroscopique de <i>Trichoderma</i> sp. (Anonyme 1, 2014)..... | 20 |
| Figure 5: Aspect microscopique de <i>Trichoderma</i> sp. (Anonyme 2, 2014). | 20 |
| Figure 6: Cycle de vie <i>Trichoderma</i> sp. (Anonyme 3, 2014)..... | 22 |
| Figure 7: Isolement du <i>Fusarium oxysporum</i> à partir d'une tige de tomate malade. | 27 |
| Figure 8: Méthode de confrontation directe <i>in vitro</i> | 29 |
| Figure 9: Aspect macroscopique de deux isolats phyto pathogènes de <i>F. oxysporum</i> (Fol et Forl)..... | 33 |
| Figure 10: Aspect microscopique d'un isolat de l'agent phytopathogènes <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> | 34 |
| Figure 11: Aspect macroscopique des différents isolats de l'agent antagoniste <i>Trichoderma</i> sp. | 35 |
| Figure 12: Aspect microscopique de l'agent antagoniste <i>Trichoderma</i> sp. | 35 |
| Figure 13: La confrontation directe des isolats de <i>Trichoderma</i> à l'égard de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> , montrant un envahissement, après 6 jours d'incubation à 25 ° C à l'obscurité. | 38 |
| Figure 14: Activité antifongique des isolats de <i>Trichoderma</i> à l'égard de Fol, (A) sur membrane de cellophane, (B) sur membrane de cellulose après 4 jours d'incubation à 25 ° C à l'obscurité..... | 39 |

Figure 15: taux d'inhibition *in vitro* de la croissance mycélienne de l'isolat de *Fol* par des isolats de *Trichoderma* en confrontation directe (A), sur membrane de cellulose (B) et sur membrane de cellophane (C). 40

Figure 16: Activité Antagoniste *in vivo* des isolats de *Trichoderma* (Tantb (a2), Tantb (B), S'sm) à l'égard de l'isolat de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. 43

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Les températures moyennes aux différents stades végétatifs de la tomate (Beldjilali, Zeltissi, 2017)..... | 5 |
| Tableau 2 : Les principales maladies virales de la tomate (Snoussi, 2010). | 8 |
| Tableau 3 : Les principales maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010). | 9 |
| Tableau 4 : Les principales maladies fongiques de la tomate (Causse <i>et al</i> , 2000 ; Naika <i>et al.</i> , 2005)..... | 10 |
| Tableau 5 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de <i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. lycopersici</i> induit par les isolats de <i>Trichoderma</i> étudiés, après confrontation directe, sur membrane de cellophane et sur membrane de cellulose..... | 37 |
| Tableau 6 : L'indice de sévérité des symptômes de la fusariose de la tomate causée par <i>F. oxysporum</i> f. <i>sp. lycopersici</i> selon une échelle de notation de 0 à 4. | 42 |
| Tableau 7 : Indice moyen de la maladie (IMM), l'incidence de la maladie (IM) causée par Fol sur des plants de tomate " SM", et la réduction de l'incidence de la maladie (RIM) suite au traitement de la semence par les isolats de <i>Trichoderma</i> sp séparément. | 42 |

Introduction

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) est une espèce de plantes herbacées du genre *Solanum* de la famille des Solanacées originaire du nord-ouest de l'Amérique du Sud. Vu sa disponibilité et sa valeur nutritionnelle importante elle est considérée comme le deuxième légume consommé dans le monde après la pomme de terre. Elle est adaptée à des conditions de culture très variées et destinée à la consommation à l'état frais ou transformé industriellement. La plante de la tomate est cultivée sous serre et en plein champ, sur une superficie d'environ 3 millions d'hectares, ce qui représente près du tiers des surfaces mondiales consacrées aux légumes (**Morot-gaudry et al., 2000 ; Bachir bouiadjra, 2017**).

En Algérie, la culture de la tomate occupe une place privilégiée dans le secteur socio-économique. En comparant la production de la tomate en Algérie avec la production dans les pays méditerranéens, elle reste faible cela est dû entre autres, aux maladies cryptogamiques causées par des champignons phytopathogènes et aux insectes qui provoquent d'énormes dégâts à partir du semis, jusqu'à sa commercialisation (**Guenaoui, 2008 ; Si mohamed , 2017**). Parmi ces maladies fongiques, la fusariose causée par des espèces du genre *Fusarium* qui regroupe des champignons telluriques parmi les plus agressifs, responsables des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées notamment la tomate (**Bettache, 1993**).

Le *Fusarium oxysporum* est l'espèce qui comporte les formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés et qui causent les maladies les plus répandues sur le plan économique de la tomate. Cet agent phytopathogène peut être à l'origine des pertes de rendement de 30 à 40% et jusqu'à même 80% de perte, dans des conditions météorologiques favorables. Les formes pathogènes de cette espèce fongique montrent une très grande spécificité d'hôte et par conséquent elles sont regroupées en formes spéciales (f.sp.), deux formes spéciales différentes sont spécifiques à la tomate : *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) qui provoque des mycoses vasculaires et *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Forl) qui engendre la pourriture racinaires et du collet. Dans les deux cas, la fusariose se traduit par un flétrissement et des fois, par un jaunissement de la plante pouvant aller jusqu'au dessèchement des feuilles et la mort de la plante (**Armstrong et Armstrong 1981 ; Laterrot et al., 1988 ; Nirmaladevi et al., 2016**).

Différentes méthodes de lutte peuvent être envisagées contre ces maladies :

Il y a quelques années, La lutte chimique était le seul moyen de lutte utilisé contre la fusariose et actuellement il est certes efficace mais son utilisation répétitive et massive a induit aussi une pollution environnementale et l'apparition de souches pathogènes résistantes. De ce fait la lutte biologique pourrait être une alternative à la lutte chimique **(Boutomou et Boumaza., 2016).**

Dans cette optique, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur une étude de l'effet antagonisme de trois isolats de *Trichoderma* spp. contre un isolat du champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Cette étude, repose sur les aspects suivant :

- L'isolement et l'identification de l'agent associé au flétrissement et au jaunissement à partir des plantes de la tomate présentant des symptômes de flétrissement.
- L'étude de l'effet inhibiteur des isolats de *Trichoderma* à l'égard d'un isolat de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* par :
 - Les tests biologiques de bio-control, *in vitro* : Confrontation directe, Activité antifongique sur membranes (de cellophane et de cellulose) et activité antagoniste *in vivo*.

I. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1 La plante hôte (la tomate)

1.1 La production de la tomate en Algérie

La tomate peut être cultivée dans toutes les régions en Algérie, elle occupe une place importante dans l'économie agricole Algérienne (Maraichère et industrielle). La tomate de l'arrière-saison est cultivée dans les régions du littoral Centre et du littoral Ouest. La culture de tomate sous serres est basée dans toutes les régions du littoral et quelques régions du sud et elle représente 51% de la production totale en produits maraichères (**Bachir Bouiadjra, 2017**). Durant la période (2010-2018), La superficie récoltée de la tomate fraîche en Algérie n'a pas connu une évolution importante, 22323 ha en 2018 contre 21358 ha en 2010. Par ailleurs, la production a presque doublé durant cette même période, dépassant les 1309745 tonnes en 2018 contre 718 235 tonnes en 2010 (**FAOSTAT, 2020**).

1.2 Exigences de la tomate

1.2.1 Les exigences climatiques

L'environnement et le climat en particulier influence l'apparition des différents organes de la plante (feuilles, tiges, fleurs,...), leur forme et leur croissance. Les conditions climatiques favorables à la production de la tomate dépendent à la fois des variétés considérées et du stade de développement (**Bedrane, 2019**).

1.2.1.1 La température

Le *Solanum lycopersicum* est sensible au froid et détruite au-dessous de 2 °C et craint beaucoup le gel. Vu qu'il est d'origine tropicale il nécessite un minimum de chaleur et exposition ensoleillée pour sa croissance. La tomate exige un climat relativement frais et sec pour donner une récolte abondante et de qualité.

Les températures optimales pour la plupart des variétés se situent entre 21 et 24°C. Les plantes peuvent résister à un certain intervalle de températures, mais en dessous de 10 °C et au-dessus de 38°C les tissus végétaux sont endommagés (**Beldjilali et Zeltissi, 2017**).

Tableau 1: les températures moyennes aux différents stades végétatifs de la tomate (Beldjilali, Zeltissi, 2017).

| Stade de développement | Température (°C) | |
|------------------------|------------------|----------------|
| | T °C du sol | T°C de l'air |
| Germination | 25°C | / |
| Croissance | 15 à 20 °C | jour 18°-20 °C |
| | | nuit 15°C |
| Floraison | 15 à 18 °C | jour 22°-25°C |
| | | nuit 13°-17°C |
| Fructification | 20 à 25 °C | jour 25 °C |
| | | nuit 18°C |

1.2.1.2 Humidité relative, (H.R. %)

L'humidité relative optimale pour la tomate est de 75%. Cette humidité permet d'avoir des fruits de bons calibres, avec moins de gerçures et sans défaut de coloration. Une humidité relative optimale trop élevée, couplée à une température élevée entraîne une végétation luxuriante avec un allongement des entre-nœuds. Cependant, elle favorise aussi le Développement des maladies, notamment le botrytis et le mildiou (Pntta, 1999).

1.2.1.3 La lumière

La plante de la tomate ne présente pas d'exigence photopériodique très marquée, mais exigeante en énergie lumineuse. Les quatre à six semaines de fortes intensités lumineuses incitent le raccourcissement de l'axe et l'induction du premier bouquet surtout lorsque la température est basse. Pendant la floraison, une forte intensité lumineuse favorise la pollinisation surtout quand la température du substrat est élevée. Quant au fruit, l'insolation directe et la température élevée sont nocives et diminuent sa qualité (Chaux, 1994).

1.2.2 Les exigences édaphiques

1.2.2.1 Le sol

Selon **Boutoumou et Boumza, (2016)**. La tomate pousse bien sur la plus part des sols notamment les sols minéraux qui ont une bonne aération et une bonne rétention de l'eau libre de sels. Elle préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées.

1.2.2.2 Le pH

La culture de la tomate tolère une large gamme de pH, pousse le mieux dans des sols ou la valeur du pH varie entre 5,5 et 6,8 où le meilleur équilibre nutritionnel qui stimulent une bonne croissance est assuré (**Naika et al., 2005**).

1.2.2.3 L'eau

Les besoins en eau de la tomate se situent entre 4000 et 5000 m³/Ha. Ils se varient selon les stades de développement de celle-ci, trois phases physiologiques correspondant à des besoins en eau différents sont à distinguer :

- De la plantation à la 1^{ière} floraison : phase de croissance lente, les besoins en eau sont peu élevés.
- De la floraison à la maturation : phase de croissance rapide, les besoins en eau sont élevés.
- En fin de récolte : phase de vieillissement les besoins en eau sont réduits (**ITCMI, 2015**).

1.3 Les maladies de la tomate

La tomate est un légume avec une grande valeur économique dans plusieurs pays, c'est pourquoi il est important de prévoir les maladies de cette culture. Les cultures de la tomate sont sujettes à de nombreuses maladies causées par divers agents pathogènes tels que : les virus (**Tableau 2**), les bactéries (**Tableau 3**), les champignons (**Tableau 4**), et de nombreux ravageurs tels que les insectes, les acariens... etc. Les maladies causées par les champignons phytopathogènes sont les plus fréquentes sur la culture de la tomate. L'infection fongique est fréquemment causée par des spores qui ont germé puis pénétré dans les tissus de la plante à

travers les stomates, des blessures ou à travers la peau de la plante. Les filaments mycéliens se développent dans les tissus en tirant les éléments nutritifs et libérant les substances toxiques, ceci signifie qu'ils se nourrissent et se multiplient aux dépens de la substance de leur hôte. Les effets nocifs des champignons phytopathogènes se limitent à la zone contaminée mais il existe des champignons qui peuvent envahir les tissus vasculaires des plantes et peuvent se propager à partir de là, dans toute la plante, c'est le cas de certaines formes spéciales de *Fusarium oxysporum* tel que l'agent responsable de la fusariose de la tomate (**Abidat et Djabil , 2018**).




Tableau 2 : les principales maladies virales de la tomate (Snoussi, 2010).




| Maladie | Symptômes |
|--|---|
| Virus de la mosaïque du tabac (TMV) | Transmis par la semence et par voie mécanique donnant des plages vert clair et vert foncé sur feuilles jeunes. |
| Pepino mosaic virus (PEPMV) ou (TMV) | Donne des décolorations de feuilles et une stérilisation des inflorescences, également transmis par les semences et par voie mécanique. |
| Virus Y de la pomme de terre (PYN) | Donne des nécroses sur feuilles avec dessèchement. |
| Tomato chlorosis virus et Tomato infectious chlorosis crini virus (TICV), Tomato spotted wilt virus ou maladie bronzée .Tomato yellow leaf –cruf (TYLCV) | virus provoquant la crispation et le jaunissement sur feuilles |
| Stolbur | Maladie à mycoplasmes, elle a des caractéristiques similaires aux symptômes de chloroses, prolifération des rameaux, réduction du feuillage, et transmission par les insectes (cicadelles). |

Tableau 3 : les principales maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).

| Maladie | Agent phytopathogène | Symptômes |
|-------------------------|--|---|
| Chancre bactérien | <i>Clavibacter michiganensis</i> | Flétrissement unilatéral sur feuille, suivi d'un dessèchement total des coupes longitudinales sur tige et pétioles. Sur fruits, se forment des taches blanchâtres. |
| Moucheture de la tomate | <i>Pseudomonas syringae</i> <i>pv .tomato.</i> | Apparition des taches noires de contour irrégulier entourées d'un halo jaune sur les feuilles. les folioles se dessèchent et tombent. |
| Gale bactérienne | <i>Xanthomonas compestris</i> <i>pv.vesicatoria</i> | De nombreuses taches entraînent le dessèchement de folioles et la chute des feuilles, Sur fruit, de petits chancres pustuleux apparaissent et prennent un aspect liégeux. |
| | <i>Pseudomonas solanacearum</i> | Flétrissement de type <i>Verticillium</i> ou <i>Fusarium</i> mais suivi de la mort très rapide de la plante. |

Tableau 4 : les principales maladies fongiques de la tomate (Causse *et al.*, 2000 ; Naika *et al.*, 2005).

| Maladie | Agent phytopathogène | Symptômes |
|---------------|--------------------------------|---|
| Anthracnose | <i>Colletotrichum coccodes</i> | <p>Tâches plus ou moins circulaires de 1 cm avec un centre noirâtre sur les fruits mûrs.</p>  |
| Mildiou | <i>Phytophthora infestans</i> | <p>Légères tâches foncées avec un point jaune dans leur centre, sont visibles sur les feuilles ayant parfois un développement centrifuge et centripète. Sur la face inférieure des feuilles les tâches sont blanches. Les fruits se couvrent de taches brunes et les feuilles flétrissent.</p>  |
| Verticilliose | <i>Verticillium albo-atrum</i> | <p>Jaunissement des feuilles de bas en haut en forme de V suivi d'un flétrissement avec un léger brunissement des vaisseaux.</p>  |

| | | |
|-------------------------------------|--|--|
| Alternariose | <i>Alternaria solani</i> | <p>Tâches rondes et brunes avec des cercles concentriques sur les feuilles avec un diamètre d'environ 1,5 cm. Des gosses peuvent apparaître sur les tiges et les feuilles, Les fleurs et les jeunes fruits tombent.</p>  |
| Flétrissure fusarienne | <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (Fol) | <p>Jaunissement des feuilles de bas en haut, apparition de racines avortées au bas de la tige, Tissus ligneux brun rougeâtre</p>  |
| Pourriture des racines et du collet | <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersiei</i> (Forl) | <p>Brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet, Flétrissement juste avant la cueillette. Les feuilles hautes fanent avant les feuilles basses avec une décoloration jaune ou dorée. Les fruits n'ont pas leur brillance normale.</p>  |

2 L'agent pathogène (*Fusarium oxysporum*)

2.1 Le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium*, décrit pour la première fois par Linke en 1809, il appartient à la famille des Tuberculariacées (Gams et Nirenberg, 1989). Le genre *Fusarium* est bien connu pour son rôle important en phytopathologie. Ce dernier regroupe un grand nombre d'espèces (Messiaen *et al.*, 1968). L'espèce *Fusarium oxysporum* se caractérise par une large gamme de plantes hôtes et la plupart des souches pathogènes envahissent le système vasculaire de ces plantes et présentent une spécificité parasitaire, c'est-à-dire que l'espèce ne peut attaquer qu'un hôte déterminé (Ozenda, 1990).

2.2 L'espèce *Fusarium oxysporum*

Le *Fusarium oxysporum* peut représenter jusqu'à 70% des isolements de *Fusarium* à partir du sol (Messiaen *et al.*, 1991). C'est une espèce saprophyte qui a un rôle très important en pathologie végétal, elle est responsable de dégâts importants sur de nombreuses cultures, telles que les cultures florales (œillet, cyclamen), maraîchères sous serres (tomate, melon, concombre), les palmeraies, bananeraies, et les cultures de coton et de lin (Nelson *et al.*, 1981). L'infection provoque des symptômes de pourriture racinaire et des maladies qui affectent le système vasculaire des plantes.

Deux formes spéciales différentes de *F.oxysporum* sont inféodées à la tomate : *F.oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) qui provoque des trachéomycoses et *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* (Forl) (Laterrot *et al.*, 1988). L'infection entraîne un jaunissement des feuilles d'abord unilatéral puis généralisé, et aboutit au flétrissement, au dessèchement et enfin à la mort de la plante. (Gindrat, 1975).

2.3 Position systématique

Depuis la description du genre *Fusarium* par Link en 1809, de nombreux travaux ont été consacrés à la taxonomie de ce champignon. La plupart des systèmes taxonomiques proposés ultérieurement ont maintenu *F.oxysporum* comme espèce unique dans la section Elegans. Bouhot, 1981 classe *Fusarium* comme suit :

Embranchement : thallophyte

Classe : Deutéromycète

Famille: Tuberculariacée

Genre : *Fusarium*

Espèce : *Fusarium oxysporum*

2.4 Identification de *Fusarium oxysporum*

Comme pour tous les champignons, la classification des *Fusarium* est basée sur des critères culturels et morphologiques par une observation microscopique : la forme et la taille des macroconidies, la présence ou l'absence de microconidies et de chlamydospores ainsi que leur forme, et la structure des conidiospores (**Smahi, 2007**),

En culture, les colonies des isolats de *Fusarium* présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes souvent avec une teinte pourpre, et sont clairsemés à abondants. Les champignons du genre *Fusarium* présentent un mycélium septé et incolore (**Booth, 1985**). Le caractère commun aux *Fusarium* est la production de macroconidies pluricellulaires en forme de croissant et autre type des spores asexuées ; des microconidies unicellulaires ou bicellulaires de formes variées, ainsi que des chlamydospore, qui sont des forme de résistance.

2.4.1 Les microconidies

F. oxysporum est caractérisé par la présence abondante de microconidies (**Tivoli, 1988**). fusiformes à réniformes, présentant 0 à 2 septa, agglomérés en fausses Têtes produites par de petits phialides (5-12 x 2,2-3,5µm). Les observations microscopiques montrent qu'une population de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* est constituée de plusieurs propagules dont les microconidies à elles seules constituent plus de 90% de cette population (**Tello-marquina et Alabouvette, 1984**).

2.4.2 Les macroconidies

Légèrement arquées, présentant 3 à 4 septa, la cellule basale pédicellée, la cellule apicale en crochet, produite par des phialides sur des conidiophores ramifiés ou en sporodochie (27-46 x 3-4,5 μm) (Messiaen et Cassini, 1968). Les chlamydo-spores : hyalines, lisses ou rugueuses, globuleuses, terminales ou intercalaires (5-15 μm de diamètre) (Komi, 1993).

2.4.3 Les chlamydo-spores

Sont des formes de conservation, résultant de l'accumulation de réserves dans une région (article du mycélium ou conidie) qui se dilate quelque peu et s'entoure finalement d'une membrane épaisse de teinte généralement foncée, (Figure 1). (Dommergues *et al.*, 1970).

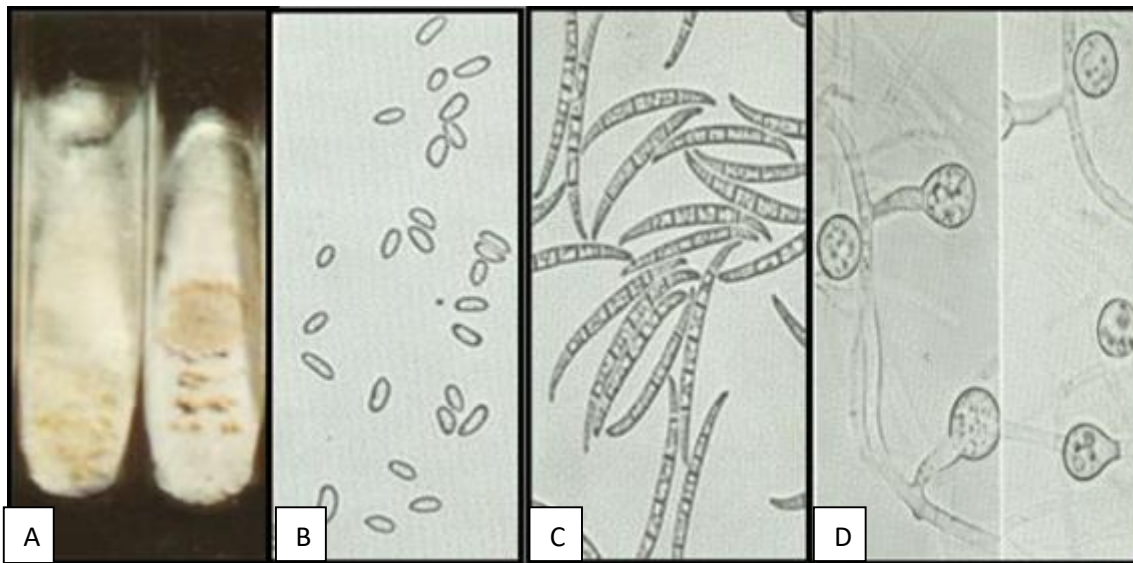
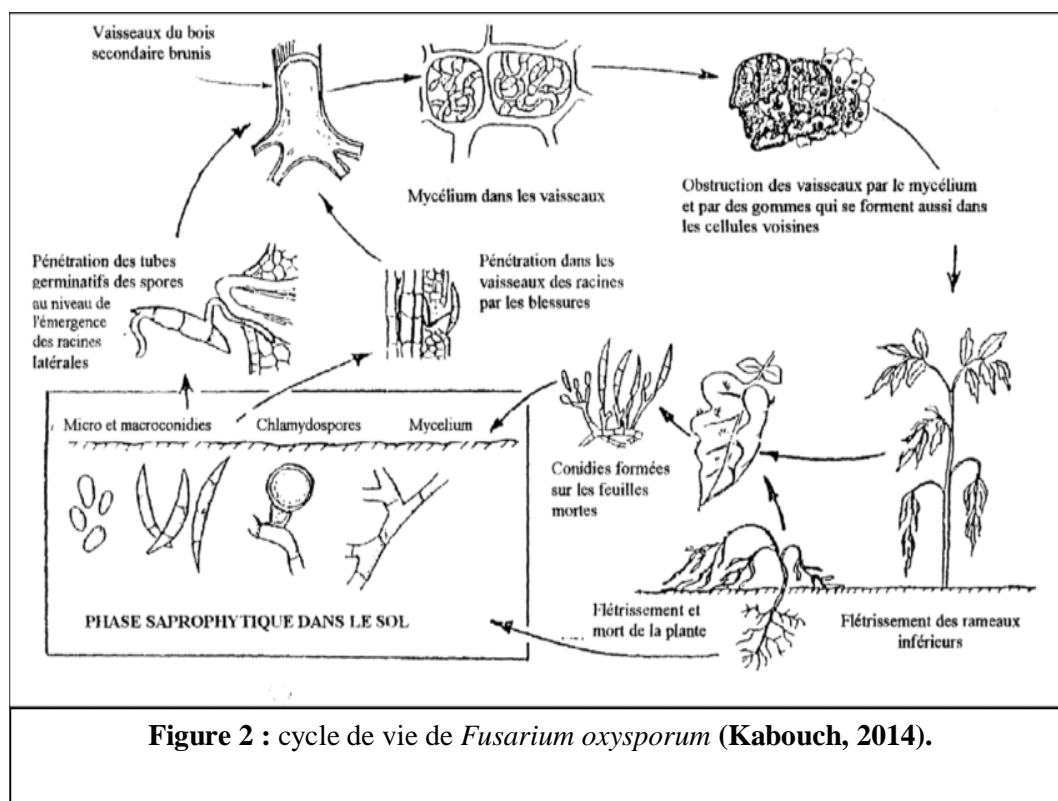


Figure 1: (A) mycélium de *Fusarium oxysporum* ;(B), microconidies ;(C), macroconidies ;(D) chlamydo-spores (Tousount et Nelson., 1976).

2.5 Cycle de vie de *Fusarium oxysporum*

Les *F. oxysporum* ne sont pas des parasites obligatoires. En absence de la plante hôte, ils mènent une vie de saprophyte sur des débris végétaux et des matières organiques. Les *Fusarium* sont très abondants dans le sol, les isollements effectués indiquent qu'un gramme de sol renferme près de 100.00 propagules (Smith, 1965). Ces champignons persistent dans le sol principalement sous forme de spores de résistance qu'on appelle des chlamydo-spores où ils passent dans un état de dormance. (Booth, 1971). En contact de l'hôte avec des conditions favorables, les chlamydo-spores germent et les jeunes filaments pénètrent au niveau des racines. Ensuite, le mycélium se ramifie, colonisant ainsi toutes les cellules avoisinantes. Les hyphes mycéliens progressent intracellulairement puis colonisent le cortex. Arrivé au niveau du cylindre central, le parasite s'installe dans les vaisseaux du xylème d'où il se propagera dans la tige par l'intermédiaire des microconidies aisément véhiculées par la sève. A l'extérieur, ils se forment des organes fructifères à la surface des feuilles appelés sporodochies où se développent les macroconidies qui à leur tour contaminent d'autres plantes lorsqu'elles seront transportées par le vent, l'érosion ou bien par les insectes, (Figure 2). (El mahdjoub, 1972).



2.6 La fusariose de la tomate

La fusariose est une maladie cryptogamique causée par un champignon du genre *Fusarium*. Chez la tomate, cette maladie existe sous deux formes différentes soit la flétrissure fusarienne (fusarium wilt) causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* abrégée *Fol* et la pourriture de la racine et du collet (fusarium crown and root rot) causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* abrégée *Forl*. Les symptômes de *Fol* se manifestent en une décoloration de la tige commençant par un léger jaunissement longitudinal sur une portion de celle-ci et évoluant en une bande jaune plus marquée puis en une nécrose beige à marron clair. Les vaisseaux à l'intérieur de la tige brunissent. Il cause également un jaunissement du rachis, d'une foliole et éventuellement de la feuille entière, (**Figure 3**). (**Arino et al., 2007**). Les symptômes de *Forl* se manifestent par un brunissement des racines, de leur cylindre central et des vaisseaux situés au niveau du pivot et du collet. On reconnaît aussi la maladie par l'apparition d'un chancre brun, légèrement déprimé se développant sur un seul côté du collet et de la tige, en forme de flamme (**Adejumo et al., 2007**). Le système racinaire devient brun et pourri, les vaisseaux, les tissus corticaux et le collet brunissent. On peut remarquer également un flétrissement juste avant que les premiers fruits soient prêts à cueillir. Les feuilles hautes fanent avant les feuilles basses, avec une décoloration jaune ou doré (**Fandohan et al., 2005**).



Figure 4: symptômes de *Fusarium oxysporum* (*Fol*) sur feuilles et tiges de tomate (**Spiga, 2015**).

2.7 Les moyens de lutte contre la fusariose

Les méthodes de lutte appliquées pour le contrôle des fusarioses sont généralement limitées, comme c'est le cas pour l'ensemble des maladies parasitaires vasculaires. Il n'existe aucun moyen réellement efficace pour contrôler totalement ces maladies. Les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif (**Djabil, 2017**).

2.7.1 La lutte culturale

Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent le développement de la maladie tel que : un sol léger et acide, un manque d'azote et de calcium, des températures élevées (l'optimum pour le développement du *Fol* est de 28C°)et un manque de lumière en intensité et en temps. Les chercheurs Taïwanais Sun et Huang, 1985, ont mis au point un amendement organique et minéral qui permet de contrôler efficacement diverses espèces de *Fusarium*. Leur mélange- le mélange S-H – contient: 4,4% de bagasse (résidus de canne à sucre); 8,4% de son de riz; 4,25% de coquilles d'huîtres; 8,25% d'urée; 1,04% de nitrate de potassium; 13,16% de superphosphate de calcium; 60,5% de cendres minérales constituées de 31% de dioxyde de silice, 4,4% d'oxyde de calcium, 1,7% d'oxyde de magnésium, 18% d'oxyde d'aluminium et 1% d'oxyde ferreux. (**Smahi ,2008**).

2.7.2 La lutte chimique

Elle se fait par une désinfection du sol à l'aide de fongicides, le plus utilisé est le triazole et ces dérivés qui sont très actif grâce à leur noyau qui possède une activité pharmacologique antibactérienne, antifongique et hypoglycémique (**Hamoir et al., 2001**). Cependant, l'utilisation non raisonnée des fongicides peut nuire aux micro-organismes participants au maintien de l'équilibre de l'écosystème et autres inconvénients comme la pollution de l'atmosphère, de l'eau du sol et l'intoxication des consommateurs des plantes traitées.

2.7.3 La lutte physique

Anchisi *et al.*, En 1985 ont développé un traitement à l'eau chaude pour protéger les plantes dans un sol où l'on sait que l'agent causale de la maladie est présent. La méthode consiste à traiter les racines avec de l'eau chaude à 48-49 C° pendant 30 secondes avant de transplanter ou à moins de 48 heures après la transplantation. Cela stimule la croissance des racines. Par contre, la stérilisation ou la solarisation ne sont pas des solutions efficaces à long terme (Corbaz, 1990).

2.7.4 Lutte agronomique

Elle est considérée comme la plus pratique, elle consiste à stopper la culture de la plante qui héberge le *Fusarium* et le *Botrytis cinerea* pendant plusieurs années. (Smahi, 2008).

2.7.5 La lutte biologique

La lutte biologique est un ensemble de procédés exploitant la relation de concurrence ou d'antagonisme existant entre des organismes vivants y compris les champignons, en vue de minimiser ou de limiter les dommages ainsi que l'abondance des agents phytopathogènes sans nécessairement les détruire par la suite. (Alabouvette *et al.*, 1986).

Plusieurs chercheurs se sont intéressés aux microorganismes tel que les bactéries et les champignons dans l'espoir de mettre au point un procédé de lutte efficace capable de limiter la gravité des fusarioses (Alabouvette *et al.*, 1986).

De nombreux travaux se sont intéressés à l'étude des agents de lutte biologique pour surmonter les problèmes de résistance associés aux fongicides. Un grand nombre de bactéries et de champignons antagonistes ont ainsi été mis en évidence mais, les résultats les plus confirmés ont été obtenus avec des isolats de *Trichoderma* spp .Un certain nombre de micro-organismes expérimentés avec succès en lutte biologique contre le *Fol* et le *Forl* tels que : *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Fusarium oxysporum* (isolats non pathogènes), *Trichoderma harzianum* , *Aspergillus ochraceus* et *Penicillium funiculosum*, ont réduit les symptômes de manière significative. Ces microorganismes ont également induit une réduction de l'incidence

de la maladie qui varie entre 53% et 78% ; parfois supérieurs aux fongicides conventionnels et ont contribué de ce fait, a augmenté les rendements (**Caron et al., 2002**).

3 L'agent antagoniste *Trichoderma* spp.

3.1 Le genre *Trichoderma*

Le terme « *Trichoderma* » a été introduit en mycologie en 1794 par Persoon cependant, la taxonomie et l'identification de ses espèces ont demeuré incertains jusqu'à ces dernières années. 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 plantes. On le reconnaît facilement en culture grâce à la couleur généralement verdâtre de ses spores et le port typique de ses phialides. Le genre *Trichoderma* est caractérisé par une vitesse de croissance rapide et une sporulation abondante sur milieu de culture (**Gams et al., 1998**), le *Trichoderma* a été extrêmement étudié parce qu'il a un large spectre d'activité contre les pathogènes telluriques (**Harman, 2006**). En milieu terrestre, la production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* spp. des agents potentiels en milieux terrestres et une matière de choix pour l'exploitation Industrielle (**Prieto et al., 1997**).

3.2 Position systématique

Selon **Bissett (2004)** la position taxonomique des *Trichoderma* spp. est comme suit :

Embranchement : Amastigomycètes

Sous embranchement : Ascomycètes

Classe : Sordariomycètes

Ordre : Hypocréales

Famille : Hypocréaceae

Genre : *Trichoderma*

3.3 Morphologie de *Trichoderma* spp.

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* spp. est apprécié à partir de cultures sur gélose nutritive appropriée, répartie en boîtes de Pétri, les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des conidies après la 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, (**Figure 5**). (**Boutoumou et Boumaza, 2016**).

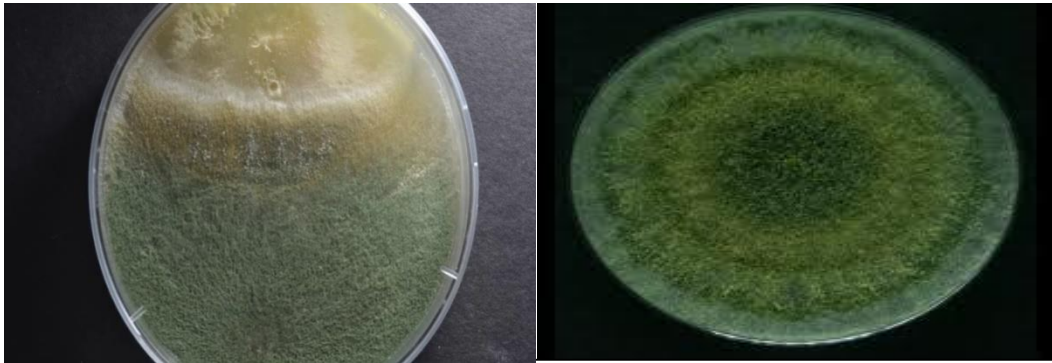


Figure 6: aspect macroscopique de *Trichoderma* sp. (**Anonyme 1, 2014**).

Sous microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septées, ramifiées à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale, très ramifiés et portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores, (**Figure 7**). (**Kubicek et al., 2003**).

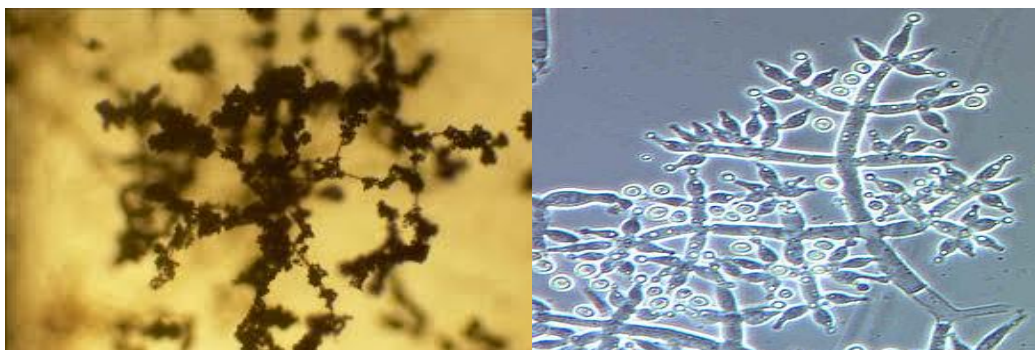


Figure 8: aspect microscopique de *Trichoderma* sp. (**Anonyme 2, 2014**).

3.4 L'habitat de *Trichoderma* spp.

Les *Trichoderma* spp. sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont par conséquent, l'élément majeur dans la microflore terrestre et marine (**Kubicek et al., 2003**). Les espèces de *Trichoderma* sont des mycètes présents en nombre important dans presque tous les sols agricoles et dans d'autres environnements tels que le bois pourrissant (**Samuels et al., 2006**). Les isolats du genre *Trichoderma* retrouvés dans des habitats très variés du grand nord aux zones tropicales. Retrouvés sur bois pourri, blé, avoine, orge, arachide, tomates, patates douces et citrus en stockage. La présence des *Trichoderma* sp. en milieu terrestre (6% du nombre total des espèces fongiques) semble comparable à celle en milieu marin (6,4% à 10,4%) (**Landreau, 2001**).

3.5 Cycle biologique

24h après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénese, d'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite et un feutrage épais se superpose à la culture, (**Figure 9**). (**Corbaz, 1990**).

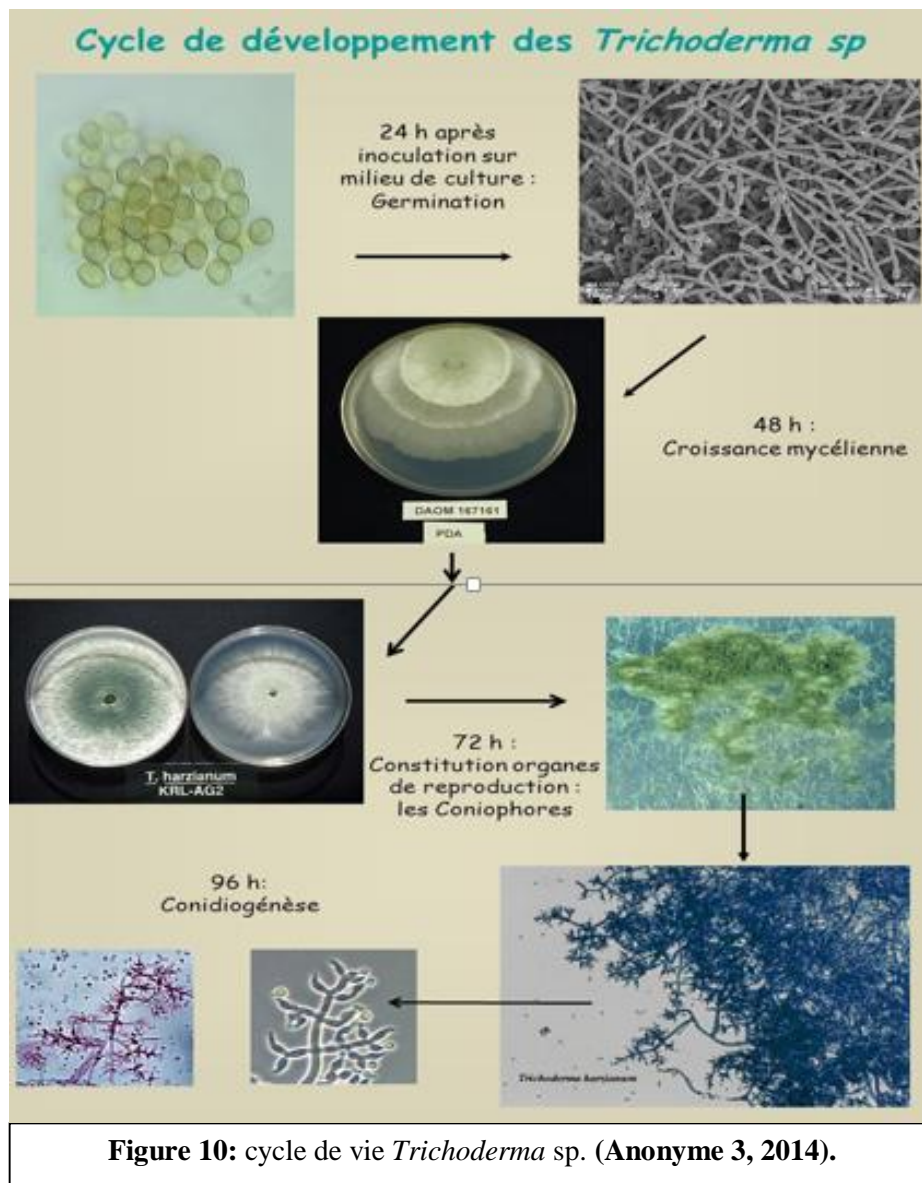


Figure 10: cycle de vie *Trichoderma* sp. (Anonyme 3, 2014).

3.6 Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* spp.

Les propriétés antagonistes des souches de *Trichoderma* sont connues depuis 1887 grâce à une publication scientifique qui en fait mentionner. (**Abdiche et Khireddine, 2016**). Ce qui rend les souches de *Trichoderma* très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes, non seulement le degré élevé d'adaptation écologique ; qui se reflète par leur présence dans le sol partout dans le monde dans des conditions environnementales différentes et leur capacité à se développer sur des substrats peu coûteux ; mais aussi leur capacité à produire de multiples enzymes en particulier des enzymes lytiques comme les chitinases et les β -1,3-glucanases qui hydrolysent la paroi cellulaire fongique, des antibiotiques et des hormones qui sont utiles pour la croissance des plantes et leur confèrent une protection contre les pathogènes (**Benitez et al., 2004**). Donc la présence de *Trichoderma* spp. dans le sol joue à la fois un rôle curatif et préventif (**Harman et al., 2004**).

La production de ces protéines et enzymes stimule la production de substances messagères qui sont responsables de la transmission des signaux pendant une attaque pathogène et déclenchent des réactions de défense chez la plante. Cependant, la résistance induite par *Trichoderma* spp. augmente l'expression des gènes liés à la défense dans toute la plante, au moins à court terme.

Les *Trichoderma* spp. présentent une diversité génétique très élevée et peuvent être utilisés pour produire des substances à intérêt écologique et commercial marqué comme biopesticides tels que les biofertilisants et les biofongicides. Malgré les succès commerciaux de ces derniers, des limitations majeures subsistent par rapport à leur efficacité étroite et leur incohérence avec les conditions naturelles sur le terrain. De ce fait, des souches de *Trichoderma* avec des capacités antagonistes potentielles élevées sont nécessaires pour des programmes de lutte biologique plus efficaces (**Debbi, 2019**).

3.7 Mode d'action de *Trichoderma* spp. en lutte biologique

Le *Trichoderma* possède une activité antagoniste selon différents mécanismes d'action potentiellement utilisables mais qui restent toutefois complexes et varient selon les agents pathogènes en présence et des conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...). Il peut également employer un ou plusieurs modes d'action en même temps. Pour maîtriser un agent pathogène, il peut utiliser :

- **L'antibiose** : qui résulte de la production de substances de différentes natures (des enzymes lytiques, des peptides ou protéines à activité antimicrobiennes, des polyketides, des composés phénoliques, des bio surfactants etc...) qui agissent comme des « antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène (**Fernando et al., 2006**).
- **La compétition** : elle se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu disponibles en quantité limitée (aires d'alimentation, sites de développement), que les agents phytopathogènes. Dans ces conditions limitées, la production de composés inhibiteurs est capable d'arrêter ou de ralentir leur croissance et confère au microbe producteur un avantage écologique concurrent (**Marzano et al., 2013**).
- **Le mycoparasitisme** : ce mécanisme est considéré comme un mécanisme majeur de lutte biologique qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque le *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui injectant des substances (comme les enzymes lytiques) qui détruisent sa paroi cellulaire (**Jogaiah et al., 2018**).
- **L'induction de la résistance de l'hôte** : le traitement des semences avec les spores ou les métabolites secondaires de *Trichoderma* peut induire l'augmentation de l'expression des gènes liés à la défense dans toute la plante tout en agissant comme stimulateur de l'immunité (**Jogaiah et al., 2018**).

II. MATERIEL ET METHODES

1 Matériel

1.1 Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué d'un isolat phytopathogène de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et de trois isolats de *Trichoderma* sp. dénommés S'SM ; TanTb (a) ; TanTb (B). Les différents isolats fongiques sont obtenus de la collection du laboratoire de mycologie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine (C.R.BT).

1.2 Matériel végétale

Les graines de tomate de la variété super Marmande ont été utilisées pour l'essai de lutte biologique *in vivo*.

2 Méthodes

2.1 Isolement et identification des isolats fongiques

2.1.1 Isolement et purification de l'agent phytopathogène

2.1.1.1 L'isolement

L'isolement a été réalisé à partir des fragments de tiges des plantes de tomate présentant des symptômes caractéristiques de flétrissement fusarien. Des petits fragments sont coupés et désinfectés à l'hypochlorite de sodium à 2° pendant 5 minutes puis rincés trois fois avec l'eau distillée stérilisée. Les fragments séchés avec du papier buvard stérilisé sont ensuite mis dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (**Figure 7**) et incubés à 25 ° C à l'obscurité pendant 4 à 7 jours.

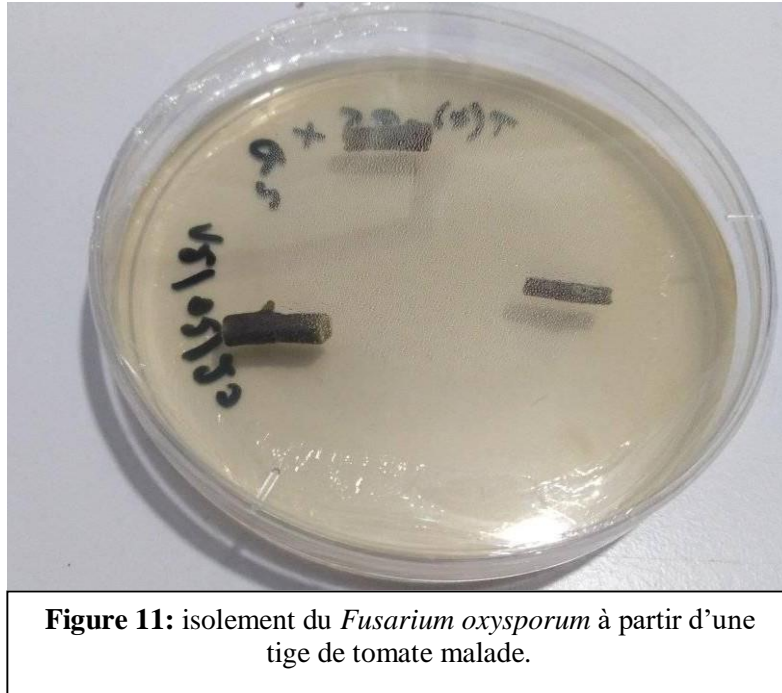


Figure 11: isolement du *Fusarium oxysporum* à partir d'une tige de tomate malade.

2.1.1.2 Purification

Pour obtenir des isolats purs, plusieurs repiquages ont été effectués pour séparer l'agent pathogène (*F. oxysporum*) des autres contaminants, sur le milieu du PDA. Afin d'obtenir un matériel fongique pure on procède à la culture monospore. Cette méthode consiste à préparer une suspension sporale puis, un volume de 0,1 ml de la suspension est déposé et étalé à la surface du milieu PDA. Après 24h d'incubation à 25°C et à l'aide d'une loupe binoculaire, un fragment de mycélium est repéré puis à l'aide d'une aiguille stérile le fragment mycélien est prélevé et ensemencé dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA puis incubé à 25°C pendant 5 jours.

2.1.1.3 Identification

L'identification des isolats obtenus fait essentiellement appel aux caractères morphocultureaux, qui est réalisé par l'observation macroscopique tels que la pigmentation et l'aspect des colonies (poudreuse, duveteuse, cotonneuse) et par l'observation microscopique en tenant compte des caractères suivants : l'aspect du mycélium, la présence ou l'absence de cloisons ainsi que la taille, la morphologie et la coloration des spores.

2.1.2 Isolement et purification de l'agent antagoniste

Trois isolats du genre *Trichoderma* dénommés : S'SM ; TanTb (a) ; TanTb (B), ont fait l'objet de cette étude. Ces isolats appartenant à la collection du laboratoire de mycologie du centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBT) ont été d'abord régénérés puis purifiés par culture monospore tel que décrit ci-dessus.

L'identification morphologique des isolats de *Trichoderma* est réalisée par l'observation macroscopique (aspect des colonies) et par l'observation microscopique (aspect du mycélium et des spores)

2.2 Activité antagoniste de *Trichoderma* spp. vis à vis de *f. sp. lycopersici*

2.2.1 Activité antagoniste *in vitro*

Pour l'étude de l'activité antagoniste *in vitro* les trois isolats de l'agent antagoniste *Trichoderma* (s'sm ,Tantb (B), TantB (a₂)) ont été confrontés à l'égard d'un isolat de *Fol*. Ce test a été réalisé sur milieu PDA en utilisant deux méthodes de confrontation :

2.2.1.1 Confrontation directe

La méthode de confrontation directe consiste à repiquer deux disques fongiques l'un de l'agent pathogène et l'autre comme agent antagoniste dans une même boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les deux disques fongiques sont déposés à 2 cm de distance l'un de l'autre. Le témoin consiste au repiquage d'un disque fongique de l'agent phytopathogène et un disque de gélose stérile dans une boîte contenant le milieu PDA et l'incubation se fait à l'obscurité à 25 ° C pendant 6 jours (**Figure 8**).

Après incubation les mesures de la croissance mycélienne des colonies de l'agent phytopathogène sont réalisées en mesurant le diamètre de la colonie exprimé en mm.

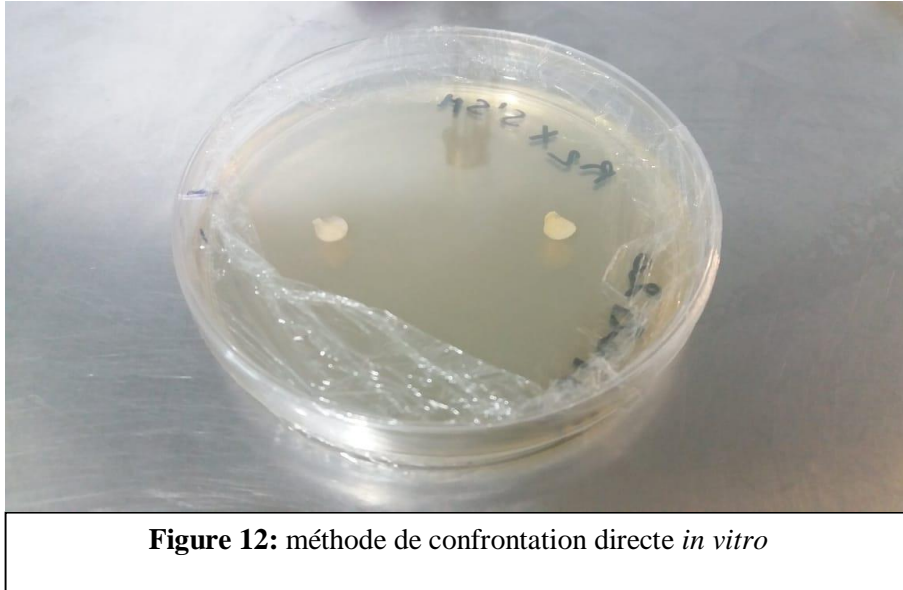


Figure 12: méthode de confrontation directe *in vitro*

2.2.1.2 Activité antifongique sur membranes de cellophane

Cette méthode consiste à repiquer l'agent pathogène sur une membrane de Cellophane stérile. Cette dernière est déposée aseptiquement à l'aide de deux pinces stérilisées dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Ensuite, un disque fongique est prélevé de la périphérie d'une culture jeune de *Trichoderma* est déposé au centre de la boîte. Après 48 h d'incubation à 28°C à l'obscurité, la membrane de Cellophane et la colonie de *Trichoderma* sont enlevés soigneusement. Ensuite, un disque fongique de l'agent pathogène est placé sur le milieu de culture dans la même position précédemment occupée par l'agent antagoniste. Pour le témoin, le disque fongique de *Trichoderma* a été remplacé par un disque de milieu PDA. Quatre répétitions sont effectuées pour chaque combinaison isolat antagoniste/isolat phytopathogène et également pour le témoin. Les diamètres des colonies de l'agent phytopathogène sont mesurés après 6 jours d'incubation à 28°C à l'obscurité.

2.2.1.3 Activité antifongique sur membranes de cellulose

Ce test est réalisé de la même façon du test précédent en utilisant un autre type de membrane pour des fins comparatives. La membrane en question est en cellulose (membrane de dialyse) de 14 kDa.

L'analyse des résultats des deux tests se fait par l'évaluation de l'activité antifongique en calculant le taux d'inhibition I de l'agent pathogène selon la formule : $I = (C - T / C) \times 100$.

I = taux d'inhibition en % ; C = croissance radiale de l'agent phytopathogène seul en mm (témoin) ; T = la croissance radiale en mm, de l'agent phytopathogène en présence de l'isolat de *Trichoderma* (Hmouni *et al.*, 1996).

2.2.2 Activité antagoniste *in vivo*

Cette étude consiste à évaluer la capacité des trois isolats de *Trichoderma* (s'sm ,Tantb (B) ,TantB (a2)) à contrôler la fusariose de la tomate causée par *F.oxysporum* f. sp *lycopersici* (Fol). Des suspensions sporales contenant 2×10^7 conidies/ml des trois isolats de *Trichoderma* étudiés ont été préparées pour traiter les graines de tomate. Ces dernières ont été préalablement désinfectées en surface à l'hypochlorite de sodium pendant 10 min puis rincées trois fois avec l'eau distillée stérile. Chaque 45 graines sont traitées par 1.5 ml de la suspension sporale d'un isolat de *Trichoderma* et 45 graines sont traitées avec l'eau distillée stérilisée sont utilisées comme un témoin. Les graines sont ensuite déposées dans une boîte de Pétri inclinée et laissées à dessécher durant toute la nuit sous hotte à flux laminaire.

Les graines de tomate traitées par les spores des trois isolats de *Trichoderma* sont semées dans des pots perforés contenant un substrat de culture commercialisé et maintenus sous serre dans des conditions contrôlées de 16 h de lumière et de 8 h d'obscurité et une température moyenne d'environ 25°C. 14 jours après le semis, les plants de tomate sont inoculés par une suspension sporale à raison de 2×10^7 spore/ml, de l'isolats de *F.oxysporum* f. sp *lycopersici* en coupant les racines à 2cm au-dessous du collet et les laissant absorber l'inoculum pendant 30 min.

Les plants inoculés sont ensuite transplantés dans des pots de 0,7 L contenant le substrat de culture. Ainsi, 8 répétitions sont réalisées pour chaque combinaison isolat *Trichoderma* / isolat *F.oxysporum* f. sp *lycopersici* à raison de un plant par pot. L'essai a été réalisé avec un témoin positif, inoculé avec l'agent phytopathogène et non traité avec le *Trichoderma* et un témoin négatif, non inoculé avec l'agent phytopathogène et non traité avec les trois isolats de *Trichoderma*.

La notation des symptômes a été effectuée trois semaines après l'inoculation de *F.oxysporum* f. sp *lycopersici* à fin d'évaluer la sévérité des symptômes selon une échelle de notation à 5 degrés (0-4) tel que : 0 signifie un plant sain ; les indices 1, 2 et 3 correspondent aux degrés d'attaque légers, modérés et sévères respectivement, le degré d'attaque 4 correspond aux plants morts (**Hibar et al., 2007**).

L'incidence de la maladie (IM) en pourcentage et la réduction de l'IM (RIM) due au traitement par *Trichoderma* sont déterminées selon les 2 formules :

$$\text{Incidence de la maladie (IM) (\%)} = \frac{(\sum \text{degré d'attaque} \times \text{nombre de plants infectés})}{(\text{degré d'attaque maximal} \times \text{nombre total de plants})} \times 100$$

Pourcentage de réduction de l'incidence de la maladie due au traitement (RIM) (%) =

$$\frac{(\text{incidence de la maladie du témoin} - \text{incidence de la maladie due au traitement})}{(\text{incidence de la maladie du témoin})} \times 100$$

(**Song et al., 2004**).

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion

1 Résultats

1.1 Caractérisation des isolats fongiques utilisés dans cette étude

1.1.1 Identification morphologique des isolats de *Fusarium oxysporum*

Les observations macroscopiques et microscopiques des cultures obtenues après l'isolement de l'agent pathogène à partir des tiges de plants de tomate présentant des symptômes de jaunissement et/ ou de flétrissement suivi d'une purification par culture monospore montrent que ces isolats présentent des caractères morphologiques macroscopiques et microscopique qui correspondent aux caractères morphologiques de l'espèce *F. oxysporum*.

L'étude macroscopique des isolats purifiés a permis d'observer un seul morphotype à savoir le morphotype cotonneux avec une variabilité de la couleur entre le blanc et le violet (**Figure 09**).

l'observation microscopique (**Figure 10**) a montré un mycélium septé, la présence de microconidies monocellulaires de forme ovale, elliptique ou réniforme isolées ou agglomérées en fausses têtes, des macroconidies de taille variable avec 3 à 4 cloisons, des chlamydospores produites de manière individuelle ou en paire, mais aussi peuvent être formées en grappes ou en chaînes courtes, peuvent être en position intercalaires ou terminales.

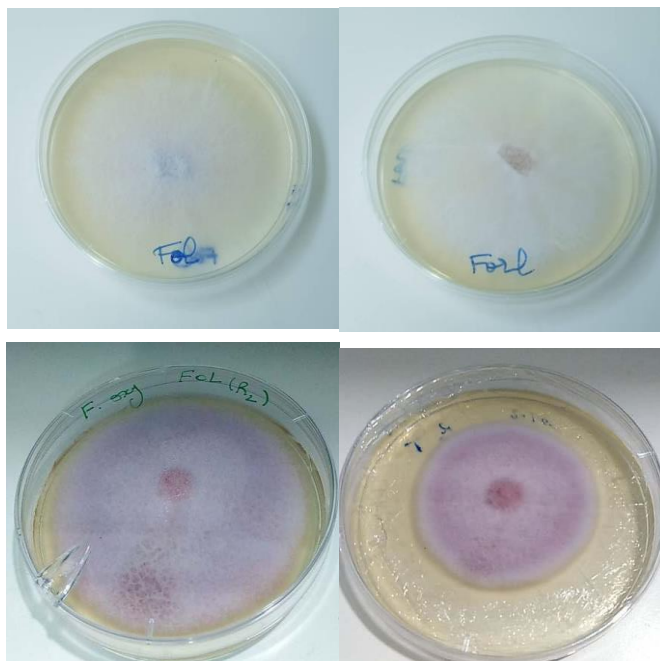


Figure 13: aspect macroscopique de deux isolats phyto pathogènes de *F. oxysporum* (*Fol* et *Forl*)

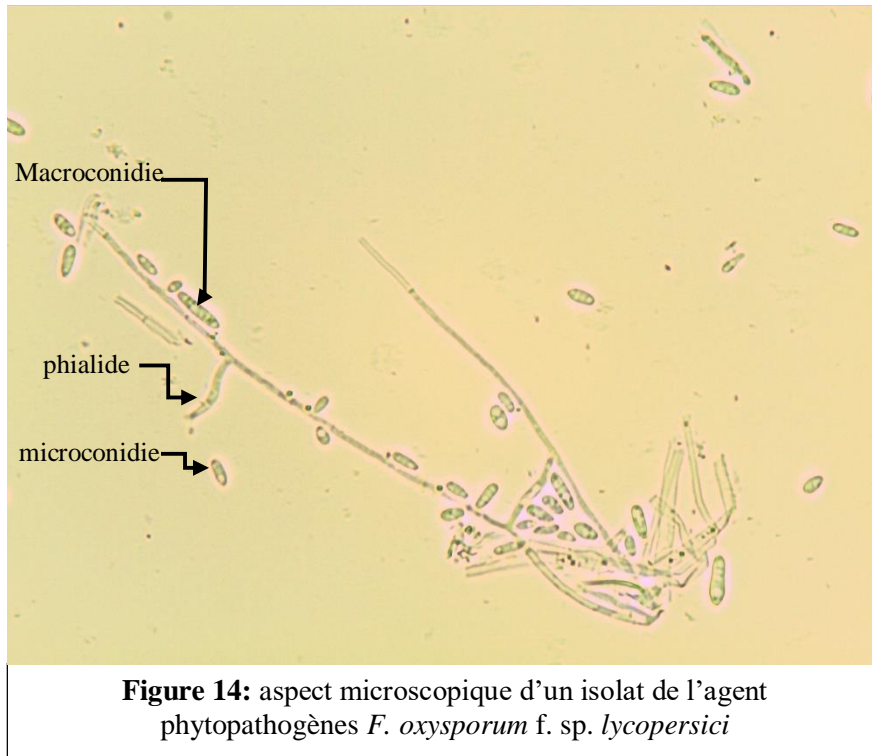


Figure 14: aspect microscopique d'un isolat de l'agent phytopathogène *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

1.1.2 Identification morphologique des isolats de *Trichoderma* spp.

Les observations macroscopiques et microscopiques des cultures obtenues se font après rajouissance suivi d'une purification et une culture monospore.

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* sp. est apprécié à partir de cultures sur milieu PDA. Les colonies fongiques sont floconneuses ou bien compactées en touffes colorées (il existe des aspects intermédiaires). Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc en forme de cercle. Dans le 2^{ème} jour de l'incubation, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium (**Figure 11**).

Sur le plan microscopique (**Figure 12**), le mycélium est composé d'hyphes septés, ramifiés, à parois lisses. Les conidiophores sont en forme conique ou pyramidale, ils sont ramifiés et portent des phialides en forme de flasque ou de quilles. A leurs tour, les phialides portent des spores (phialospores ou bien conidies).

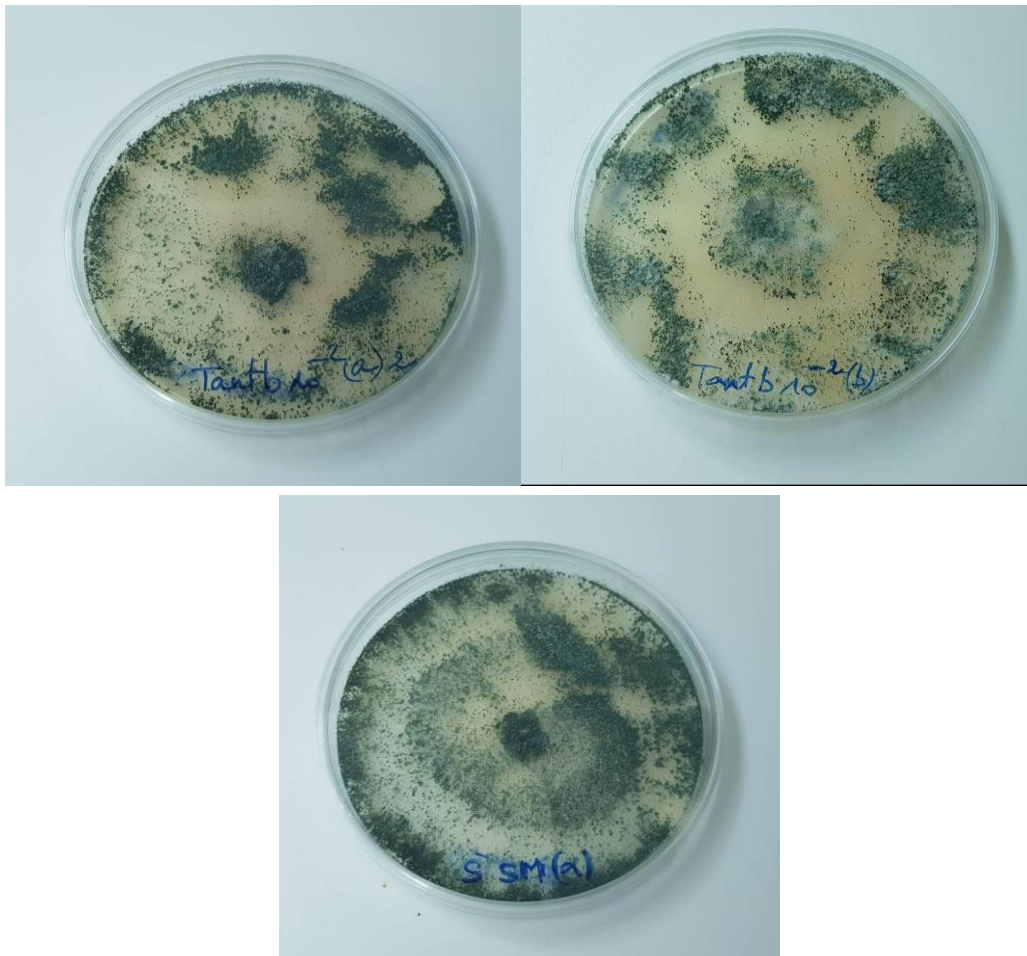


Figure 15: aspect macroscopique des différents isolats de l'agent antagoniste *Trichoderma* sp.

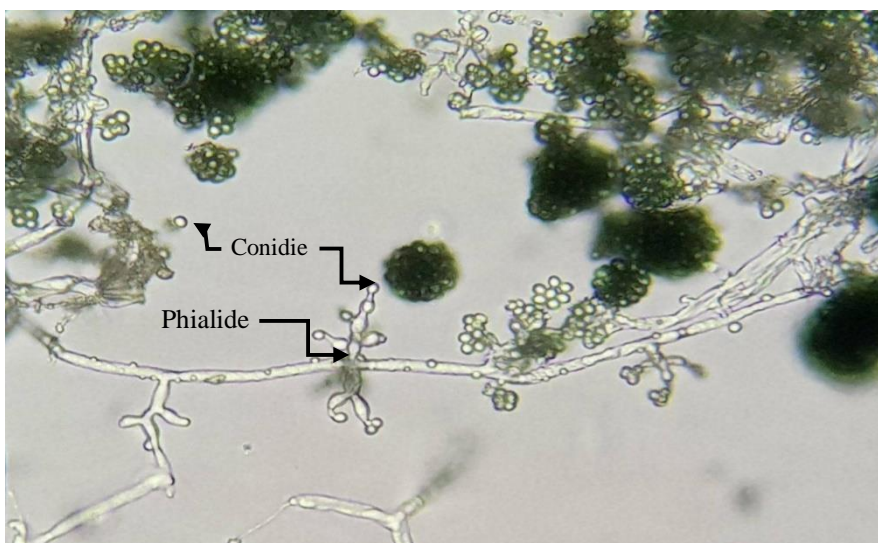


Figure 16: aspect microscopique de l'agent antagoniste *Trichoderma* sp.

1.2 Etude de l'activité antifongique des isolats de *Trichoderma* spp. *in vitro*

1.2.1 Test de confrontation directe

Ce test a été effectué sur milieu PDA, avec trois isolats de *Trichoderma* (S'sm, Tantb (B), Tantb (a₂)) à l'égard d'un isolat de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Les résultats obtenus ont montré que les isolats antagonistes se développent plus rapidement que les isolats de l'agent pathogène. Par conséquent, l'ensemble des isolats de *Trichoderma* ont inhibé le développement du mycélium de l'agent pathogène en entourant ses colonies et laissant une zone d'inhibition mince entre les deux colonies, ceci est probablement dû à la sécrétion des mycotoxines qui provoquent un ralentissement significatif de la croissance mycélienne des isolats de *Fusarium oxysporum* (**Figure 13**).

L'activité antagoniste des trois isolats de *Trichoderma* a été évaluée par le taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Fo* durant la période de confrontation directe. Les valeurs d'inhibition enregistrées par les isolats de l'agent antagoniste sont très proches. Ainsi, les isolats S'sm et Tantb (a₂) confèrent des taux d'inhibitions identiques de l'ordre de 67.82 % qui est un peu plus élevé par rapport à celui enregistré par l'isolat Tantb (B) (66.67 %).

1.2.2 Activité antifongique sur membranes

Comme dans la confrontation directe, l'activité antagoniste attribuée à l'isolat Tantb- (a₂) est la plus élevée sur les deux membranes. Cet isolat a enregistré un taux d'inhibition de 54.24% sur la membrane de cellulose et 45.76 % sur la membrane de cellophane. En revanche, l'isolat S'sm a enregistré des taux d'inhibition les plus bas sur les deux membranes, 18.64 % sur la membrane de cellulose et 23.73 % sur celle en cellophane. Par ailleurs, l'isolat Tantb (B) a dévoilé une activité antifongique de 19.92 % sur la membrane de cellulose et 40.68 % sur la membrane de cellophane (**Tableau 05**). Cette action est due aux métabolites produits par les isolats de *Trichoderma* qui sont diffusés à travers la membrane de cellophane ou de cellulose dans le milieu PDA (**Figure 14**).

Tableau 5 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* induit par les isolats de *Trichoderma* étudiés, après confrontation directe, sur membrane de cellophane et sur membrane de cellulose.

| Combinaisons Isolats de <i>Trichoderma</i> - Isolat de <i>Fol</i> | Confrontatio n directe (%) | Membrane de Cellulose (%) | Membrane De Cellophane (%) |
|--|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| S'sm- <i>Fol</i> | 67.82 ± 1.99 | 18.64 ± 5.08 | 23.73 ± 0.0 |
| Tantb (a ₂) - <i>Fol</i> | 67.82 ± 5.27 | 54.24 ± 8.70 | 45.76 ± 7.77 |
| Tantb (B) - <i>Fol</i> | 66.67 ± 1.99 | 19.92 ± 4.87 | 40.68 ± 10.58 |

Les valeurs sont des moyennes de trois répétitions avec l'écart-type correspondant, suivant une signification statistique déterminée par ANOVA (P < 0,001), (**annexe 03**)

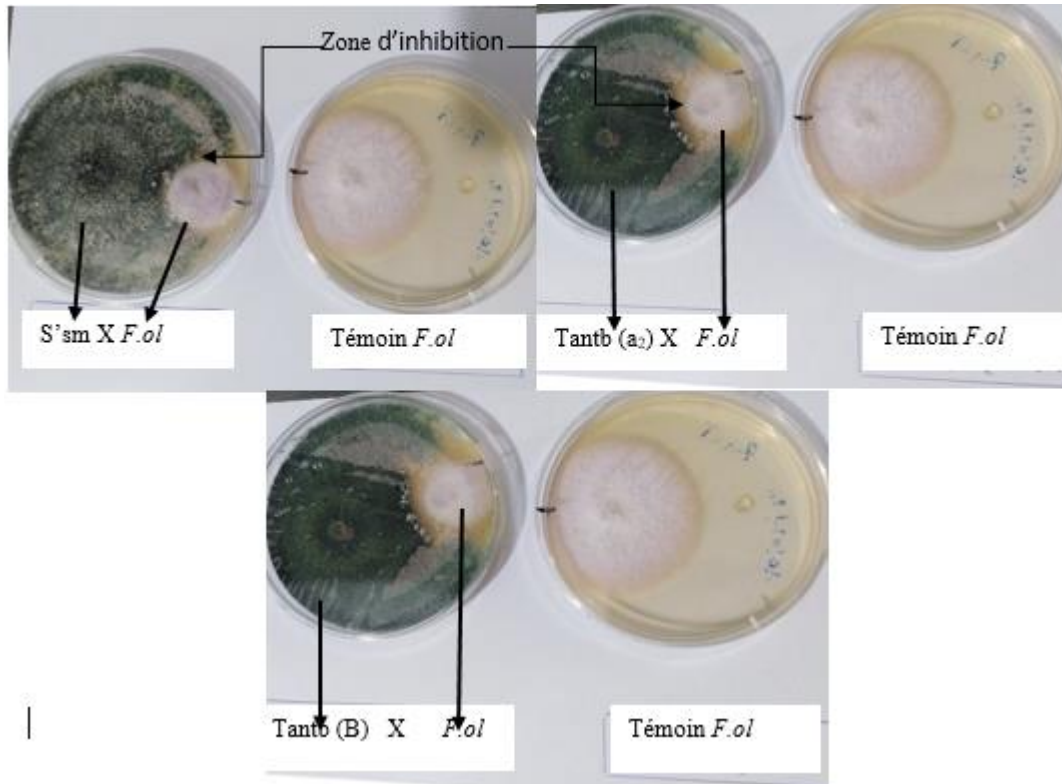


Figure 17: la confrontation directe des isolats de *Trichoderma* à l'égard de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, montrant un envahissement, après 6 jours d'incubation à 25 ° C à l'obscurité.

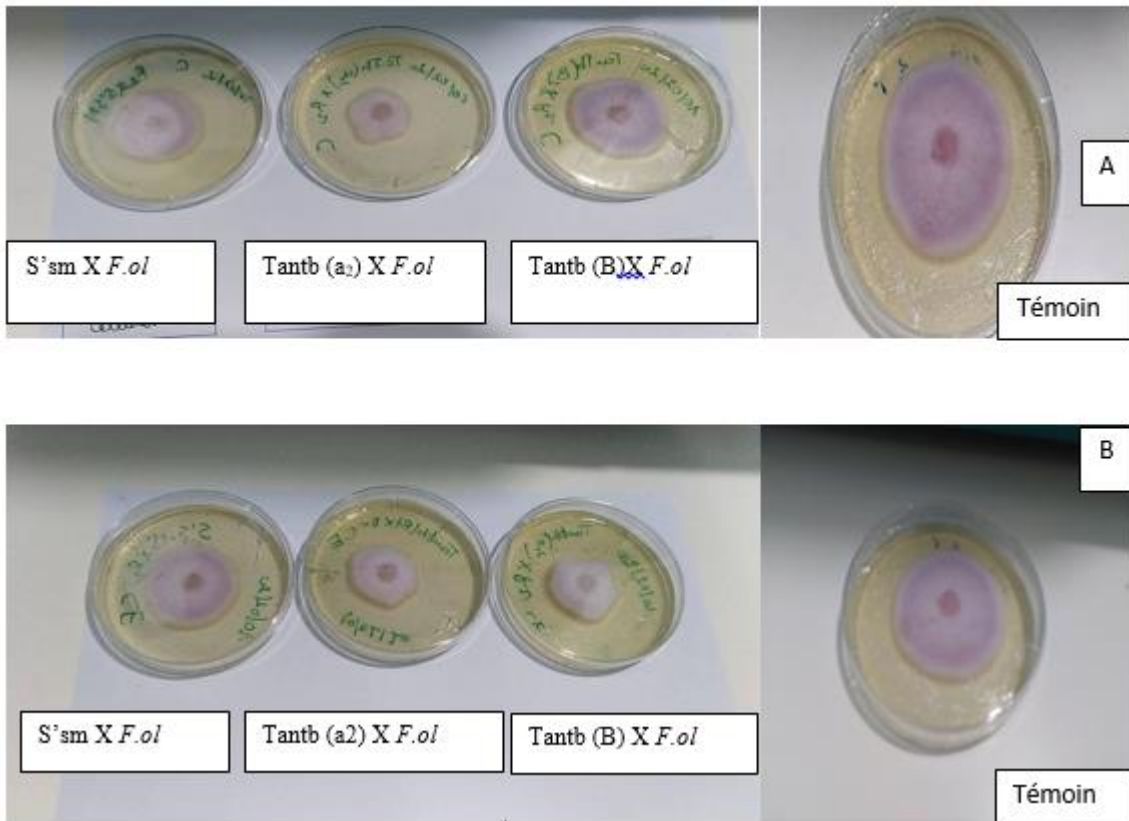


Figure 18: activité antifongique des isolats de *Trichoderma* à l'égard de *Fol*, (A) sur membrane de cellophane, (B) sur membrane de cellulose après 4 jours d'incubation à 25 ° C à l'obscurité.

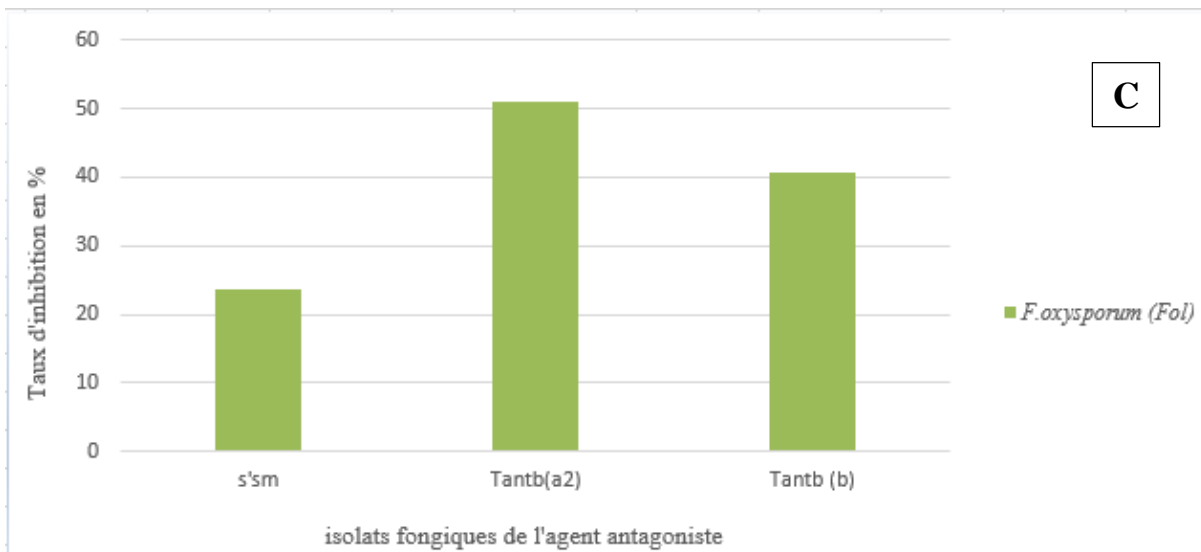
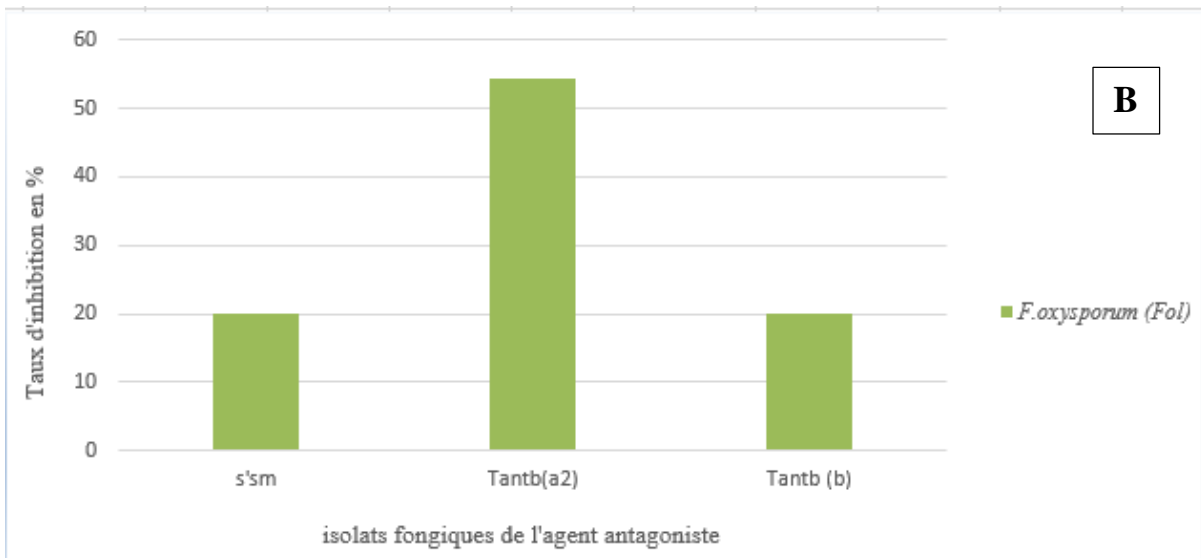
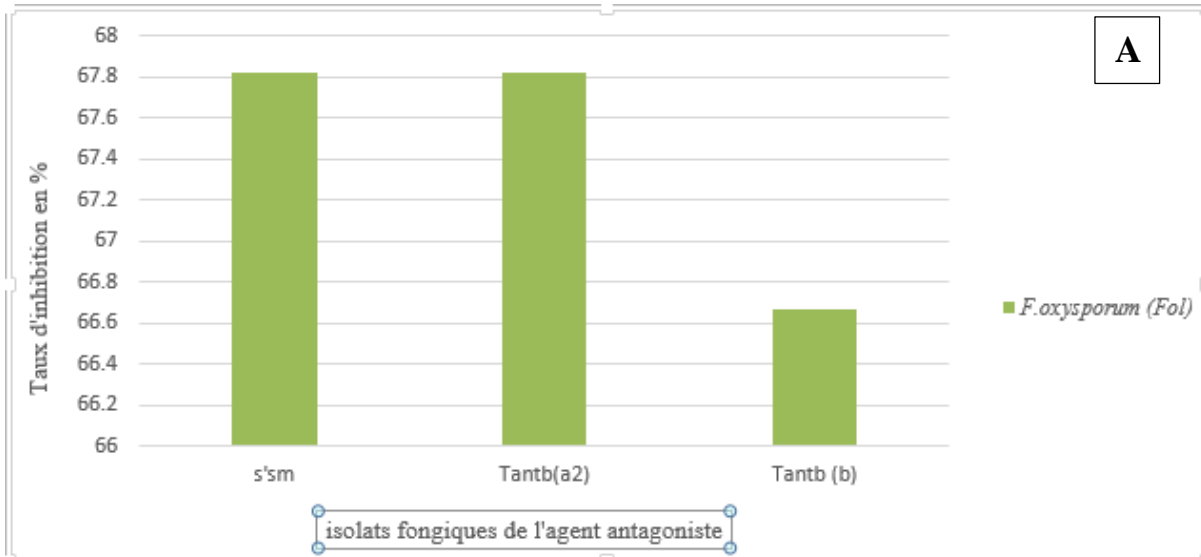


Figure 19: taux d'inhibition *in vitro* de la croissance mycélienne de l'isolat de *Fol* par des isolats de *Trichoderma* en confrontation directe (A), sur membrane de cellulose (B) et sur membrane de cellophane (C).

1.3 Activité antifongique des isolats de *Trichoderma* contre l'isolat *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* *in vivo*

Le traitement de la semence avec les spores des isolats de *Trichoderma* a influencé le développement des symptômes des maladies causées par l'isolat de *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici* sur les plants de tomate. 30 jours après l'inoculation avec l'isolat de *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici*, les symptômes sont observés. Les résultats de la notation des symptômes sont exprimés par l'indice de la sévérité des symptômes selon une échelle de notation à 5 degrés de 0 à 4, les résultats obtenus sont indiqués dans le **Tableau 06**.

Afin de déterminer l'effet des isolats de *Trichoderma* sur la réduction de la fusariose de la tomate causée par l'isolat de *Fol*, des formules sont utilisés pour calculer l'indice moyen de la maladie (IMM), l'incidence de la maladie (IM) et la réduction de l'incidence de la maladie (RIM) due au traitement par les isolats de *Trichoderma*. Les résultats obtenus sont résumés dans le **Tableau 07**, les résultats obtenus correspondent à ceux obtenus *in vitro*. Chez les plants témoins inoculés par l'isolat de *Fol* et non traités par les isolats de *Trichoderma*, la maladie a induit un jaunissement et un flétrissement important sur les feuilles du sommet de la tige avec un ralentissement de la croissance des plantes. Par ailleurs aucun symptôme n'a été observé chez les plants témoins non inoculés par l'isolat de *Fol* et traités par les isolats de *Trichoderma*.

Ainsi, l'incidence de la maladie (IM) induite par l'isolat de *Fol* chez les plants non traités par les isolats de *Trichoderma*, est de 53.13 %. Tandis que les incidences de la maladie induites sur les plants traités par les trois souches de *Trichoderma* sont plus faibles.

En effet, une réduction de l'incidence de la maladie (RIM) a été observée chez toutes les combinaisons *Trichoderma* / *Fol*. Les pourcentages de RIM les plus élevés ont été enregistrés avec l'isolat Tantb (B) étant de 58.94%, par rapport à l'isolat Tant b (a_2) qui a induit une RIM de 44.25% et l'isolat S'sm qui a conféré un taux de réduction de l'incidence de la maladie le plus faible qui est de l'ordre de 17.7%.

Sur la base de ces résultats, l'isolat Tantb(B) semble être le meilleur isolat pour lutter contre l'agent responsable de la fusariose de la tomate, *Fol*.

Les plants inoculés provenant des semences traitées par les spores des isolats Tantb (a_2) et Tantb (B) ont développé moins de symptômes par rapport au témoin inoculé par l'isolat de *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici* et non traités par les isolats de *Trichoderma* et les plants inoculés

provenant des semences traitées par les spores de l'isolats S'sm qu'ils ont présenté une forte incidence de la maladie, un jaunissement plus intense des feuilles et une croissance plus rabougrie.

Tableau 6 : L'indice de sévérité des symptômes de la fusariose de la tomate causée par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* selon une échelle de notation de 0 à 4.

| Traitements | Plt1 | Plt2 | Plt3 | Plt4 | Plt5 | Plt6 | Plt7 | Plt8 |
|----------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| T (+) *Fol | 3 | 3 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Tantb(a₂) *Fol | 1.5 | 1.5 | 1.5 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Tantb(B) * Fol | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0.5 | 0.5 |
| SSM * Fol | 2 | 2 | 1.5 | 1.5 | 1 | 1 | 2 | 3 |
| T(-) : non inoculé | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tableau 7 : Indice moyen de la maladie (IMM), l'incidence de la maladie (IM) causée par *Fol* sur des plants de tomate " SM", et la réduction de l'incidence de la maladie (RIM) suite au traitement de la semence par les isolats de *Trichoderma* sp séparément.

| Traitements | IMM | IM % | RIM % |
|---------------------------------|------|--------------|-------|
| T+ *FOL | 2.13 | 53.13 ± 0.25 | / |
| Tantb(a₂)*Fol | 1.19 | 29.69 ± 0.06 | 44.25 |
| Tantb (B) * Fol | 0.88 | 21.88 ± 0.06 | 58.94 |
| SSM * Fol | 1.75 | 43.75 ± 0.16 | 17.7 |
| T-: non inoculé | 0.00 | 0.00 | / |

Les valeurs sont des moyennes de 8 répétitions avec l'écart-type correspondant, suivant une signification statistique déterminée par ANOVA ($P < 0,001$), (annexe 04).



Témoin non inoculé par l'isolat de *Fol* et Non traité par *Trichoderma*.

Témoin inoculé par l'isolat de *Fol* et non traité par *Trichoderma*.

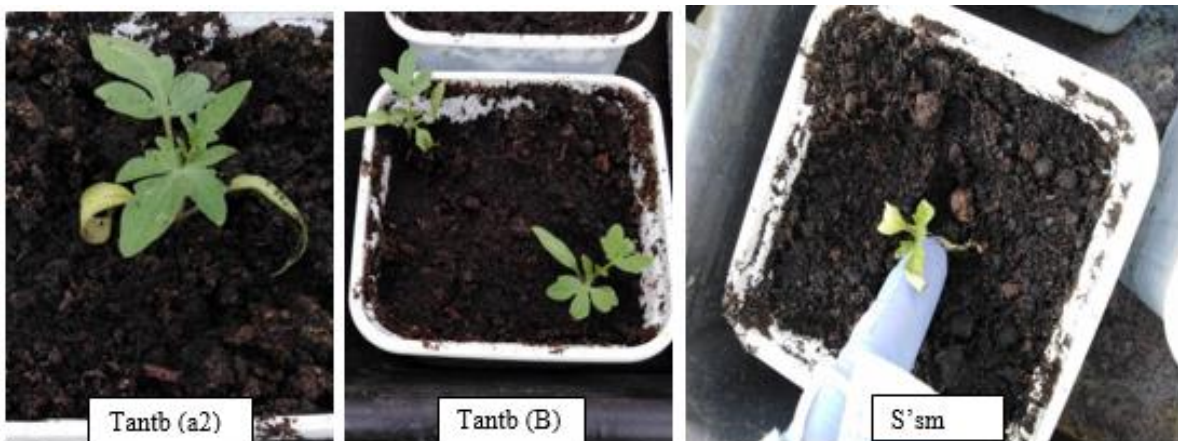


Figure 20: activité Antagoniste *in vivo* des isolats de *Trichoderma* (Tantb (a2), Tantb (B), S'sm) à l'égard de l'isolat de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

2 Discussion

L'étude de l'activité antifongique *in vitro* par la technique de confrontation directe et la technique de l'activité antifongique sur les deux membranes, nous a permis d'évaluer l'effet antagoniste des isolats de *Trichoderma* sur le développement de l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum*.

Les résultats de la confrontation directe indiquent que le repiquage simultané des isolats de *Trichoderma* et l'isolat de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a montré une croissance plus rapide des isolats *Trichoderma* que l'isolat de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Au bout de six jours d'incubation, la boîte Pétri a été totalement envahie par l'agent antagoniste, alors que l'isolat de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* n'occupe qu'une surface d'environ 10 mm de diamètre ; une mince zone d'inhibition a été observée indiquant l'absence d'un contact physique entre les hyphes des deux champignons, cela laisse supposer que l'inhibition du développement du mycélium de l'agent phytopathogène par les isolats de *Trichoderma* se fait en entourant ses colonies et en sécrétant des substances à activité antifongique ce qui provoque un ralentissement significatif de la croissance mycélienne de l'isolat de *Fol* révélant ainsi, son pouvoir myco-parasitaire et probablement une combinaison entre deux mécanismes : la compétition agressive par la sécrétion des substances inhibitrices et l'antibiose.

Les trois isolats testés ont présenté des taux d'inhibition modérés et très proches (Tantb (a₂)-*Fo* : 67.82% ; Tantb (B) – *Fo* : 67.82% ; S'sm -*Fo* : 66.67%).

Les travaux de (Hibar *et al.*., 2005 ; Benhamou, Chet, 1996) qui ont testé des isolats de *Trichoderma harzianum* comme agent de lutte biologique contre des isolats de *Fusarium oxysporum* ont obtenu des résultats similaires à ceux qui sont obtenus dans ce travail.

En revanche l'activité antifongique sur les deux membranes a confirmé la capacité des isolats de *Trichoderma* à produire des composés antifongiques. En effet les valeurs d'inhibition les plus faibles, sur les 2 membranes, ont été enregistrées par l'isolat S'sm et l'isolat Tantb(B). Cela montre que S'sm et Tant(b) ont une faible activité antifongique contre les isolats de *F.oxysporum*. Cependant, nous avons observé un taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fol* qui dépassent 50% a été enregistré par l'isolat Tantb (a₂) dans le test sur membrane de cellulose qui laisse passer les composés de faible poids moléculaire comparativement à la membrane de cellophane. Cela indique que l'isolat de *Fol* est plus sensible aux composés de faible poids moléculaire sécrétés par les isolats de *Trichoderma*.

Les résultats obtenus sont similaires à ceux qui sont obtenus par une étude antérieure de l'activité antifongique des isolats de *Trichoderma* sur membranes (Debbi, 2019).

Les tests *in vivo* réalisés sous serre sur des plants de tomate sensible à l'isolat de *Fo*, représentant le *Fol* ont montré des valeurs d'IM élevées chez les plants non traités avec les spores de *Trichoderma*. Alors que, les valeurs de réduction de l'indice de la maladie (RIM) les plus élevées correspondent aux plants traités par Tantb (B) qui a montré un potentiel antagoniste différent *in vivo*. Cet isolat a conféré une activité antagoniste modérée contre l'isolat de *Fol* par rapport aux deux autres isolats dans les tests *in vitro*. Ceci montre comment un même isolat peut avoir un comportement différent dans les tests *in vivo* et *in vitro*.

La comparaison des résultats des tests d'antagonisme *in vitro* avec le test de bio-contrôle *in vivo*, a montré peu de différence dans le comportement des isolats Tant (B) et Tantb (a₂) dans les deux tests. Cela, laisse supposer que l'effet du traitement par les isolats de *Trichoderma* sur la réduction de l'incidence de la maladie est influencé par d'autres facteurs tels que, les facteurs de l'environnement, la réaction de l'agent pathogène et la plante hôte vis-à-vis les différents mécanismes d'action exercés par l'agent antagoniste.

L'effet antagoniste *in vivo* des isolats de *Trichoderma* a été signalé aussi par Sivan *et al.*, (1987) qui ont montré que le traitement des semences de tomate par *T. harzianum* a réduit de 80 % l'attaque de la fusariose des racines et du collet de la tomate. De plus l'application de *T. harzianum* dans le substrat de culture réduit significativement l'incidence de la maladie durant la saison de culture et par conséquent une augmentation significative (de 18,8 %) du rendement total est obtenue.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Les pays méditerranéens y compris l'Algérie où la culture de la tomate occupe une place économique très importante, sont confrontés à une recrudescence des fusarioses de la tomate causées par *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* et *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, qui provoque une perte de rendement très importante.

La lutte biologique contre les agents causaux du flétrissement vasculaire, des lésions au niveau du collet, le jaunissement des feuilles et la pourriture racinaire à l'aide de champignons antagonistes semble être une alternative prometteuse à l'emploi des fongicides. De ce fait, pour entreprendre une lutte biologique contre les maladies des plantes, le choix des microorganismes antagonistes aux agents pathogènes est le critère le plus important. Parmi ces agents antagonistes quelques espèces du genre *Trichoderma* sont déjà commercialisées pour le contrôle biologique de nombreux agents pathogènes des plantes.

Le but de cette étude était d'étudier *in vitro* le pouvoir antagoniste de trois isolats de *Trichoderma* spp. à l'égard de l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Fol) par un test de confrontation directe, sur membranes de cellophane et de cellulose. Notre étude a été complétée par un test *in vivo* par l'évaluation de la réponse d'une variété de tomate sensible, aux effets du champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) et au traitement par les spores des isolats de *Trichoderma*, sur les plantules malades.

La première partie de cette étude consiste à identifier morphologiquement les isolats de l'agent antagoniste *Trichoderma* spp. et l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*. L'observation macroscopique et microscopique a permis d'identifier les isolats comme étant des *Fusarium oxysporum*.

La deuxième partie de notre étude consiste à la recherche de l'effet antagoniste *in vitro* de trois isolats de *Trichoderma* spp. : S'SM, Tantb (a2), Tantb(B) à l'égard de l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* par différents tests à savoir : test de confrontation directe, sur membrane de cellulose, sur membrane de cellophane.

Les résultats obtenus par cette étude ont confirmé l'effet inhibiteur *in vitro* exercé par les trois isolats de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* (Fol) et que l'activité antagoniste attribuée à l'isolat Tantb (a2) est la plus élevée, avec un taux d'inhibition de 67.82% pour la confrontation directe, 54.24 % sur la membrane de cellulose et 45.76 % sur la membrane de cellophane. En revanche, le test de bio-contrôle *in vivo* a également montré que le traitement des graines de tomate avec les spores de *Trichoderma* a réduit de manière significative l'incidence de la fusariose sur les plantes infectées. Ainsi, l'isolat Tantb (B) a enregistré une réduction de l'indice de la maladie la plus élevée avec 58.94 %.

La comparaison des résultats des tests d'antagonisme *in vitro* avec le test de bio-contrôle *in vivo*, a montré peu de différence par rapport au comportement des isolats dans les deux tests. Cela, laisse supposer que les deux études peuvent être influencées par d'autres facteurs, comme les facteurs environnementaux, la réaction de l'agent pathogène et la plante hôte vis-à-vis les différents mécanismes d'action exercés par l'agent antagoniste.

Afin de bien comprendre les mécanismes d'action de ces isolats de *Trichoderma* spp. pour déclencher une résistance chez la plante de tomate à l'égard de la fusariose, en perspective une étude complémentaire concernant l'expression des gènes de résistance responsables de l'induction de la réponse de défense chez la tomate mérite d'être effectuée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abdiche S., Khireddine I. (2016). Etude d'antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* sp. vis-à-vis des ravageurs des plantes *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. Mémoire master : Microbiologie, option : Biotechnologie des Mycètes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. 62p.

Abidat K., Djabil A. (2018). L'effet de *Trichoderma* sp. et acide salicylique sur la réduction de l'incidence de la maladie et l'efficacité sur la croissance de la variété de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) contaminée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et *Botrytis cinerea*. Mémoire master : Biotechnologie végétale. Oum El Bouaghi : Université Larbi Ben M'hidi Oum. 120p.

Adejumo T., Hettwer U., Karlovsky P. (2007). Occurrence of *Fusarium* species and trichothecenes in Nigerian maize. International Journal of Food Microbiology, (116), N°3, 355p

Alabouvette C., Couteaudier Y. (1984). Recherches sur la résistance des sols aux maladies. X-Comparaison de la mycoflore colonisant les racines de melons cultivés dans un sol résistant ou dans un sol sensible aux fusarioses vasculaires. Agronomie, 4, 735p- 740p. **Anonyme 1.** [En ligne]. Disponible sur :

<http://www.imepcnrs.com/licence/planche%20tp%20myco%202.pdf> (Consulté le 2/04/2020).

Ariño J., Casamayor A., Ruiz A., Muñoz I., Marquina M., (2007). Use of yeast genetic tools to define biological roles of novel protein phosphatases. Methods Mol Biol 365, 299p-307p.

Armstrong G.M., Armstrong J.K. (1981). Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt disease. Fusarium diseases, Biology and Taxonomy. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania, 392p-399p.

B

Bachir bouiadjra S. (2017). Etude *In vitro* et *In vivo* du pouvoir pathogène de *Fusarium oxysporum* sur variétés fixes et hybrides de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).mémoire master : Phytopathologie, Protection des cultures. Mostaganem: Université Abdelhamid Ibn Badis, 84 p.

Bedrane M-A. Importance économique de la tomate [En ligne]. (page consultée le 15/04/2020). <https://agronomie.info/fr/importance-economique-de-la-tomate/>

Beldjilali N., Zeltissi K. (2017). Effet des métaux lourds (Cu et Zn) sur les paramètres morphologiques et physiologiques de la tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Mémoire master : biologie, Phytotechnologie appliquées aux sols pollués. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 90p.

Benhamou N., Chet I. (1996). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* : ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, 405p–416p.

Benítez T., Rincón AM., Limón MC., Codón AC.(2004).Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol*, 7, 249p–260p.

Benkemouche S. (2013).Effet de certains fongicides de synthèse sur la croissance mycelienne de *Fusarium oxysporum* pathogène de la tomate. Mémoire master recherche : science agronomique, phytopathologie et phytopharmacie, Guelma : université 08 mai 1945 Guelma, 60p.

Bettache G. (1993). La fusariose vasculaire de la région d'Oran, thèse de magister en microbiologie, option phytopathologie

Bissett J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. La section *Pachybasium*. (a) *can.J.Bot.*, 69: 23732417.

Blancheflor L. Cycle de développement des *Trichoderma* sp. [Diapositive] in : slideplayer.fr. Disponible sur : <https://slideplayer.fr/slide/1176970/> (Consulté le 3/04/2020).

Booth C. (1971). The Genus *Fusarium*, p. 237. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.

Boutoumou H ., Boumaza M. (2016). Etude de l'activité de *Trichoderma* sp. Contre l'Alternariose de la tomate. Thèse de Master. Université Mentouri Constantine, Algérie.

C

Caron J., Laverdiere L. (2002). Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contre cinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au Québec. *Phytoprotection*, 83 (2) ,73p-87p.

Causse M., Caranta C., Saliba- Colonbani V., Moretti A., Damidaux R., RousslleP. (2000). Valorisation des ressources génétique de la tomate par l'utilisation demarqueurs moléculaires .*Cahier Agricultures* 9 .197p-210p.

Chaux C.L., Foury C.L. (1994). Culture légumière et maraichère. Tome 3 : légumineuses potagères, légumes fruit. Paris : Tec et Doc. Lavoisier. 563p.

Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presse polytechniques et universitaires romandes.

Cronquist A., Takhtadzhian A-L. (1981). An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia : Columbia University Press. 1262 p.

D

Debbi A. (2019). Etude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* agent du flétrissement de la tomate et recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. à l'égard de l'agent pathogène .thèse de doctorat : Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El- Harrach 113p.

Djabil A. (2017). L'effet de *Trichoderma* sp et acide salicylique sur la réduction de l'incidence de la maladie et l'efficacité sur la croissance de la variété de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) contaminée par *Fusarium oxysporum* f. sp .*lycopersici* et *Botrytis cinerea*. Mémoire master recherche : biotechnologie végétal, Oum El Bouaghi : Université Larbi Ben M'hidi, 120p.

E

El Mahjoub M., Bouzaidi A. (1979). Influence de la salinité des eaux d'irrigation sur la sensibilité du tournesol au *Macrophomina phaseoli* (Maubl.) Ashby. Ann. Phytopathol. 11 : 61p-67p.

F

Fandohan P., Zoumenou D., Hounhouigan D.J., Marasas W.F., Wingfield M.J., Hell, K.(2005). Fate of aflatoxins and fumonisins during the processing of maize into food products in Benin. International Journal of Food Microbiology 98, 249p-59p.

FAOSTAT. Données de l'alimentation et de l'agriculture [En ligne] (page consultée le 20/08/2020) <http://www.fao.org/faostat/fr/#data/QC>

Fernando W., Nakkeera S., Zhang y.(2006).Biosynthesis of antibiotics by pgpr and its relation in biocontrol of plant diseases: biocontrol and biofertilization (siddiqui, z.a.),the Netherlands: springer, dordrecht .67p-109p.

G

Gams W., Nirenberg H-I.(1989)a Contribution to the genetic definition *Fusarium*.Mycotaxon, 35, 407p-416p.

Gausсен, H., Leroy, J-F et al (1982). Précis de botanique (végétaux supérieurs). Paris : Masson 2èmeED. 592p.

Guenaoui, Y (2008). Première observation de la mineuse de la tomate invasive, dans la région de Mostaganem, au printemps 2008.Phytoma, N° :617,18p-19p.

H

Harman G-E., Howell,C-R ., Viterbo,A ., Chet I ., Lorito M.(2004). *Trichoderma* species- opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews/Microbiology 2: 43p-56p.

Hamoir J., Goret M. (2001). Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophytoses. Ann. Med.Vet.145, 226p-232p.

Henni J.E. (1998). Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. 171p.

Hibar k ., Daami-Remadi M., Khiareddine H .,El Mahjoub M.(2005). Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* ,(9),N°3,163p-171p.[en ligne] <https://popups.uliege.be:443/1780-4507/index.php?id=1442>

Hireche, M (2013). Etude de l'activité antioxydant de la tomate sèche. Mémoire de master : Nutrition Humaine. Chleff : Université de Hassiba Ben Bouali ,61p.

Hmouni A., Hajlaoui MR., Mlaiki A. (1996). Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. OEPP/EPPO Bull. 26,697p–705p.

I

I.T.C.M.I. (2015). Guide pratique la culture de la tomate sous serres. BP50 Route de Moretti staouéli - Alger, 3p.

J

Jogaiah S., Abdelrahman M., Phantran LS., Ito SI (2018). Different mechanisms of *Trichoderma virens*-mediated resistance in tomato against *Fusarium* wilt involve the jasmonic and salicylic acid pathways. *Molecular plant pathology*, 19(4), 870p–882p.

Johanne C., Liette L. (2002). Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma*, Le biofongicide *Trichoderma* (RootShield) contre les maladies racinaires et la moisissure grise dans la fraise, 5/décembre/2002, St-Rémi, 4p.

K

Kabouch, M. (2014). Evaluation de l'effet de *Trichoderma* sp vis-à-vis de quelques photogènes des lentilles. Mémoire master recherche : biotechnologie de mycètes, fermentation et production des substances fongiques, Constantine : université de Constantine 1, 75p.

Komi A.(1993).Pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum*.f.sp.*vasinfectum*(ATK) SN et H : agent de la fusariose du cotonnier. Thèse de doctorat d'état. Université de Montpellier. Science et technique du Languedoc, 205p.

L

Laterrot H., Blancard D., Couteaudier Y.(1988). Les fusarioses de la tomate. PHM -Rev. Hortic. 288, 29p-32p.

Laterrot H. (INRA) (2013). Production et données économiques de la tomate [En ligne]. (Page consultée le 15/04/2020)

<http://ephytia.inra.fr/fr/C/4945/Tomate-Production-et-donnees-economiques-de-la-tomate>

M

Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F., Lafon,R. (1991). Les maladies des plantes maraichères. 3e. Ed. INRA,183p-194p, 198p-201p.

Marzano M., Gallo A., Altomare C. (2013).Improvement of biocontrol efficacy of *Trichoderma harzianum* vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* through uv induced tolerance to fusaric acid. Biological control, 67,N°3 ,397p–408p.

Messiaen C.M., Cassini R. (1968). Recherche sur les fusarioses. 4-La systématique *Fusarium*. Ann. Epiphyt. 19,387p- 454p.

Morot-Gaudry, J.-F., Briat, J.-F (2004).la génomique en biologie végétale. Paris : Quae.582 p.

N

Naika S., Jeude J.V.L., Goffau M., Hilmi M. and Van Dam B. (2005). La culture de la tomate production, transformation et commercialisation. Wageningen, pays bas : Fondation Agromisa et CTA.105 p.

Nelson, P.E. (1981). Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum* .In: Fungal wilt diseases of plants. (M.E.Mace,A,A.Bell and C.H.Beckman,editors),academic press ,New York, 51p-80p.

Nirmaladevi D.,Venkataramana M., Srivastava RK ., Uppalapati SR ., Gupta VK ., Yli-Mattila T., Tsui KMC ., Srinivas C ., Niranjana SR., Chandra NS. (2016). Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp.*lycopersici*. Sci. Rep. 6: 21367; doi: 10.1038/srep21367.

O

Ozenda P. (1990). Les organismes végétaux, tome 1: Végétaux inférieurs. Masson. 220p.

P

PNTTA.(1999). Bulletin mensuel d'information et de liaison du pntta.Fiche technique tomate sous serre.

Polese, J-M (2007). La culture des tomates. Chamalières (France) : Artémis ,95p.

Prieto A., Leal J.A. (1997). Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *hypocrea* species. *Carbohydrate Research* 1997, 304 (3-4) ,281p-291p.

R

Rekibi F. (2015). Analyse compétitive de la filière tomate sous serre. Cas de la Wilaya de Biskra. Mémoire de magister : Sciences Agronomiques, Agriculture et Environnement dans les Régions Arides. Biskra : universite Mohamed Khider ,189p.

S

Sakhri F. (2005). Contribution à l'étude de la lutte biologique des champignons phytopathogènes par l'utilisation de *Trichoderma* sp. Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES) : biologie, microbiologie. Msila : Université Mohamed Boudiaf, 30p.

Samuels G-J ., Jaklitsch W-M., Dodd S-L., Lu B-S ., Druzhinina I-S.(2006). *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies in mycology*. 56, 135p–177p.

Smahi A. (2008). Contrôle biologique de la fusariose vasculaire de la Tomate causée par *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* .Thèse de Magister. Université d'Oran, Algérie.

Smith-Becker J., Marois E. (1998). Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems, *plant physiol.* 116,231p- 238p.

Snoussi S-A. (2010). Étude de base sur la Tomate en Algérie. Rapport de mission .FAO. Rome. 53p

Si Mohammed A. (2017). Étude de la compatibilité chez des populations de *Fusarium oxysporum* isolé dans l'ouest algérien [en ligne]. mémoire de magister : microbiologie, phytopathologie et phytopharmacie. Oran : université d'Oran 106p. [En ligne] : <https://theses.univ-oran1.dz/document/TH3265.pdf>.

Sivan A., Ucko O., Chet I. (1987). Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant Dis*, 71, 587p–592p.

Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L., Liu X (2004). Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop Protection* 23: 243p-247p.

Spiga N. (2015). Effet *in vitro* de l'extrait méthanolique des feuilles et des tiges de *Ruta chalepensis*, *Ruta angustifolia* et *Aplophyllum tuberculatum* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Alternaria solani*, *botrytis cinerea* et *Pectobacterium cacarotovorum*. Mémoire master recherche : sciences agronomiques, Protections des cultures, Mostaganem : université de Mostaganem, 102p.

T

Toussoun T-A., Nelson P-E. (1976). A pictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Pennsylvania State University Press, 43 p.

Annexes

Annexe 01 : Préparation de l'eau de javel à 2 °

Pour préparer une solution chlorée à 2° dans 120 ml d'eau, il faut tenir en compte la concentration de base de l'eau de javel (15°)

$$N1V1=N2V2$$

N1 : représente la concentration initial de l'eau de javel (hypochlorite de sodium)
N1=15°

N2 : représente la concentration de la solution diluée d'eau de javel N2=2°

V1 : représente le volume de l'eau de javel devant être diluée dans l'eau V1=X

V2 : représente le volume de la solution de l'eau de javel V2=120ml

$$V1=N2.V2/N1$$

$$V1=2.120/15$$

$$V1=16ml$$

-Verser 16 ml d'eau de javel dans une éprouvette graduée de 120 ml

-Rajouter l'eau distillé jusqu'au volume final (120ml)

-Verser la solution dans une pissette

Annexe02 : Milieu Potato Dextrose Agar (PDA) commercialisé

- 39 g de milieu PDA
- Eau distillée q. s. p. (quantité suffisante pour) 1000 ml

Annexe 03 : Analyse de variance à un facteur de l'effet antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* sur l'agent phytopathogène *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ($p < 0.001$).

L'analyse de variance de l'effet antagoniste des isolats de *Trichoderma* dans la confrontation directe :

| <i>Groupes</i> | <i>Nombre d'échantillons</i> | <i>Somme</i> | <i>Moyenne</i> | <i>Variance</i> |
|--------------------------------------|------------------------------|--------------|----------------|-----------------|
| Tantb (a ₂) * <i>Fol</i> | 3 | 28 | 9.333333333 | 2.33333333 |
| Tantb (B) * <i>Fol</i> | 3 | 29 | 9.666666667 | 0.33333333 |
| S'sm | 3 | 28 | 9.333333333 | 0.33333333 |
| temoin | 3 | 87 | 29 | 1 |

| <i>Source des variations</i> | <i>Somme des carrés</i> | <i>Degré de liberté</i> | <i>Moyenne des carrés</i> | <i>F</i> | <i>Probabilité</i> | <i>Valeur critique pour F</i> |
|------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|------------|--------------------|-------------------------------|
| Entre Groupes | 860.6666667 | 3 | 286.8888889 | 286.888889 | 1.7638E-08 | 15.82948958 |
| A l'intérieur des groupes | 8 | 8 | 1 | | | |
| Total | 868.6666667 | 11 | | | | |

L'analyse de variance de l'effet antagoniste des isolats de *Trichoderma* sur membrane de cellulose :

| Groupes | Nombre d'échantillons | Somme | Moyenne | Variance |
|-------------------------------------|-----------------------|-------|-------------|------------|
| Tantb(a ₂) * <i>Fol</i> | 3 | 27 | 9 | 0 |
| Tantb (B) * <i>Fol</i> | 4 | 63 | 15.75 | 0.91666667 |
| S'sm | 3 | 48 | 16 | 1 |
| témoin | 3 | 59 | 19.66666667 | 0.33333333 |

| Source des variations | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|---------------------------|------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes | 178.275641 | 3 | 59.42521368 | 98.7372781 | 3.3179E-07 | 13.90180319 |
| A l'intérieur des groupes | 5.41666667 | 9 | 0.601851852 | | | |
| Total | 183.6923077 | 12 | | | | |

L'analyse de variance de l'effet antagoniste des isolats de *Trichoderma* sur membrane de cellophane :

| Groupes | Nombre d'échantillons | Somme | Moyenne | Variance |
|------------------------------------|-----------------------|-------|-------------|------------|
| Tantb (B) * <i>Fol</i> | 3 | 35 | 11.66666667 | 4.33333333 |
| Tantb(a ₂)* <i>Fol</i> | 3 | 32 | 10.66666667 | 2.33333333 |
| S'sm | 4 | 60 | 15 | 0 |
| temoin | 3 | 59 | 19.66666667 | 0.33333333 |

| Source des variations | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|---------------------------|------------------|------------------|--------------------|------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes | 148.7692308 | 3 | 49.58974359 | 31.8791209 | 4.0034E-05 | 13.90180319 |
| A l'intérieur des groupes | 14 | 9 | 1.555555556 | | | |
| Total | 162.7692308 | 12 | | | | |

Annexe 04 : Analyse de variance à un facteur de l'effet antagoniste *in vivo* des isolats de *Trichoderma* sur l'agent phytopathogène *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, ($p < 0.001$).

| Groupes | Nombre d'échantillons | Somme | Moyenne | Variance |
|------------------------------|-----------------------|-------|----------|-------------|
| T- *FOL | 8 | 4.25 | 0.53125 | 0.061383929 |
| Tantb (a ₂) *Fol | 8 | 2.375 | 0.296875 | 0.004185268 |
| Tantb (B) * Fol | 8 | 1.75 | 0.21875 | 0.003348214 |
| SSM * Fol | 8 | 3.5 | 0.4375 | 0.026785714 |
| T- non inoculé | 8 | 0 | 0 | 0 |

| Source des variations | Somme des carrés | Degré de liberté | Moyenne des carrés | F | Probabilité | Valeur critique pour F |
|---------------------------|------------------|------------------|--------------------|-------------|-------------|------------------------|
| Entre Groupes | 1.3515625 | 4 | 0.337890625 | 17.65306122 | 5.12875E-08 | 5.876401538 |
| A l'intérieur des groupes | 0.669921875 | 35 | 0.019140625 | | | |
| Total | 2.021484375 | 39 | | | | |

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

Filière : sciences biologiques

Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

Recherche de l'effet antagoniste de quelques isolats de *Trichoderma* sp. à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* agent du flétrissement fusarien de la tomate

Résumé

Fusarium oxysporum est un champignon d'origine tellurique ubiquiste qui a la capacité de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales d'intérêt économique. En effet certaines souches de *F. oxysporum* sont pathogènes. Deux formes spéciales sont inféodées à la tomate restent des principales causes de pertes de rendement en Algérie, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* qui provoque des trachéomycoses alors que *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* engendre des nécroses racinaires. L'identification morphologique a permis d'identifier les isolats comme étant des *Fusarium oxysporum*. En outre les observations macroscopique et microscopique ont confirmé l'appartenance des isolats de l'agent antagoniste au genre *Trichoderma*. Les tests d'activité antagoniste *in vitro* (confrontation direct, sur membrane de cellulose et sur membrane de cellophane) ont donné des résultats positifs au moyen d'utilisation de l'antagoniste *Trichoderma* spp. à l'égard de l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (*Fol*). Le test de bio-contrôle *in vivo* effectué par le traitement des graines de la tomate de la variété Super Marmande avec une suspension sporale des mêmes isolats testés *in vitro* a donné des résultats encourageants en réduisant de manière significative l'incidence de la fusariose sur les plantes infectées, révélant ainsi leur effet antagoniste efficace contre l'agent pathogène testé (*Fol*). Ces résultats suggèrent que l'antagoniste a un effet inhibiteur sur le *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* et protège les plantes par des différents modes d'action de *Trichoderma* spp.

Mot clés : activité antagoniste, fusariose, *Fol*, *Trichoderma* spp., tomate.

Membre du jury :

Président de jury : Mr. BOULAHROUF Khaled (maitre de conférences B- UFC Constantine)

Examinatrice : Mme. BOUCHLOUKH Warda (maitre assistante A-UFM Constantine).

Encadré par : Mr. DEBBI Ali (Maître de recherche B - C. R. Bt. Constantine).

Présentée par : Boughaba Hibet Allah / Bouzit Aya Khaoula

Année universitaire : 2019 -2020