

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



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie
cellulaire et Moléculaire

N° d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie
Option : Biochimie

**Evaluation *in vivo* de l'effet antagoniste de
Trichoderma vis-à-vis de l'agent pathogène
Fusarium culmorum sous des conditions
environnementales contrôlées (en serre).**

Présenté par :

- ANANA Badis.
- BENLAZEREG Anis .

Devant le jury :

- Président du jury : **Dr. BECHKRI Sakina** (UFCMC1).
- Examinatrice : **Dr. ABDELAZIZ Ouided** (UFMC1).
- Encadreur : **Dr. BELLIL Inès.** (UFMC1)

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

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

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

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

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

*Ensuit nous tenons à remercier les membres du jury **Dr. BECHKRI Sakina (MCA)**et **Dr. ABDELAZIZ Ouided (MCB)**. pour avoir pris le temps d'évaluer et de corriger ce mémoire.*

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

Merci à tous.

Dédicace

*A ma très chère **mère***

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

*A mon très cher **père***

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

*A mes chers **frères***

*A ma chère **sœur**,*

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

Qui je souhaite une bonne santé et longue vie.

*A ma cher **ami et binôme**,.*

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

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

Badis.

Dédicace

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

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

*A ma chère **sœur***

*A mon cher **frère***

*A ma cher **ami et binôme** : en particulière, à qui je souhaite beaucoup de réussite et de bonheur inchallah.*

*A mes toutes ma **famille**.*

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

Anis.

Sommaire

	Pages
Remerciement	
Dédicaces	
Sommaire	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
I. Introduction	1
II. Revue bibliographique	3
Chapitre 01 :Le blé	3
1. généralités	3
2. Caractéristiques botaniques du blé	4
3. Morphologie du blé	6
a. Système aérien.....	6
b. Appareil racinaire.....	6
c. Tige et feuille.....	6
e. Épi.....	7
f. Épillets.....	7
4. Cycle de développement du blé	7
a. Phase végétative	8
b. Période reproductrice.....	8
5. Maladies de blé	8
5.1.fusariose de l'épi chez le blé.....	8
5.2.Maladies causant des pourritures racinaires	9
Chapitre02 :Le genre <i>Fusarium</i>	10
1. Taxonomie	10
1.1 Classification du genre <i>Fusarium</i>	10
2. La maladie de la fusariose.....	10
2.1. Généralités	10
2.2.Symptômes	11
3. Cycle biologique de la maladie	12
4. Les mycotoxines	13
5. Les moyens de lutte contre les champignons de <i>Fusarium</i>	14
5.1. Moyens de luttés culturaux	14
5.2. Moyens de luttés physiques	14

5.3. Moyens de lutttes chimiques.....	15
5.4.La lutte biologique	15
Chapitre03 : Le genre Trichoderma	16
1. Définition	16
2. Taxonomie	16
3. cycle biologique	18
4. Mode d'action	19
5. Utilisation de Trichoderma dans la lutte biologique	20
III. Matériel et méthodes	21
1. Matériel fongique	21
1.1. Agent pathogène.....	21
1.2. Agent antagoniste.....	21
2. Matériel végétal	21
3. Méthodes	22
3.1.Préparation de la suspension sporale de l'agent pathogène et l'agent antagoniste	22
3.2. Test des grands pots pour la maladie des épis dans la serre	22
3.3.Test des petits pots pour la maladie du collet dans la chambre de culture	24
IV. Résultats et discussion	25
1. Test des grands pots	25
1.1. Indice de maladie	25
1.2. Poids de mille graines	26
2.Teste de petits pots	28
2.1. Indice de maladie	28
2.2. Les moyennes de poids et de longueur des coléoptiles	29
V. Conclusion générale et perspectives	33
VI. Résumés	
VII. Références bibliographiques	
Annexe	

Liste Des Tableaux

N°	Titre des tableaux	Pages
Tableau 01	L'origine des blés et l'histoire de leur évolution	04
Tableau 02	Les moyennes de l'indice de maladie	25
Tableau 03	Les moyennes de PMG de chaque cas	27
Tableau 04	Les moyennes de l'indice de maladie	28
Tableau 05	Les moyennes de poids et longueur des coléoptiles	29

Liste Des Figures

N°	Titre des tableaux	Pages
Figure 01	Anatomie d'un épillet d'un épi de blé	05
Figure 02	Schéma illustrant le cycle de développement du blé	07
Figure 03	Fusariose de l'épi du blé	09
Figure 04	Pourriture racinaire du blé	09
Figure 05	Fusariose du Blé	11
Figure 06	Principaux symptômes de fusariose de l'épi sur épi et grain de blé.	12
Figure 07	cycle de développement de la maladie	13
Figure 08	les moyennes de l'indice de maladie	26
Figure 09	les moyennes du poids de mille graines	28
Figure 10	Les moyennes de l'indice de maladie de chaque répétition	29
Figure 11	les moyennes de poids des coléoptiles	30
Figure 12	Les moyennes de longueur des coléoptiles	31

Liste des abréviations

- **A :** Agent antagoniste.
- **B :** Agent pathogène .
- **NPK:** (N) azote , (P) phosphore , (K) potassium.
- **.PSA :** patate saccharose agar.
- **DS :** Disease severity.
- **FHB:** Fusarium head blight.
- **FCR:** Fusarium crown rot .
- **PMG :** poids de mille grains
- **PSS:** The percentage of symptomatic spikelets;

Introduction

I. Introduction

Le blé dur (*Triticum turgidum* L.var. *durum*), est l'une des cultures les plus répandues dans le bassin méditerranéen. Cette zone contribue à plus de la moitié de la production totale mondiale, l'Italie, l'Espagne, la France, le Maroc et l'Algérie étant classés parmi les premiers producteurs (**Pastaria, 2015**). Cependant, comme pour les autres cultures méditerranéennes, la production de blé dur en Algérie est exposée à des contraintes environnementales sévères telles que la sécheresse, le gel et la chaleur qui peuvent affecter significativement le rendement et la qualité des grains.

En outre, les maladies des plantes causées par des champignons phytopathogènes sont assez courantes et peuvent être responsables de pertes de rendement ainsi que de la détérioration de la qualité des grains. L'une des maladies fongiques les plus dévastatrices qui affectent le blé dur est la fusariose de l'épi (FHB), qui endommage également le blé tendre, l'orge et l'avoine (**Covarelli et al., 2015**). *Fusarium culmorum* est le principal champignon pathogène associé à la fusariose en Algérie. En plus des pertes de rendement, les espèces de *Fusarium* et principalement *F. graminearum* et *F. culmorum* causent une perte de qualité significative en produisant des mycotoxines de type B trichothécènes (TCTB) qui peuvent rendre les récoltes impropres à la consommation humaine et animale. Les souches de *F. culmorum* isolées des récoltes de blé dur algérien qui ont été caractérisées jusqu'à présent appartiennent aux chémotypes DON/3-ADON ou NIV/FX (**Touati-Hattab et al.,2016; Laraba et al., 2017**) .

Trichoderma est l'un des agents fongiques de biocontrôle les plus exploités en agriculture pour gérer les maladies des plantes causées par un grand nombre de champignons pathogènes (**Harman et al., 2008 ; Vinale et al., 2008**). Plusieurs mécanismes ont été associés à la capacité de *Trichoderma* spp. à contrôler les agents pathogènes des plantes, notamment la compétition pour les nutriments, la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques, et le mycoparasitisme par des enzymes dégradant la paroi cellulaire (**Howell, 2003 ; Vinale et al., 2008**).

Dans ce contexte, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur la lutte biologique par l'utilisation de *Trichoderma* contre le champignon phytopathogène *Fusarium culmorum*, l'agent causal de la fusariose du blé. Cette étude consiste en l'évaluation *in vivo* de l'effet antagoniste de *Trichoderma* vis-à-vis de l'agent pathogène *Fusarium culmorum* sous des conditions environnementales contrôlées (en serre) par deux tests : tests des petits pots pour la maladie du collet et le test des grands pots la maladie des épis.

Introduction

La première partie de notre travail est consacrée à la synthèse bibliographique portant sur le blé, l'agent pathogène *Fusarium* et l'agent antagoniste *Trichoderma*.

La seconde partie est consacrée au travail expérimental et est basée sur les différentes techniques utilisées et les principaux résultats obtenus. Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion générale et des perspectives de recherche.

Revue
Bibliographique

II. Revue bibliographique

Chapitre 01 :Le blé

1. généralités

Le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *Durum*) constitue une des céréales les plus anciennes et les plus cultivées dans le monde avec plus de 17 millions d'hectares et qui représente le plus grand marché d'importation pour le bassin méditerranéen. Ceci est dû à la grande consommation des méditerranéens de dérivés de blé dur (**Nazco et al. 2012**). Contrairement au blé tendre (*Triticum aestivum* L.) qui est utilisé pour la fabrication du pain et des Noordles orientales, le blé dur est le préféré pour la fabrication de pâte, car il est le plus dur à moudre pour donner de grosses particules nommées semoule. (Le blé dur, avec sa teneur en protéines et sa force de gluten, produit une pâte ferme avec une bonne texture, qui garde après cuisson un aspect non collant et intègre (**d'Egidio et al.1990; Elias et al. 2005**). Cette céréale est riche en protéines qui sont classées selon leurs caractéristiques de solubilité en 4 groupes (Albumines, Globulines, Gliadines, Gluténines).

Les blés constituent la première ressource alimentaire de l'humanité. Ils fournissent également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale et de multiples applications industrielles. La presque totalité de la nutrition de la population mondiale est fournie par les aliments en grains dont 95% sont produits par les principales cultures céréalières (**Bonjean et Picard., 1990**).

Le blé dur représente environ 8% des superficies cultivées en blés dans le monde dont 70% sont localisées dans les pays du bassin méditerranéen. La Turquie, la Syrie, la Grèce, l'Italie, l'Espagne, et les pays d'Afrique du nord, sont en effet, parmi les principaux producteurs. Par ailleurs, le blé dur occupe une place centrale dans l'économie Algérienne. En 2012, on a atteint une production de blé de 51,2 MQ contre une production mondiale de 690 MT (**CIC., 2000**).

L'Algérie a réalisé une récolte record de 3,9 Mt sur la campagne 2018/2019, soit une hausse de 61% de la production dont 3,15 Mt de blé dur.

Le blé dur est un blé à grains nus qui apparut au néolithique précéramique B (vers -6500), obtenu probablement par sélection de populations à partir du blé amidonnier (*Triticum dicoccon*), un blé domestique primitif à grains vêtus. L'amidonier est lui-même un hybride

de *Triticum urartu* et d'une espèce d'égilope inconnue proche de *Aegilops speltoides*. Ces triticum et *ægilops* sont de grandes graminées sauvages du Proche-Orient. Le blé dur est tétraploïde car contenant 28 chromosomes au lieu de 14 pour les espèces parentes sauvages diploïdes (tableau1). (https://fr.wikipedia.org/wiki/Blé_dur).

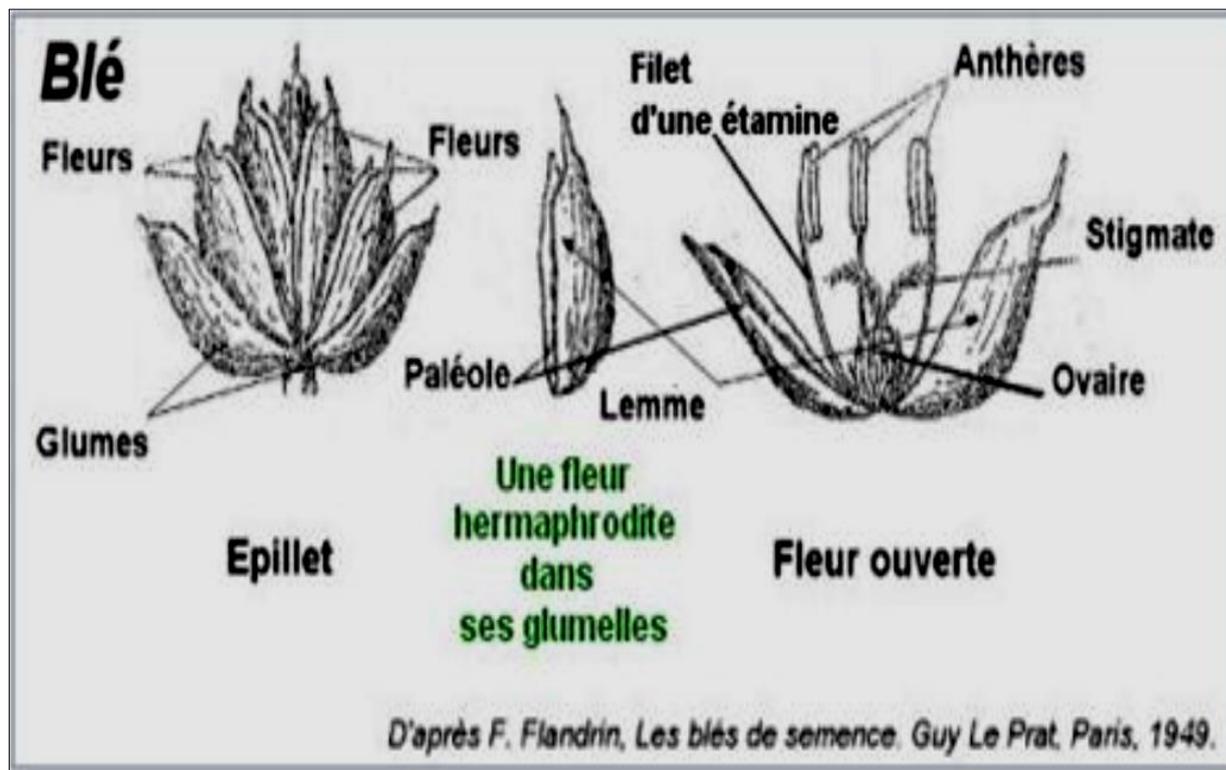
➤ **Tableau 1 :L'origine des blés et l'histoire de leur évolution**

	1 génome 7 paires de chromosomes	2 génomes 14 paires de chromosomes	3 génomes 21 paires de chromosomes
Espèces sauvages Epi fragile Grain vêtu	<i>T.boeoticum</i>	<i>T.dicoccoides</i>	
Espèces cultivées primitives Epi semi-solide Grain vêtu	<i>Engrain</i>	<i>Amidonnier</i>	<i>Epeautre</i>
Espèces cultivées actuelles Epi solide Grain nu		<i>Blé dur</i>	<i>Blé tendre</i>

2. Caractéristiques botaniques du blé

Le blé appartient à la famille des Gramineae et au genre *Triticum*. C'est une plante annuelle, monocotylédone, à feuilles alternes, formée d'un chaume portant un épi. L'épi de blé est formé de deux rangés d'« épillets » situés de part et d'autre du « rachis » émis par une base appelée le nœud. Chaque épillet est formé d'une paire de grandes glumes externes portant chacune trois ou quatre fleurs dont chacune est constituée de deux téguments extérieurs, appelés lemma et paléa, qui renferment les organes reproducteurs. L'organe reproducteur femelle est formé d'un stigmate attaché à l'ovaire par un stylet. L'organe reproducteur mâle ou les anthères en nombre de trois sont également portés par la même fleur (Figure 1). À la maturité, le pollen germe sur le stigmate et forme le tube pollinique renfermant deux gamètes mâles qui se développent le long du stylet lors de leur migration. Quand ils atteignent l'ovule et les noyaux polaires, ils les fertilisent et forment respectivement, l'embryon et l'albumen du

grain. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscant (qui ne s'ouvre pas), appelé caryopse.



➤ **Figure 01** : Anatomie d'un épillet d'un épi de blé.(Guy le Prat,paris .1949)

D'après la classification phylogénétique de (l'Angiosperm Phylogeny Group III, 2009), le blé appartient au :

- Règne : *Plantae*
- Sous règne : *Tracheobionta*
- Embranchement : *Magnoliophyta*
- Classe : *Liliopsida*
- Sous classe : *Commelinidae*
- Ordre : *Poales (Cyperales)*
- Famille : *Poaceae*
- Sous famille : *Pooideae (Festucoideae)*
- Genre : *TriticumL.*

3. Morphologie du blé

Selon (**Belaid.,1996**), toute céréale dispose, au cours de son développement, de deux systèmes racinaires successifs :

-Le système racinaire primaire, fonctionnel de la germination au début tallage, ce système est constitué d'une racine principale ne restant pas longtemps fonctionnelle et est remplacé par un système de racines adventices (prenant naissance sur la tige) qui assureront la nutrition et le développement de la plante.

-Le système racinaire secondaire ou tallage (ou système coronaire) qui apparait au moment où la plante émet des talles ; il est de type fasciculé et assez développé.

a. Système aérien

- La tige et les feuilles : La tige creuse ou chaume, dont les entre-nœuds ne se sont allongés qu'à la montaison, porte des feuilles engainantes à nervures parallèles (**Belaid., 1996 et Soltner., 2005**).
- L'inflorescence : Le rachis, ou axe de l'épi, porte 15 à 25 épillets constitués chacun de 3 à 4 fleurs. La disposition de celle-ci fait ressortir une caractéristique d'une grande importance: le blé est une plante autogame ou à autofécondation, c'est-à-dire que la fécondation a lieu à l'intérieur des glumelles, avant que les étamines n'apparaissent à l'extérieur. De ce fait, la conservation de la pureté variétale sera parfaite d'une génération à l'autre (**Soltner., 2005**).
- Le grain : Le grain est un caryopse ou fruit sec indéhiscant dont les parois sont soudées à celles de la graine (**Belaid., 1996 et Soltner., 2005**).

b. Appareil racinaire

L'appareil racinaire du type fasciculé peu développé. 55% du poids total des racines se trouve entre 0 et 25 cm de profondeur, 17,5% entre 25 et 50 cm, 14,9% entre 50 et 75%, 12% au-delà. En terre très profonde (sols de limon), les racines descendent jusqu'à 1,50 mètre (**Hacini., 2014**).

c. Tige et feuille

La tige ne commence vraiment à prendre son caractère de tige qu'au début de la phase végétative, la tige en quelque sorte télescopée à partir d'un massif cellulaire qui forme le plateau de tallage. La tige elle-même ou chaume s'allonge considérablement à la montaison,

et porte 7 ou 8 feuilles rubanées, engainantes sur toute la longueur d'un entre nœud. Les feuilles ont des nervures parallèles et sont terminées en pointe (Hacini., 2014).

e. Èpi

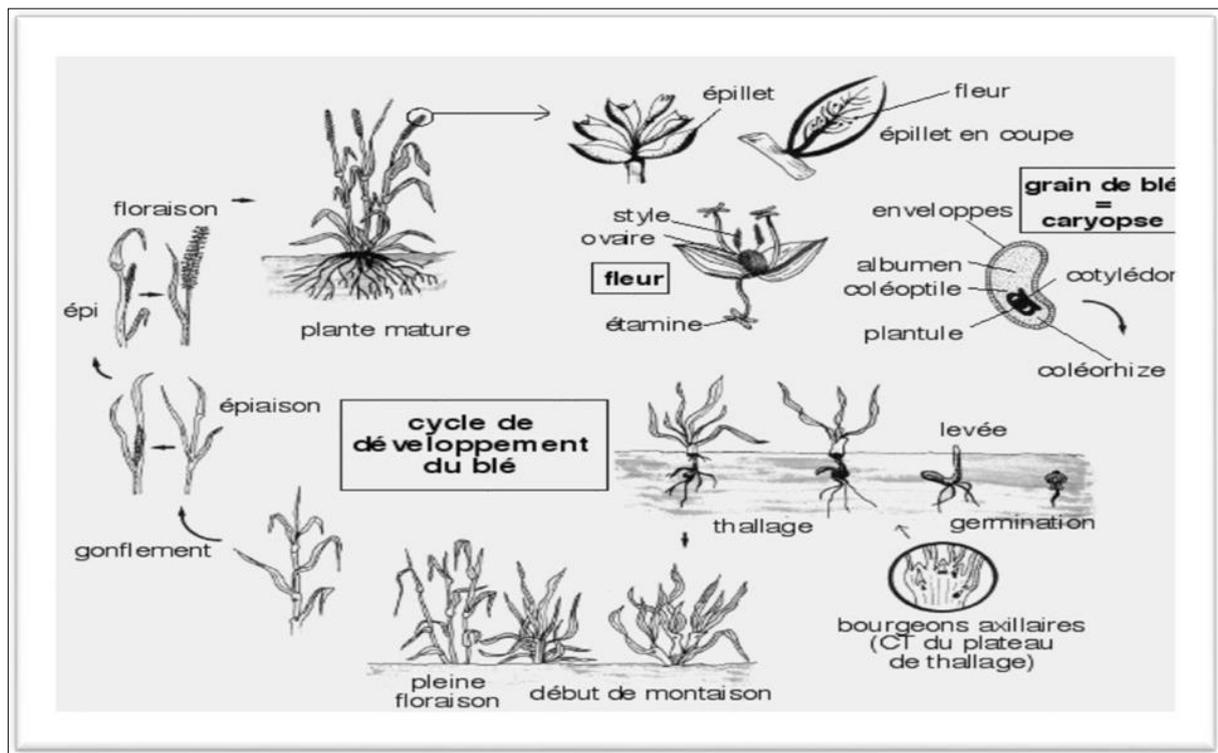
L'èpi est issu du bourgeon terminal du plateau de tallage. Lorsque le développement de la tige est terminé, l'èpi apparaît enveloppé dans la dernière feuille, L'èpi comporte une tige pleine ou rachis coudée et étranglée à intervalles réguliers et portant alternativement à droite et à gauche un épillet (Hacini., 2014).

f. Épillets

Les épillets ne comportent pas de pédoncule, il est attaché directement sur le rachis. Les épillets sont nombreux (jusqu'à vingt-cinq). Ils représentent des petits groupes de fleurs, insérés sur l'axe de l'èpi. Il est protégé à sa base par deux glumes (bractées), les fleurs sont protégées par des glumelles et des glumellules. Après la fécondation, la fleur donne naissance à un fruit unique, le caryopse ou grain, qui comporte un embryon ou germe plaqué sur les réserves (Hacini., 2014).

4. Cycle de développement du blé

Le cycle de développement du blé est représenté dans la figure 2.



➤ **Figure 2:** Schéma illustrant le cycle de développement du blé. (Stouff., 2002)

Le cycle du blé se déroule en 2 phases :

a. Phase végétative:

La semence de blé est sèche ; le grain commence par s'humidifier dans la terre. Au cours de la « germination », le germe contenu dans les semis développe une première partie s'ancrant dans le sol pour former les racines et une autre pointant vers la surface. La température minimale de germination des grains se situe entre 3 et 4°C. Contrairement à d'autres plantes, les racines des céréales ne pénètrent pas profondément dans le sol, elles sont disposées horizontalement.

b. Période reproductrice:

Les premières pousses sont visibles après 10 jours de la semence, c'est la « levée ». La plante commence réellement sa croissance durant les mois d'hiver pour donner de petites pousses en fin de saison. A un même niveau de la tige et à la base de la plante se constitue une touffe herbacée, cette étape est appelée « tallage ». Commence alors la période dite de « montaison », phase pendant laquelle la plante pousse rapidement si le temps et l'humidité le permettent et au cours de laquelle elle met de nouvelles feuilles. Fin mai l'épi se forme, c'est « l'épiaison ». La « floraison » ne débutera que lorsque la température dépassera les 14°C. La période de « maturation » des grains qui requiert de la chaleur et du temps sec, se fera en plusieurs étapes : la maturité laiteuse (le grain contient encore 50% d'humidité et le stockage des protéines touche à sa fin), la maturité jaune (le grain a perdu en humidité et a été constitué), et la maturité complète (la teneur en humidité atteint 20%). La période des « moissons » commence lorsque le grain est mûr et prêt à être récolté (zeitoun2011).

5. Maladies de blé

5.1. fusariose de l'épi chez le blé :

La fusariose de l'épi est une maladie qui affecte le blé. Elle entraîne de perte de rendement, mais ce sont surtout les toxines produites dans le grain par les champignons pathogènes qui causent le plus de problèmes à toute la filière des grains. La production de blé, en raison de leur importance dans notre contexte agricole, sont particulièrement affectées par cette maladie.

Dans un champ de blé, la présence d'un ou de plusieurs épillets décolorés sur les épis verts indique la présence de la maladie (figure 3). Sur ces épillets, on peut parfois observer une coloration rose ou orangée qui correspond aux fructifications du champignon.

La distribution et le nombre des épillets infectés sont variables; ils peuvent être regroupés sur une section de l'épi, la presque totalité de l'épi peut être affectée ou encore, on peut observer des symptômes qui sont plutôt limités à de rares épillets décolorés.



➤ **Figure 3** : Fusariose de l'épi du blé (<http://www.sebastienchampion.fr>).

5.2. Maladies causant des pourritures racinaires

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

Les agents pathogènes responsables des pourritures racinaires sont le *Fusarium sp.* (*Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum*) qui induisent la pourriture sèche du collet, favorisés par les sols humides, ils envahissent le collet, les racines ou les gaines foliaires. Ces agents peuvent provoquer la pourriture des semences et la brûlure des semis, donnant lieu à la pourriture du collet, de la tige et des racines (figure 4).



➤ **Figure 4**: Pourriture racinaire du blé

Chapitre02 :Le genre *Fusarium*

1. Taxonomie

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

Le genre *Fusarium* renferme plusieurs espèces de champignons, il a été décrit pour la première fois par Link en 1809 (Heit, 1989). L'étymologie de son nom vient du latin *fuscus* (fuseau) en référence à la forme particulière de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées (Siou, 2013). Il appartient au phylum des Ascomycota, à la classe des Sordariomycetes, à l'ordre des Hypocreales et la famille des Nectriaceae (Link, 1809).

1.1 Classification du genre *Fusarium* :

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

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

2. La maladie de la fusariose

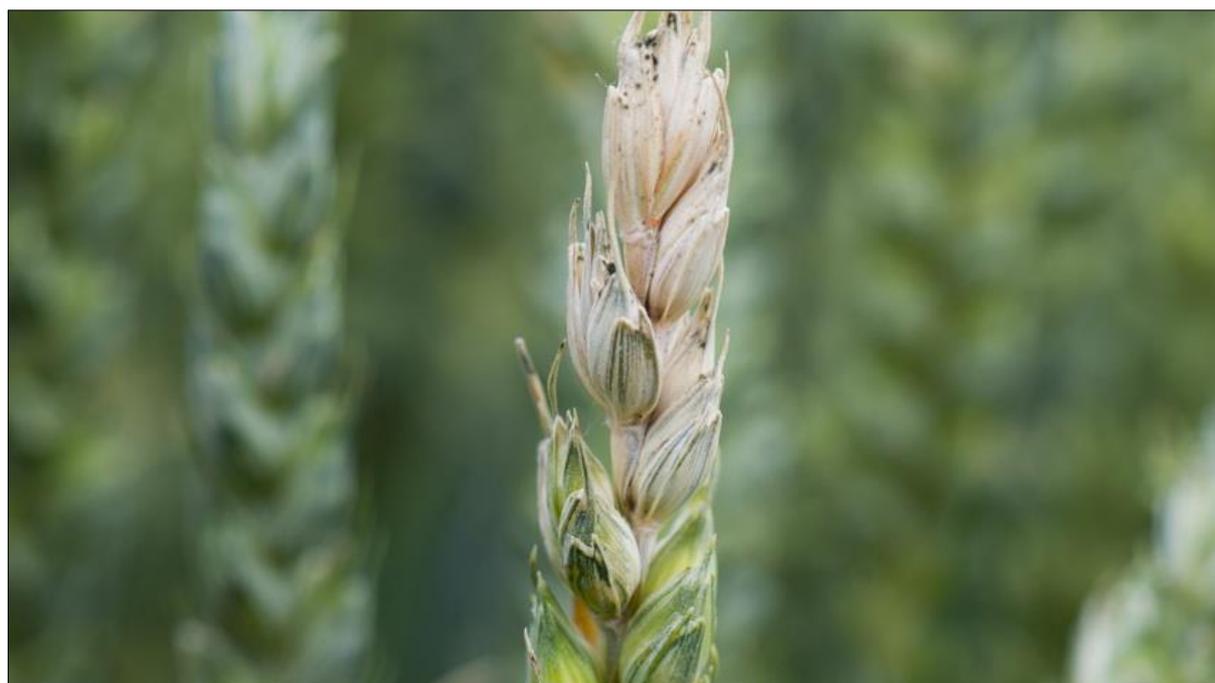
2.1. Généralités

La fusariose est une maladie causée par des champignons du genre *Fusarium* qui vivent dans le sol, et attaquent de nombreuses plantes (**Bedrane., M.2017**).

Durant ces dernières années, les symptômes de la Fusariose sont devenus très fréquents au Niveau des champs de blé en Algérie. Compte tenu des pertes considérables qui peuvent être Engendrées sur les rendements associés aux risques de mycotoxines que présentent certaines Espèces de *Fusarium* sur la santé des humains et des animaux d'élevage.

1.1.Symptômes :

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



➤ **Figure 5 : Fusariose du blé (www.agro.basf.fr)**

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

- ✓ *Fusariose* des semences: provoquent des manques à la levée et desfontes des semis –
- ✓ *Fusariose* du collet : symptômes se manifestent par des nécroses sur les talles inférieures, le collet, entre noeuds, et brunissement de la partie supérieure des racines.
- ✓ *Fusariose* de l'épi: La fusariose des épis de blé est caractérisée par le

flétrissement des épis et une sénescence prématurée, les épis apparaissent alors blanchâtres. Les grains de blé fusariés sont petits, légers, ridés et parfois couverts d'un duvet blanc rose. Si l'infection est plus tardive, les grains peuvent être de taille normale mais ils se décolorent en rose.

Figure 6 : Principaux symptômes de *fusariose* de l'épi sur épi et grain de blé.

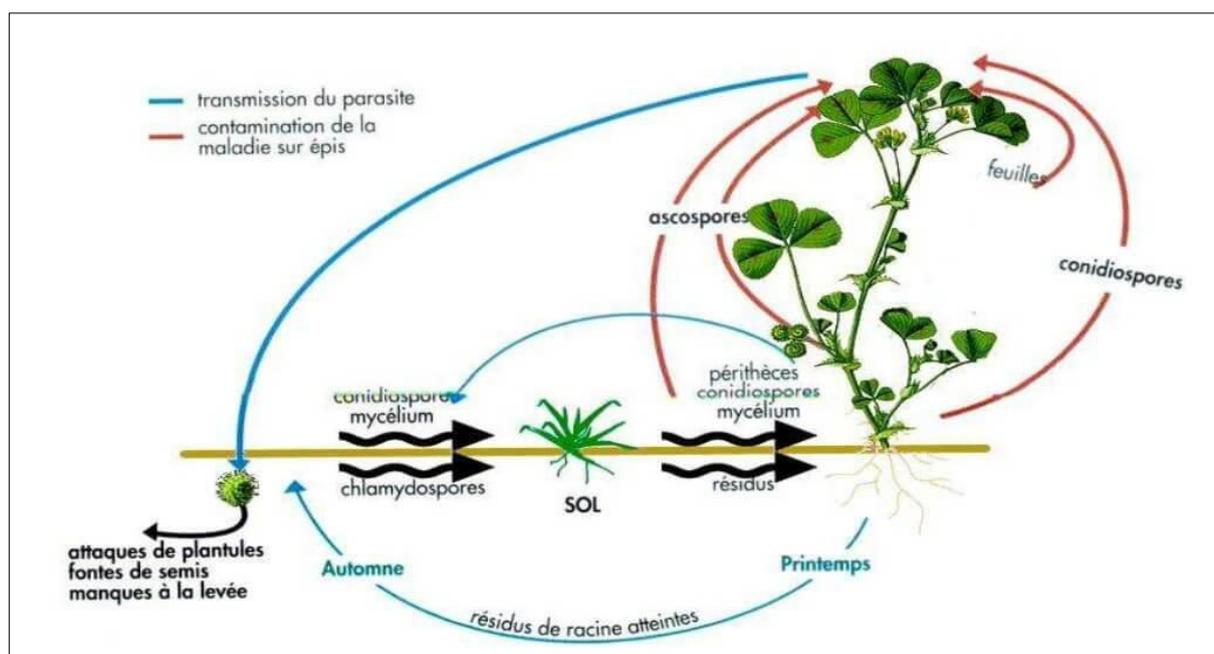


➤ **Figure 6** : Principaux symptômes de *fusariose* de l'épi sur épi et grain de blé.

2. Cycle biologique de la maladie :

La fusariose est considérée comme une maladie polycyclique, mais l'inoculum primaire est la source principale d'inoculum pour l'apparition de la maladie (**Ballois., 2012**). Cet inoculum primaire se trouve sur les résidus de culture antérieure infectés qui permettent, après la récolte, le développement de périthèces et donc d'ascospores. Les périthèces permettent au champignon de passer l'hiver sous cette forme de conservation.

Lorsque des conditions favorables à l'ouverture du périthèce sont réunies, c'est-à-dire obscurité et humidité suffisante, les ascospores se diffusent dans l'air ce qui permet la colonisation des fleurs, de la tige voire des grains par ces ascospores. L'infection peut intervenir à différents stades de développement de la plante-hôte puisque la pénétration du champignon se fait par les zones dites sensibles, c'est-à-dire des ouvertures de tissus dues à la sénescence, par les anthères après la floraison, ou encore par le péricarpe, le champignon progressant entre lemme et palea (**Kang et Buchenauer., 2002**)(Figure 7) .



➤ **Figure 7:** cycle de développement de la maladie (Caron, 2000).

3. Les mycotoxines :

Outre les pertes quantitatives qu'ils occasionnent, les champignons du genre *Fusarium* produisent de mycotoxines dans les grains et les rendent impropres à la consommation (JOUANY, 2007 ; KELLER, 2011).

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (PRANDINI et al. 2007).

Elles peuvent être produites avant la récolte et donc retrouver dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales. Elles diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production.

Peu labiles, elles sont souvent actives à très faibles doses, thermostables, stables dans le temps et résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation.

Ainsi, lorsqu'elles sont présentes dans le grain, elles persistent tout au long de la chaîne alimentaire. Les fusariotoxines (produites par les *Fusarium*) sont diverses : trichothécènes A et B (TCT A et B), zéaralénone (ZEA) et fumonisine.

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

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

4. Les moyens de lutte contre les champignons de *Fusarium* :

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

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

4.1. Moyens de luttés culturaux :

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

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

4.2.Moyens de luttés physiques :

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

après. Cela stimule la croissance des racines. La taille des racines amène aussi une protection contre la fusariose pour la même raison. La stérilisation ou la solarisation ne sont pas des solutions à long terme.

5.3. Moyens de luttés chimiques :

L'utilisation des fongicides cette dernière décennie est devenue très répandue car elle s'est révélée efficace de 50 à 70% dans la réduction de la maladie une fois appliqué aux temps appropriés. Parmi les fongicides utilisés contre la fusariose du blé on peut citer :

fludioxonilbenomyl, le *tubuconazole*, *l'azoxystrobine* et le mancozeb, il se peut que le *tubuconazole* et *l'azoxystrobin* pourraient augmenter la production de mycotoxines (DON) ce qui représente l'inconvénient de l'utilisation de ces fongicides (**KHAN ET AL., 2011 ; DAMMER ET AL., 2011**).

4.3.La lutte biologique :

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

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

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

Chapitre03 :Le genre *Trichoderma*

1. Définition :

Le genre *Trichoderma* comprend un grand nombre de moisissures imparfaits saprophytes qui se retrouvent couramment dans plusieurs écosystèmes (Johanne, 2002), sont communes dans presque tous les sols agricoles, le bois décomposé et les autres matières organiques végétales (Saba, 2012 ; Esposito et Silva, 1998).

Le *Trichoderma* est une moisissure bénéfique peut s'avérer particulièrement efficace dans la lutte de plusieurs microbes pathogènes parce qu'il a un large spectre d'activité contre ces microbes avec sa capacité à coloniser les racines des plants avant les mauvais champignons par une association de type mycorriza-like (Saba, 2012).

Les isolats de *Trichoderma* sont identifiables grâce à leurs pigments conidiens verts typiques (conidies) ou blancs (phialides) et à leur structure de conidophores branchés, certaines espèces produisent une odeur de sucre ou de « noix de coco » due à un composé volatil biologiquement actif (6-pentyl- α -pyrone) (Yariv, 2016). Ils sont capables de se développer rapidement par l'utilisation d'une large gamme de substrats d'origines naturelle ou chimique bien que leurs besoins nutritionnels faibles (Domenico, 2011).

Les *Trichoderma spp.* sont des producteurs efficaces d'enzymes extracellulaires comme la cellulase qui permet de dégrader de la cellulose, ces enzymes sont soit impliquées dans la suppression de maladies des plantes, soit employées dans les industries alimentaires (Romain2018).

2. Taxonomie :

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

Le genre *Trichoderma* avait été introduit à l'origine par Persoon en 1794. En 1865, les frères

Tulasne ont bien illustré le lien entre *T. viride* et la forme sexuée *Hypocrearufa* (PERS.) Fr. (SAMUELS, 2006).

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

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

- ✓ *Trichoderma piluliferum* WEBSTER ET RIFAI
- ✓ *Trichoderma polysporum* (LINK) RIFAI
- ✓ *Trichoderma hamatum* (BONORD.) BAINIER
- ✓ *Trichoderma koningii* Oudem
- ✓ *Trichoderma aureoviride* RIFAI
- ✓ *Trichoderma harzianum* RIFAI
- ✓ *Trichoderma longibrachiatum* RIFAI
- ✓ *Trichoderma pseudokoningii* RIFAI
- ✓ *Trichoderma viride* PERS. : Fr.

BISSET dans ses travaux (1984, 1991A, 1991B, 1991C) a inclut des souches préalablement étudiées par RIFAI (1969), mais les deux auteurs ont abouti à des conclusions différentes à propos de l'identité des espèces chez le genre *Trichoderma*. BISSET (1991A) a essentiellement érigé les espèces de RIFAI (1969) au rang de section, et reconnu 5 sections et dans chaque section, a identifié deux à plusieurs espèces. Les sections de *Trichoderma* décrites par BISSET (1991A) sont :

- ✓ La section *Trichoderma*
- ✓ La section *Longibrachiatum* BISSET
- ✓ La section *Saturnisporum* DOI ET AL
- ✓ La section *Pachybasium* SACC.
- ✓ La section *Hypocreanum* SECT.NOV

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

repose essentiellement sur la phylogénie basée sur l'analyse de l'ADN (SAMUELS, 2006).

3. cycle biologique :

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

4. Mode d'action :

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

l'antibiose qui résulte de la production de substances qui agissent comme des «antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène; la compétition qui se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables.

le parasitisme qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui «injectant » des substances (enzymes) qui le détruisent.

Trichoderma possède une batterie de mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais qui demeurent toutefois complexes. Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène. Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires en présence et les conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc...).

Trichoderma est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Il permet, au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Le même effet est observé lorsqu'il est utilisé en pulvérisation aérienne. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes.

5. Utilisation de *Trichoderma* dans la lutte biologique :

L'utilisation de *Trichoderma* comme agent de lutte biologique, nécessite l'étude de la prolifération, du mécanisme biologique et les facteurs de l'environnement qui gouvernent *l'interaction* entre l'antagoniste et le champignon *phytopathogène*.

Le champignon *Trichoderma* est considéré comme un facteur essentiel dans la lutte biologique puisque la plupart de ces espèces interviennent dans la lutte des microorganismes nocifs, en particulier les champignons comme *Phytophthora* infestants. Le genre *Trichoderma* se trouve souvent dans la terre ou sur les constituants des plantes, et leur croissance est rapide (**Gary,1998**). L'efficacité du genre *Trichoderma* dans l'inhibition des organismes pathogènes repose surtout sur leur capacité à produire plusieurs substances ou antibiotiques tels que (**Viridine, Gliotoxine...**). Ces derniers sont considérés comme des armes contre les organismes *phytopathogène*.

Le genre *Trichoderma* produit également des enzymes (cellulase, chitinase qui provoquent la lyse du *Phytophthora* dans la pomme de terre (**Bennani, 2004**).

***Matériel &
Méthodes***

III. Matériel et méthodes

1. Matériel fongique

L'objectif principal de notre travail est l'étude de l'effet antagoniste de la *Trichoderma* sp. vis-à-vis l'agent pathogène responsable de la fusariose du blé *Fusarium culmorum* sous des conditions environnementales contrôlées (en serre et chambre de culture).

.1.1. Agent pathogène

L'agent pathogène *fusarium culmorum* utilisé dans cette étude a été isolé à partir de blé fusarié dans les champs de blé et a été identifié sur milieu PSA dans le laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'université Frères Mentouri Constantine 1 .

1.2.Agent antagoniste

La souche *Trichoderma* est obtenue à partir de la mycothèque du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales. L'isolat de *Trichoderma* a été utilisé pour évaluer l'activité antagoniste in vivo à l'égard d'isolat de *Fusarium* sp.

2. Matériel végétal :

Pour tester l'effet antagoniste du genre *Trichoderma* à l'égard du champignon du genre *Fusarium* responsable de la fusariose du blé, une variété de blé dur (*Triticum durum*) GTADUR a été utilisée .Cette variété d'origine mexicaine est bien connue pour ses caractéristiques importantes à savoir un rendement élevé, un Poids de Mille Grain moyen, une qualité semoulière bonne et une teneur en protéines de 13,36 %, résistante au froid et à la sécheresse, moyennement résistante à la verse, mais cette variété est très sensible à la fusariose du blé et (Lounes et Guerfi, 2010., Boulala et Rouabeh, 2017). C'est cette dernière caractéristique qui est recherchée dans notre étude pour tester le pouvoir des champignons du genre *Trichoderma* à anéantir les champignons du genre *Fusarium*.

3. Méthodes

Toute la partie expérimentale a été effectuée dans 7 mois au niveau du Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, de l'Université Frères Mentouri Constantine 1.

3.1. Préparation de la suspension sporale de l'agent pathogène et l'agent antagoniste :

Le *Fusarium* a été cultivé sur 6 boîtes de Pétri sur milieu PSA pendant 45 jours. Dix millilitres d'eau distillée stérile avec 0,05% (v/v) de Tween 20 ont été ajoutés à la partie aérienne du mycélium sur la surface de chaque plaque, puis soigneusement raclée jusqu'à ce que la partie supérieure du champignon soit récupérée. Le mélange de macroconidies, de mycélium et de milieu PSA a été récupéré dans un béccher puis filtré à travers une double couche d'étamine. La concentration de la suspension de macroconidies qui est de 5.8×10^6 macroconidies/ml a été ajustée en utilisant la cellule de Malassez, pour le test d'inoculation de l'épi en serre. Le même protocole a été suivi pour la préparation de la suspension sporale de *Trichoderma*, sauf que la concentration est différente et la culture sur milieu PSA n'a duré qu'une semaine (sporulation rapide), avec une concentration de 10^8 spores/ml, pour le test d'inoculation des épis en serre. Tous les inocula ont été conservés à 4 °C jusqu'à leur utilisation. Propos du test du collet, des disques fongiques (13 mm de diamètre) de champignon *Fusarium* ont été utilisés, ils ont été obtenus à partir de jeunes cultures de 7 jours sur milieu PSA.

3.2. Test des grands pots pour la maladie des épis dans la serre :

Un total de 30 pots (24 × 20 cm) divisé en 6 cas (5pots/cas) a été utilisé pour cette expérience (A : agent antagoniste ; p : agent pathogène):

Cas 01 : témoin négatif sans inoculation.

Cas 02 : graines traitées avant semis avec (A) + pulvérisation avec (A) ensuite inoculation avec (p).

Matériel et méthodes

CAS 03 : traitement de l'épi avec (A) seulement.

Cas04 : témoin positif avec (P).

Cas05 : graines traitées avant semis avec (A) + inoculation avec (P)

Cas06 : traitement de l'épi avec (A) ensuite inoculation avec (P)

Les pots remplis d'un mélange de terre/compost (1/2) préalablement stérilisé à 180° pendant 2 h (2 répétitions à 24 h d'intervalle) ont été utilisés. Cent cinquante graines du cultivar GTAdur ont été stérilisées en surface avec 2% de NaClO pendant 5 minutes, puis rincées 3 fois avec de l'eau distillée. Les graines ont été semées (5 graines/pot) sous la surface du sol à environ 2 cm sauf dans les deux cas (2 et 5) où les graines sont émergées dans la suspension de *Trichoderma* avant semis. Les pots ont été placés dans la serre et arrosés tous les 3 jours. Après quelques jours la solution nutritive NPK (0,675g par pot) a été rajoutée.

La pulvérisation avec l'agent antagoniste a eu lieu une semaine après l'inoculation avec l'agent pathogène qui a eu lieu au stade de la floraison (Zadoks' GS 60) pour chaque épi entre le premier et le troisième jour après l'émergence des premières anthères. L'émergence des anthères a été étiquetée.

L'inoculation avec la suspension macroconidienne de *Fusarium culmorum*, préparée précédemment comme indiqué ci-dessus, a été effectuée en pulvérisant environ 2 ml de suspension sur les deux côtés de l'épi, dans une cage en plexiglas. Les épis ont été ensuite recouvertes d'un sac en polyéthylène transparent pendant 72 h afin de maintenir une humidité relative maximale, nécessaire pour les premiers stades de développement du champignon. Après 15 jours d'inoculation, une évaluation visuelle de la maladie a été réalisée pour chaque épi en comptant le pourcentage d'épillets symptomatiques (PSS) de chaque épi inoculé.

Environ 6 à 9 épillets ont été notés dans chaque pot. La notation des PSS des épis a été également réalisée pour chaque épi.

Pour calculer l'indice de maladie (DS), le pourcentage de réduction de DS est mesuré comme suit :

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

c : la classe de la maladie

Matériel et méthodes

f : fréquence

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

n : nombre d'observations

A maturité, chaque épi a été récolté. Les épis ont été égrenés à la main afin de récupérer tous les grains qui ont été comptés et pesés afin d'obtenir le poids de mille grains (PMG) de la variété inoculée.

3.3. Test des petits pots pour la maladie du collet dans la chambre de culture :

75 pots de (8 × 12 cm) divisé en 5 cas (15 pots par cas) ont été utilisés pour la réalisation de cette expérience:

Cas1 : témoin négatif.

Cas2 : témoin positif (insertion des discs de l'agent pathogène)

Cas3 : graines enrobées par l'agent antagoniste seulement.

Cas04 : graines enrobées par l'agent antagoniste +inoculation avec les discs de l'agent pathogène.

Cas05 : plantules pulvérisé avec l'agent antagoniste (A) une semaine avant inoculation avec les discs de l'agent pathogène (p).

pour chaque pot, 5 graines de blé GTAdur ont été stérilisées et semées sauf les cas (3,4) où les graines étaient submergées dans la suspension d'antagoniste avant le semis. Tous les pots ont été placés dans la chambre de croissance (25 jours /19 C°) .

Vingt-cinq jours après la plantation, les semis ont été inoculés à la base de la tige par un disque de 13 mm de pathogène (P) qui a été placé dans les cas concernés. La terre a ensuite été remise en place autour des tiges, et les pots ont été organisés selon notre plan. Après une semaine, les cas concernés étaient pulvérisés par l'antagoniste (A). Trois semaines après l'inoculation, les plantes ont atteint le stade du début du tallage (Zadoks' GS 20), chaque plante a été soigneusement retirée du sol et lavée avec de l'eau du robinet.

Les classes de gravité de la maladie ont été attribuées sur la même échelle et le DS a été calculé en utilisant l'indice de McKinney (1923), comme indiqué ci-dessus

Pour mesurer l'efficacité du bio-contrôle (A) contre le (P), le pourcentage de réduction de la maladie est mesuré comme suit : $DS = [\sum(c \times f) / n \times N] \times 100$.

À la fin, la longueur et le poids de chaque plantule ont été mesurés.

Résultats & Discussion

IV. Résultats et discussion

Le présent travail porte sur la lutte biologique contre le champignon phytopathogène *Fusarium*, agent causal de la maladie de fusariose du blé, par l'utilisation de souche d'un champignon antagoniste du genre *Trichoderma*. Pour l'étude statistique nous avons utilisé le programme excel.

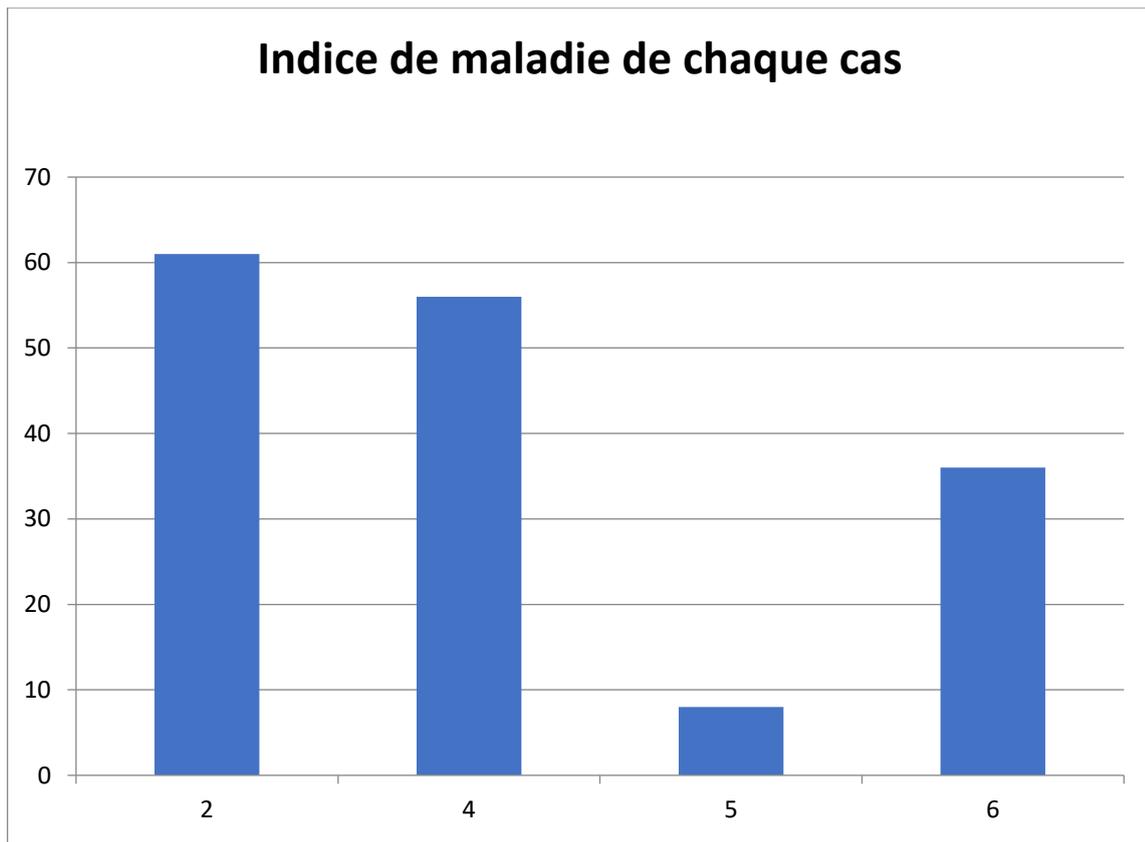
1. Test des grands pots :

1.1.Indice de maladie :

Les résultats du traitement des épis avec l'agent pathogène et /ou l'agent antagoniste sont représentés dans le tableau et figure suivants:

➤ **Tableau 02 : les moyennes de l'indice de maladie**

Num cas	Répétition01(%)	Répétition02(%)	Répétition03(%)	La moyenne (%)	Écart type
2	45.62	60.62	76.85	61.03	15 .62
4	76.71	72.63	19.87	56.40	31.70
5	11.07	7.37	7.31	8.58	2.15
6	48.8	30.8	30.2	36.60	10.57
cas N01: témoin négatif					
cas N03: Traitement de l'épi (A1) seulement					



➤ **Figure 08** : *les moyennes de l'indice de maladie*

Résultats et discussion

D'après la figure (08) et tableau (02), les résultats obtenus montrent que l'indice de maladie est très élevé dans le cas 2 (graines traitées avant semis avec (A) + pulvérisation (A) ensuite inoculation avec (p)), et aussi le cas 4 (témoin positif), la valeur de l'indice diminue dans le cas numéro 6 (traitement de l'épi (A) ensuite inoculation avec (p)), le cas 5 (graines traitées avant semis ensuite (p)) marque la valeur la plus faible.

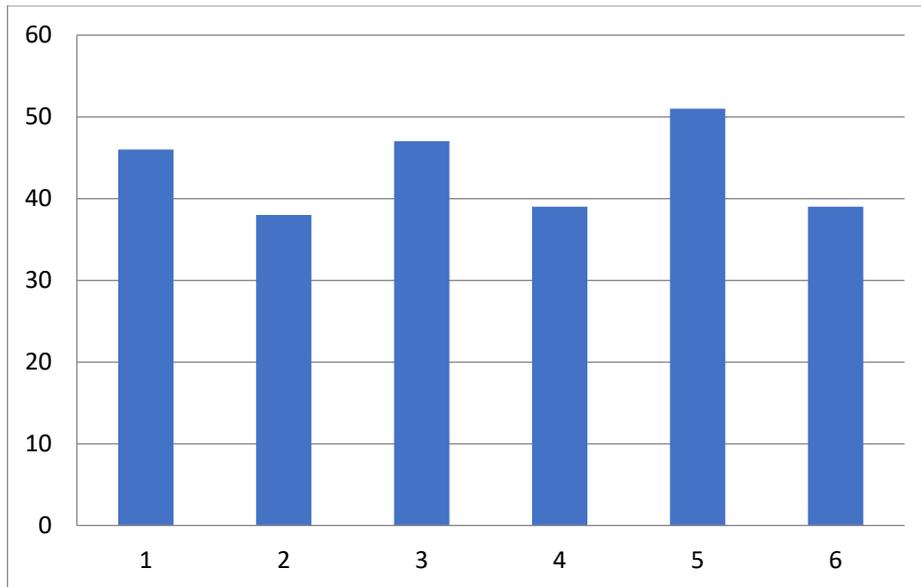
1.2.Poids de mille graines :

Les résultats du pmg sont représentés dans le tableau 03 et figure 09 :

➤ **Tableau 03 :** *les moyennes de PMG de chaque cas*

Cas	répétition1			répétition2			répétition3			La moyenne de PMG	L'écart types de PMG
	N° grains	poids	PMG	N° G	Poids	PMG	N° G	Poids	PMG		
1	430	19.46	45.25	392	18.44	47.04	400	19.1	47.75	46	1.15
2	319	11.4	35.74	279	10.78	38.64	345	14.07	40.78	38	2
3	357	16.29	45.63	294	16.08	54.69	342	17.05	49.85	47	7.55
4	258	9.68	37.52	251	11.04	43.98	310	10.41	33.58	39	5.03
5	187	10.28	54.97	204	8.46	41.47	279	14.95	53.58	51	7.51
6	472	18.5	39.19	324	12.76	39.38	400	14.82	37.05	39	1.53

Résultats et discussion



➤ **Figure 09 :** *les moyennes du poids de mille graines*

Les moyennes de poids de mille graines calculées pour chaque cas sont présentées dans la figure 09 et le tableau (03).

Les résultats obtenus montrent que le cas 5 marquent la valeur la plus élevée, les cas 1 et 3 inscrivent presque les mêmes chiffres, le cas 4 et 6 enregistrent les mêmes valeurs. Le cas numéro 2 marque la valeur la plus faible.

2. Teste de petits pots :

2.1. Indice de maladie :

Les résultats du traitement avec l'agent pathogène et /ou l'agent antagoniste sont représentés dans le tableau et figure suivants:

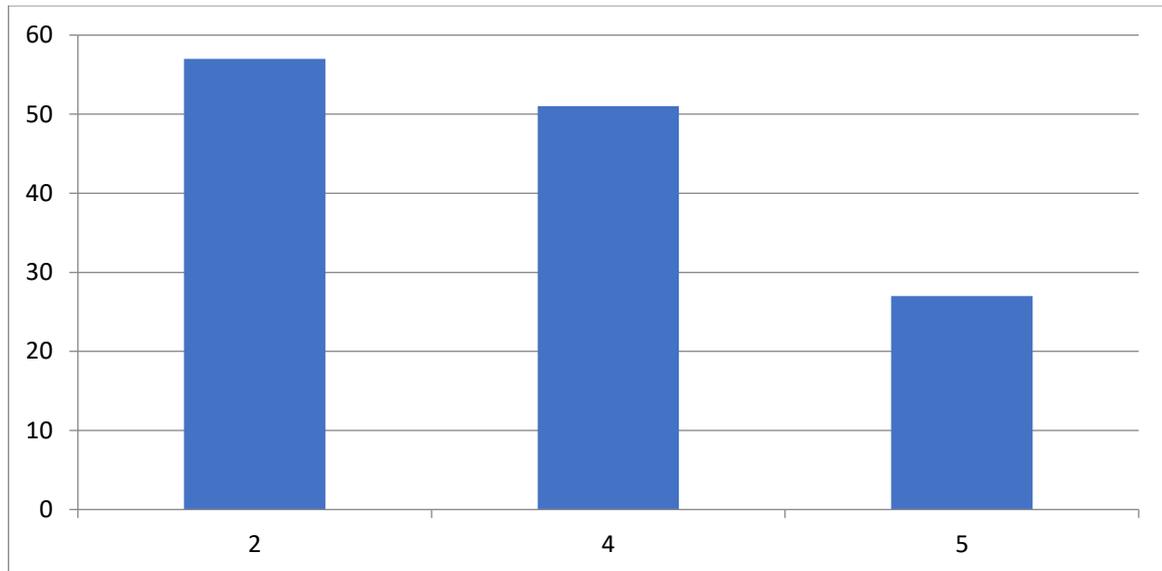
➤ **Tableau 04:** *les moyennes de l'indice de maladie*

Cas numéro	répétition01(%)	répétition02(%)	répétition03(%)	La moyenne (%)	L'écart types
2	53.33	46.67	71.67	57.33	13.05
4	51.67	45	56.67	51.33	6.02
5	18.33	31.67	31.67	27.33	8.08

cas N01: témoin négatifs

cas N03: graines enrobées (A) seulement

Résultats et discussion



➤ **Figure 10** : Les moyennes de l'indice de maladie de chaque répétition

Nous constatons à travers le tableau (04) et figure (10) que la moyenne d'indice de maladie est très élevée dans le cas 2 (témoin positif) et descend un peu dans le cas 4 (graines enrobées (A) ensuite inoculation avec disc (P)), l'indice marque une valeur la plus faible dans les cas 5(Plantules pulvérisées (A) une semaine avant inoculation (p)).

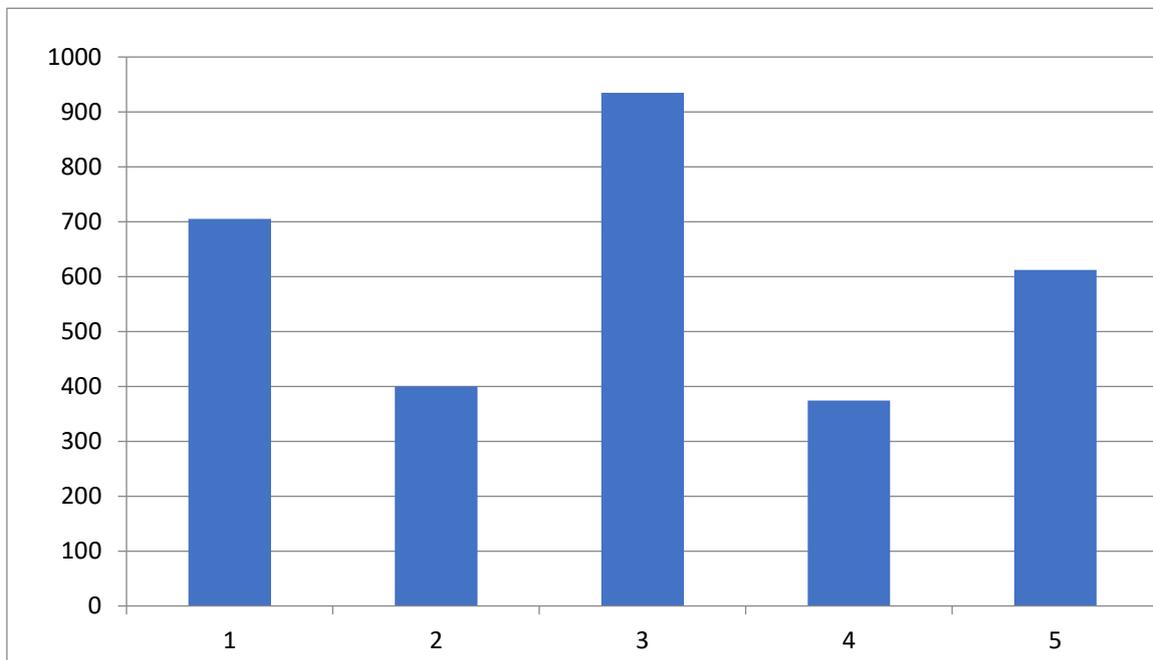
2.2.Les moyennes de poids et de longueur des coléoptiles :

Les moyennes de poids et de longueur des coléoptiles sont représentées dans le tableau et les figures suivants :

Résultats et discussion

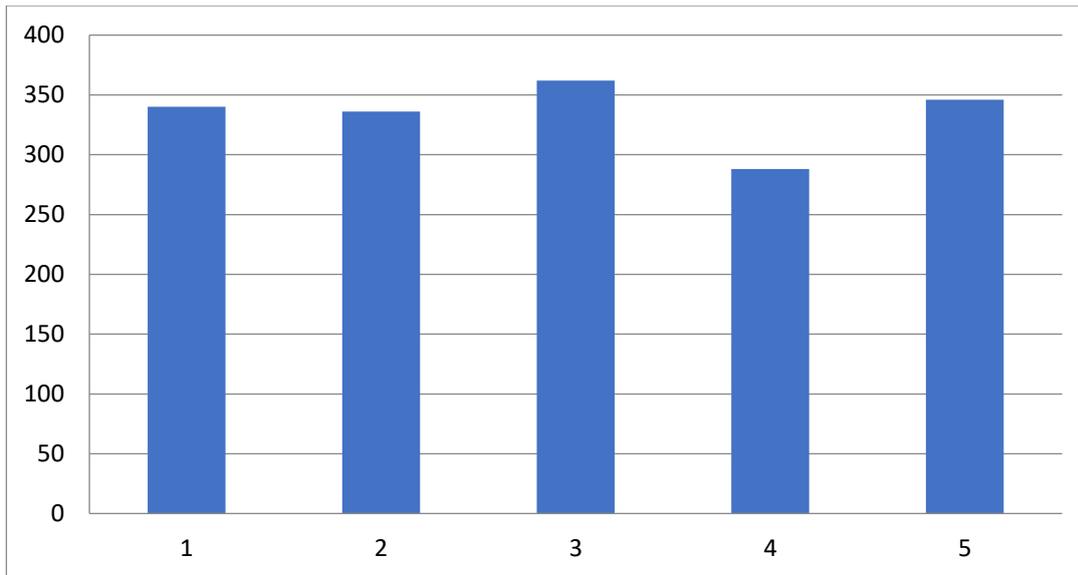
➤ **Tableau 5 : les moyennes de poids et longueur des coléoptiles**

cas	Répétition 1		Répétition 2		Répétition 3		Les moyenns		L'écart types	
	Poids mg	Longueur mm	poids	longueur	poids	longueur	poids	De longueur	poids	longueur
1	635.41	360.27	635.09	306.67	844.91	351.93	705	339.67	121.24	28.57
2	347.32	279.47	434.78	276.33	417.47	282.67	399.67	336	46.49	74.95
3	1113.49	401.47	981.47	388.8	709.93	334.33	935.33	361.50	206	38.89
4	422.38	281	356.10	271.07	390.62	312.20	373.50	288	24.75	21.38
5	619.36	302	649.87	342.73	604.79	389.47	612	346	9.90	62.22



➤ **Figure 11 : les moyennes de poids des coléoptiles**

Résultats et discussion



➤ **Figure 12 :** *Les moyennes de longueur des coléoptiles*

Les moyennes de poids et longueur de coléoptile calculées pour chaque cas est présentée dans le tableau 5 et les figures 11 et 12. Les résultats obtenus montrent que les valeurs enregistrées dans le cas 3 sont les plus grandes (935,33mg ,361,5mm) , le cas 1 marque des valeurs importantes également (705mg , 339,66 mm) , aussi le cas numéro 5 (612mg ,346 mm). Des valeurs relativement faibles sont enregistrées pour les cas 2 (399,66mg,336mm) et 4 (373.5mg, 288mm), respectivement.

Résultats et discussion

Dans cette étude, l'activité antagoniste de *Trichoderma* a été évaluée *in vitro* et *in vivo* contre la souche de *F. culmorum*, responsable commun de la FCR et de la FHB dans le blé. *Trichoderma* est un champignon non pathogène qui protège les cultures contre les maladies fongiques causées par le genre *Fusarium* (TsegayeRedda et al.2018). Il est utilisé comme agent de biocontrôle, évitant les effets indésirables qui accompagnent la lutte chimique. Les techniques de double culture, décrites par de nombreuses études antérieures, ont été largement utilisées dans les tests d'activités antagonistes (Srivastava et al.2010). Selon (Erginbas-Orakci et al. (2016), l'inoculation avec la souche (P) a été effectuée par un disque autour des tiges (test des petits pots), et le traitement est également appliqué de différentes manières. Les résultats obtenus en chambre de croissance ont montré que la moyenne d'indice de maladie est plus élevée 57.33% dans le cas 2, alors qu'une diminution très significative du DS% a été enregistrée dans les pots traités avec la souche (A), 51.33% (cas 4) et 27,33% (cas 5) respectivement, (Tableau 03 et figure3)., les tests *in vivo* en serre (grands pots), l'application de l'isolat (A) contre la souche (p), a conduit à une réduction significative de la norme DS de FHB dans le cas 5 (8.58%) et cas 6 (36,6%) à part le cas 2 (61.03%), la valeur moyenne du témoin positif est de 56.40 % (tableau 1 et figure 1). On remarque que la moyenne d'indice de maladie est plus faible dans le cas 5 dans les deux tests est plus élevée dans le cas 2.

Les résultats obtenus concernant les moyennes de PMG (test l'épi) marquent des valeurs élevées dans les cas traités et pulvérisés seulement cas 5 (51mg) et cas 3 (47mg) le témoin positif cas4 enregistre 46 mg le témoin négatif et les cas traités et inoculés (cas 6 et cas 2) marquent les valeurs les plus faibles 39, 39 et 38 mg, respectivement (tableau 2 et figure 2). La croissance de la coléoptile dans le test du collet est notée. Une croissance plus importante pour le cas 3 (les graines enrobées) de 935,33mg, 361,5mm, aussi le cas 1(témoin négatif) et 2 (graines pulvérisées ensuite inoculées) enregistrent des valeurs importantes 705mg, 339,66 mm, 612mg, 346 mm, respectivement, une valeur relativement faible est marquée dans le témoin positif (cas2) de 399,66mg, 336mm, la valeur la plus faible est enregistrée dans les graines enrobées et ensuite inoculées par le disc pathogène. Par conséquent, le présent travail était le premier à utiliser *Trichoderma* comme un agent de biocontrôle en Algérie. L'identification des espèces à l'aide d'outils de caractérisation moléculaire est très utile pour répondre à la question de savoir si un taxon particulier est présent sur des hôtes ou des plantes particulières (Abd-Elsalam et al. 2010). Cela permettra de réduire la sévérité des maladies FCR et FHB du blé en utilisant l'agent de biocontrôle et méthode la plus appropriée.

*Conclusion &
perspectives*

V. Conclusion générale et perspectives

En conclusion, l'agent de biocontrôle pourrait jouer un rôle important dans la protection du blé. On a utilisé différentes méthodes dans cette étude, parmi les méthodes utilisées dans ces tests pour traiter les graines, les enrobassions, la pulvérisation ou les deux techniques ensembles.

Les résultats obtenus montrent que les méthodes utilisées dans les cas 5 dans chaque étude sont les plus efficaces soit les graines enrobées seulement dans le test des grands pots (FHB) soit la pulvérisation uniquement dans le test des petits pots (FCR) par rapport aux moyennes de l'indice de maladie aussi les moyennes de PMG et les moyennes de longueur et poids du coléoptiles.

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

En résumé, les résultats de cette modeste recherche nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel antagoniste de *Trichoderma* à l'égard des souches de *Fusarium* testées.

Trichoderma évaluée pour la première fois en Algérie en tant qu'agent de biocontrôle est recommandé comme traitement préventif sans affecter le rendement et sans influencer les propriétés physiques des grains.

En perspectives, il serait intéressant de tester plus de variétés de blé dur et tendre et plus de souches antagonistes sur différentes espèces pathogènes de *Fusarium* pour avoir une idée générale sur le comportement des espèces pathogènes ainsi que les agents antagonistes et mesurer la résistance des variétés de blé aux différentes attaques.

Résumés

VI. Résumés :

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est l'une des céréales les plus importantes au monde. Malheureusement, la plante de blé est la cible de plusieurs espèces du genre *Fusarium*. Ce genre provoque deux maladies graves : la fusariose du collet et la fusariose de l'épi.

Le présent travail a été effectué dans le but de l'étude *in vivo* de l'effet d'antagonisme de *Trichoderma* sp. Sur *Fusarium culmorum* L'agent causal de la fusariose du blé, en utilisant deux tests l'un du collet et l'autre de l'épi.

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

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

Mots clés : Blé, *Trichoderma*, *Fusarium culmorum*.

Abstract

Durum wheat (*Triticum durum* Desf.) is one of the most important cereals in the world. Unfortunately, the wheat plant is the target of several species of the genus *Fusarium*. This genus causes two serious diseases: *fusarium* head blight and fusarium head blight.

The present work was carried out with the aim of studying in vivo the antagonistic effect of *Trichoderma sp.* on *Fusarium sp.* the causal agent of *Fusarium* head blight of wheat, using two tests, one of the crown and the other of the ear

Interesting results were obtained in vivo: simultaneous sowing of wheat in both types of pots sprayed with a spore suspension and inoculated with a *Trichoderma* disc reduced the incidence of *Fusarium* head blight compared to wheat inoculated with the pathogen alone.

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

Key words: Wheat, *Trichoderma*, *Fusarium culmorum*

Résumé en arabe

القمح (*Durum (Triticum durum Desf.)*) هي واحدة من الحبوب الأكثر أهمية في العالم. لسوء الحظ، نبات القمح هو الهدف لعدة أنواع من جنس فوساريوم. هذا الجنس يسبب مرضين خطيرين: فوساريوز الجذور و الساق و فوساريوز السنابل.

وقد تم تنفيذ هذا العمل في الوسط الحي لغرض دراسة تأثير خصم *Trichoderma sp* على فوساريوم . العامل المسبب للمرض وذبول القمح، وذلك باستخدام اختبارين، واحد على الساق و الجذور والآخر على السنابل .

تم الحصول على نتائج مثيرة للاهتمام في الوسط الحي: في الواقع ، فإن البذر المتزامن للقمح في كلا النوعين من الأوعية المستعملة. الذي تم رشه بواسطة معلق *Trichoderma* وتطعيمها بواسطة قرص قتل من ذبول فوساريوز مقارنة بالقمح الذي تم تلقيحه بواسطة العامل مسبب للمرض وحده.

القمح المعالج بواسطة *Trichoderma* لديه نمو نباتي أفضل ونظام الجذر قوية.

كلمات رئيسية : قمح, تريتشوديرما, فوساريوم

*Références
bibliographique*

VII. Références bibliographiques

- ❖ **Abd-Elsalam KA, Almohimeed I, Moslem MA, Bahkali AH (2010)** M13-microsatellite PCR and rDNA sequence markers for identification of *Trichoderma* (Hypocreaceae) species in Saudi Arabian soil. *Genet Mol Res* 9:2016–2024.

- ❖ **Anchisi, M., Gennari, M., et Matta, A. 1985.** Retardation of *Fusarium* wilt symptoms in tomato by pre- and post-inoculation treatments of the roots and aerial parts of the host in hot water. *Physiological Plant Pathology*, 26:175- 183.

- ❖ **Angelique Bojanowski.2011.** MOLECULES ANTIFONGIQUES ET ACTIVITE. ANTAGONISTE DE DEUX SOUCHES université lavale (Québec).

- ❖ **Ballois., N.** Caractérisation de la diversité des espèces de *Fusarium* et de leur potentiel mycotoxinogènes sur céréales. *Biologie et Ecologie pour la Forêt, l’Agriculture et l’Environnement.* France : université lorraine,2012,37p.

- ❖ **Bedrane Mohamed amine.** Disponible dans le site suivant :

- ❖ **Belaid, Dj.1996.** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Offices de publications

- ❖ **Bisset, J.A., Can. J. Bot. (1991).** Revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. (b), 69 : 2357-2372

- ❖ **Bissett J., (1991)** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J.Bot.*, 69: 2357-2372

- ❖ **Bissett, J.A. (2004).** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric. Universitaires. 203p 5.

- ❖ **Bonjean et Picard E., 1990.** Les céréales à pailles. Origine, Histoire, Economie, Sélection. Softword éd., 205 p. CIC., 2000- Rapport annuel du Conseil International des Céréales "CIC" pour l'année 2000.

Références bibliographique

- ❖ **Boulala ,Z.,Rouabeh ,A.** Appréciation de la qualité technologique de 8 variétés homologuées de blé dur cultivées dans la région de Constantine. Mémoire master en biochimie et biologie moléculaire et cellulaire. Constantine : université des frères Mentouri Constantine ,2017/2018, p52.
- ❖ **Covarelli L., Beccari G., Prodi A., Generotti S., Etruschi F., Juan C., Ferrer E., Manes J., 2015.** Fusarium species, chemo- type characterisation and trichothecene contamination of durum and soft wheat in an area of central Italy. Journal of the Science of Food and Agriculture 95: 540-551.
- ❖ **Corbaz, R.1990.** Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Edition Presse polytechnique et universitaire romande. 286 p.
- ❖ **D'Egidio MG, Mariani BM, Nardi P, Novaro P and Cubadda R (1990)** Chemical and technological variables and their relationships: a predictive equation for pasta cooking quality. Cereal Chemistry, 67: pp275–281.
- ❖ **Domenico P (2011).** Trichoderma spp. in innovative substrates for ornamentals plants. Thèse de doctorat: Department of Agriculture, Food and Environment. Italy: University of Pisa, 11-13p.
- ❖ **Elias ME and Manthey FA (2005)** End products: Present and future Uses: Durum Wheat breeding current approaches and future strategies. Crop Science, 1: pp63-85.
- ❖ **Esposito E et Silva, M (1998).** Systematics and environmental application of the genus Tricho -Erginbas-Orakci G, Poole G, Nicol JM, Paulitz T, Dababat AA, Campbell K (2016) Assessment of inoculation methods to identify resistance to Fusarium crown rot in wheat. J Plant Dis Protect 123(1):19–27. 016-0001-8.derma.Crit. Rev. Microbiol., 24 (2): 89-98.
- ❖ **Fusarium Link, 1809 in GBIF Secretariat (2021).** GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/38ome> accesetvaog 2021-09-16.
- ❖ **Fungi** form a complex of diseases that infect grains, seedlings and plants. Fusarium wilt, Fusarium spp. and Microdochium nival, .. Missing terms: badran, | Must include badran.

Références bibliographique

- ❖ **Mauler-Machnik, A., Suty, A. 1997.** New finding of the epidemiology, importance and control of Fusarium ear blight on wheat. *Cereal Research Community* 25: 705-711.

- ❖ **Nazco R., Villegas D., Ammar K., Peña R. J., Moragues M. & Royo C. (2012).** Can Mediterranean durum wheat landraces contribute to improved grain quality attributes in modern cultivars? *Euphytica* 185, 1–17.

- ❖ **Pastaria, 2015.** Geography of the Durum Wheat crop.

PASTARIA2015_N06_en-artOF.pdf.

- ❖ **Pandy and Al .** Integrated control of Fusarium wilt of chickpea by solar heating of soil amended with oilseed meals and fungicides. *Indian Phytopathology* 49: 247.

- ❖ **Parry, D., Jenkinson, P., Mcleod, L.** « Fusarium Ear Blight (scab) in Small-Grain Cereals - a Review ». *Plant Pathology*. avril 1995. Vol. 44, n°2, p. 207-238.

- ❖ **Prandini A , and al (2007).** Review of predictive models for Fusarium head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47(5), 927–931.

- ❖ **Romain Giraud (2018).** Trichoderma : une solution de biocontrôle, clinique du gazon.

- ❖ **Roquebert M-F.,(1996).** Interactions antagonistes des Trichoderma sp. Dans les systèmes telluriques : systématique biologie et écologie des organismes. Comptendu des 4 emes rencontres en toxicologie, paris, 13-15.

- ❖ **Saba (2012).** Trichoderma a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. *Mycosphere* ; 3(4), 524–531.

- ❖ **Samuels .2002 ,** Trichoderma Species Associated with the Green Mold Epidemic of Commercially Grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*; 94: 146-170.

- ❖ **Samuels, G.j., Chaverri, P.,Far, D.F. and McCray, E.B.(2006).** Trichoderma

Online, systematic Botany and.Mycology Laboratory. (/taxadescriptions/keys TrichodermaIndex.cfm).

Références bibliographique

- ❖ **Soltner, P., 2005.** Les bases de la production végétales: La plante et son amélioration. 4èmeEd. Collection et Techniques Agricoles. 248p.
- ❖ **Siou D. (2013).** Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. These de doctorat en sciences du végétal : du gène a l'écosystème. Université Paris-sud XL P 182.
- ❖ **segaye Redda E, Ma J, Mei J, Li M, Wu B, Jiang X (2018)** Antagonistic potential of different isolates of Trichoderma against Fusarium oxysporum, Rhizoctonia solani, and Botrytis cinerea. Eur J Exp Biol 08:212. 8-9215.100053.
- ❖ **Srivastava RK, Singh RK, Kumar N, Singh S (2010)** Management of macrophomina disease complex in jute (Corchorus olitorius) by Trichoderma viride. J Biol Control 24:77–79.
- ❖ **Touati-Hattab S., Barreau C., Verdal-Bonnin M.N., Chereau S., Richard-Forget F., Hadjout S., Mekliche L., Bouznad Z., 2016.** Pathogenicity and trichothecenes production of Fusarium culmorum strains causing head blight on wheat and evaluation of resistance of the varieties cultivated in Algeria. European Journal of Plant Pathology 145: 797-814.
- ❖ **Vinale, F., Sivasithamparamb, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L. and Lorito, M. (2008):** Trichoderma-plant-pathogen interactions. Soil Biol. Biochem. 40, 1–10.
- ❖ **Wagacha, J.M. and Muthomi, J.W. (2007)** Fusarium culmorum Infection Process, Mechanisms of Mycotoxin Production and Their Role in Pathogenesis in Wheat.

- ❖ **Yariv B, J Gupta Kapuganti et Ada Viterbo (2016).** Quick guide Trichoderma. Current Biology; 20: 9-390.
- ❖ **Zeitoun, R. (2011).** Procédés de fractionnement de la matière végétale. Application la production des polysaccharides du son et de la paille de blé (Thèse de Doctorat). Université de Toulouse (p. 291).

- ❖ <https://doi.org/10.4238/vol9-4gmr908>.
- ❖ <https://agronomie.info/fr/la-fusariose>
- ❖ <https://doi.org/10.1007/S41348->
- ❖ <http://www.openfields.it/sito/wp-content/uploads/2016/01/>

Références bibliographique

- ❖ <http://cliniquedugazon.fr/index.php/2018/08/10/trichoderma-une-solution-debiocontrole/>
- ❖ <http://nt.ars-grin.gov>
- ❖ <https://doi.org/10.21767/224>
- ❖ <https://doi.org/10.1094/phyto-96-0386>.
- ❖ <https://doi.org/10.18311/JBC/2010/3578>.

- ❖ https://fr.wikipedia.org/wiki/Blé_dur

Annexes

Annexes

Annexe 2 : Milieux de cultures.

Milieu PSA : POTATO SACCHAROSE AGAR.

- Pomme de terre200g.
- saccharose20g.
- Agar..... 20g.
- Eau distillécompléter jusqu'à 1000 ml.
- PH6.

- Laver la pomme de terre non pelée.
- Couper en cubes dans 500ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 30 -45 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans500 ml d'eau distillée.
- Ecraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat a la solution d'agar.
- Ajouter le saccharose.
- Compléter le volume a1000 ml
- Stériliser par autoclavage a 121°C / 15min.

- **Composition du milieu finale :**

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

Année universitaire : 2020/2021

Présenté par : Anana badis
Benlazereg anis

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie
Option : Biochimie

Thème : Evaluation *in vivo* de l'effet antagoniste de *Trichoderma* vis-à-vis de l'agent pathogène *Fusarium culmorum* sous des conditions environnementales contrôlées (en serre).

Résumé :

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est l'une des céréales les plus importantes au monde. Malheureusement, la plante de blé est la cible de plusieurs espèces du genre *Fusarium*. Ce genre provoque deux maladies graves: la fusariose du collet et la fusariose de l'épi.

Le présent travail a été effectué dans le but de l'étude *in vivo* de l'effet d'antagonisme de *Trichoderma sp.* sur *Fusarium culmorum*. L'agent causal de la fusariose du blé, en utilisant deux tests l'un du collet et l'autre de l'épi

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

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

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

Mots clés : Blé, *Trichoderma*, *Fusarium culmorum*.