



جامعة الأخوة منتوري قسنطينة

UNIVERSITÉ DES FRÈRES
MENTOURI CONSTANTINE

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 de Biologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

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

Option : Biochimie

**Évaluation *in vivo* du pouvoir antagoniste des
champignons du genre *Trichoderma* contre le
Fusarium culmorum sous des conditions
environnementales naturelles et non contrôlées**

Présenté par:

KAABAR Hakim

ABBASSI Abderahmane

Soutenu le : / 09 / 2021

Devant le jury :

Présidente	Dr. BECHKRI Sakina	Université Frères Mentouri Constantine 1
Encadreur	Dr. BELLIL Ines	Université Frères Mentouri Constantine 1
Examinatrice	Dr. ABDELAZIZ Ouided	Université Frères Mentouri Constantine 1
Tuteur	Mr. BOUANAKA Hamza	Université Frères Mentouri Constantine 1

Année Universitaire 2020-2021

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les Difficultés.

Nos plus vifs remerciements à notre encadreur **Mme BELLIL Ines** Maitre de Conférences à la Faculté des Sciences, de la Nature et de la Vie, de l'université des frères Mentouri, pour sa disponibilité, la qualité de son encadrement, son aide précieuse et pour ces conseils avisés durant la réalisation de ce mémoire.

Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, soyez rassuré de notre profonde gratitude et notre respectueuse considération vos qualités scientifiques et humaines resteront à jamais pour nous l'exemple.

Nous remercions vivement Madame **BECHKRI Sakina**, Maitre-de Conférences A à l'Université Frères Mentouri pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de juger ce travail.

Nous tenons à remercier très sincèrement Madame **ABDELAZIZ Ouided**, Maitre de conférences B à l'Université Frères Mentouri, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Un grand merci va à Mr **Bouanaka Hamza** pour toute l'aide qu'il nous a apporté au cours de notre pratique, pour l'accueil et les orientations pour sa compréhension et son soutien.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, frères et sœurs ainsi qu'à toute personne qui a contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents, mes grands-mères et ma tante Wahiba qui m'ont soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A mes frères qui m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A ma famille, mes proches et a ceux qui me donnent la volonté et la motivation.

A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé

Kaabar Hakim

Dédicaces

Chaque jour qui passe je remercie Allah, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.

Ce modeste travail est dédié :

À tous ceux qui m'ont soutenus soit de près ou de loin.

A la meilleure femme au monde ma mère qui a été toujours à mes côtés tous au long de mon parcours.

A mes chères sœurs : Rayen, Hala.

A tous mes amis et mes camarades de promo biochimie pour les moments Inoubliables passés ensemble.

A tous ceux qui je n'ai pas cité ici et qui ont une place dans mon cœur.

A tous ceux qui m'aiment et qui m'ont encouragé.

Abderahmen

Table des matières

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des abréviations	iii
Introduction générale	1
Chapitre I Synthèse bibliographique	
I.1. Le Blé	3
I.1.1. Caractéristiques botaniques du blé	3
I.1.2. Classification du blé	3
I.1.3. Cycle végétatif du blé	3
I.1.4. Maladies du blé	5
I.1.4.1. Maladies causant des pourritures racinaires.....	5
I.1.4.2. Maladies causant des symptômes localisés sur feuillages	6
I.1.5. Symptômes de l'oïdium du blé.....	7
I.2. Le <i>Fusarium</i>	8
I.2.1. Généralité sur le genre <i>Fusarium</i>	8
I.2.2. Taxonomie et classification des <i>Fusarium</i>	8
I.2.3. Habitat.....	9
I.2.4. Cycle biologique.....	10
I.2.5. Maladie de la fusariose	10
I.3. Le <i>Trichoderma</i>	11
I.3.1. Généralité sur le genre <i>Trichoderma</i>	12
I.3.2. Taxonomie	12
I.3.3. Mode d'action	14
I.3.4. Les avantages de l'utilisation du <i>Trichoderma</i>	15
I.3.5. Les limites de l'utilisation du <i>Trichoderma</i>	15
Chapitre II Matériel et Méthodes	
II.1. Matériel	16
II.1.1. Matériel fongique	16
II.1.1.1. Agent pathogène.....	16
II.1.1.2. Agent antagoniste.....	16
I.1.2. Matériel végétal.....	16
II.2 Méthodes	17

II.2.1. Préparation de la suspension sporale de l'agent pathogène et l'agent antagoniste	17
II.2.2. Préparation du champ	17
II.2.3. Semis	19
II.2.4 Entretien du champ	19
II.2.5 Pulvérisation et inoculation	19
II.2.6 Récolte.....	20
Chapitre III Résultats et discussion	
III.1. Résultats de l'effet de l'agent pathogène <i>Fusarium</i> sur le blé	21
III.2. Résultats du poids de mille grains de chaque cas.....	25
III.3. Effet <i>in vivo</i> de la fusariose sur le blé	27
III.3.1. Effet <i>in vivo</i> de l'agent pathogène P sur le blé	27
III.3.2. Effet <i>in vivo</i> du <i>Trichoderme</i> (A) sur la réduction de la FCR dans le champ	28
Conclusion générale et perspectives.....	29
Références bibliographiques	30

Liste des figures

Figure 1:Les différentes étapes de la culture du blé	4
Figure 2:La Fusariose de blé	5
Figure 3:La Septoriose de blé	6
Figure 4:La Septoriose des feuilles : tache foliaire	7
Figure 5:L'oïdium du Blé	7
Figure 6:Cycle de vie du <i>Fusarium</i>	10
Figure 7:Le flétrissement des épis par la fusariose	11
Figure 8:Parcelles générées pour la réalisation des différents tests	14
Figure 9:Moyenne de l'AUPDC et du PMG dans les 6 cas testés	26
Figure 10:Développement de la Fusariose.....	27
Figure 11:Différence entre le cas traité par le P seulement et le cas traité par les deux champignons (A) et P	28

Liste des tableaux

Tableau 1: Cas numéro 02 : Graines traitées avant semis avec l'agent antagoniste	21
Tableau 2: Cas numéro 04 : Témoin positif.....	22
Tableau 3: Cas numéro 05 : Grains traités avant semis (A)+P	23
Tableau 4: Cas numéro 06 : Traitement de l'épi avec pulvérisation (A)+ P.....	24
Tableau 5: Poids de mille grains	25
Tableau 6: Moyenne de l'AUPDC et du PMG dans les 6 cas testés.....	26

Liste des abréviations

AUDPC: Area Under Disease Progress Curve

P : Agent pathogène *Fusarium*

(A) : Agent antagoniste *Trichoderma*

PSA : Potato Saccharose Agar

PMG : Poids de mille grains

PSE : Période de chaque inoculation par l'agent pathogène

Introduction Générale

INTRODUCTION GENERALE

Les aliments dérivés du blé jouent un rôle important dans le régime alimentaire du peuple algérien. Pain, gâteaux, pâtes et de nombreux autres plats algériens comme le couscous sont les produits les plus courants à base de blé en Algérie (**Kezih et coll. 2014**). Le blé est cultivé dans les différentes zones agro-écologiques de l'Algérie, mais il est essentiellement concentré dans les zones semi-arides et arides. En 2016 le blé dur était cultivé sur 1,09 million d'hectares avec une production de 1,93 million de tonnes; le blé panifiable était cultivé sur 0,35 million d'hectares et sa production était de 0,5 million de tonnes (**MADRP 2016**).

Le blé dur en Algérie est exposé à de fortes contraintes environnementales telles que la sécheresse, le gel et la chaleur qui peuvent affecter significativement le rendement et la qualité des grains. Et aussi les maladies des plantes causées par des champignons phytopathogènes sont assez courantes et peuvent être responsables de pertes de rendement assez fréquentes 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). Les champignons pathogènes du genre *Fusarium* sont responsables de contaminations majeures des blés induisant la fusariose.

Par ailleurs, les produits chimiques utilisés à l'heure actuelle pour lutter contre les agents responsables de la fusariose du blé présentent des inconvénients. La plupart d'entre eux sont toxiques pour les utilisateurs qui entrent en contact avec la substance de préservation. Cela justifie les recherches actuellement menées dans ce domaine, qui tendent à mettre au point de nouvelles méthodes de lutte biologique, impliquant des organismes vivants. La lutte biologique se considère comme une alternative très prometteuse, à cause de l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes. Ces derniers se caractérisent par leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action ainsi leur persistance dans l'environnement (**De Kouassi, 2001**). Les microorganismes utilisés en lutte biologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires. Les champignons et les bactéries sont les microorganismes les plus utilisés en lutte biologique. Ils ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et sont donc l'objet d'études de plus en plus poussées.

Introduction générale

Dans cette optique, s'inscrit l'objectif de notre travail qui se focalise sur la lutte biologique par l'utilisation des souches de *Trichoderma* contre le champignon phytopathogène *Fusarium culmorum*, responsable de la fusariose du blé. Le pouvoir antagoniste des champignons du genre *Trichoderma* contre l'agent causal de la fusariose sera testé *in vivo* sur du blé fusarié et au champ sous des conditions environnementales naturelles non contrôlées.

Le présent document est divisé en différentes parties. La partie bibliographique portera sur le blé, les maladies du blé dont la fusariose tout en mettant l'accent sur l'agent causal de la fusariose à savoir les champignons du genre *Fusarium* et sur l'agent antagoniste le plus utiliser dans la lutte biologique en l'occurrence les champignons du genre *Trichoderma*. La partie matériel et méthodes décrira le matériel biologique utilisé dans les différentes expérimentations ainsi que la méthodologie adoptée. Les principaux résultats obtenus et leur explication seront donnés dans la partie résultats et discussion. Une conclusion générales et des perspectives seront enfin données.

Chapitre I
Synthèse Bibliographique

I.1 Le Blé

I.1.1 Caractéristiques botaniques du blé

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

I.1.2 Classification du blé

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 : *Triticum*L.

I.1.3 Cycle végétatif du blé

Le cycle débute par germination d'une graine après humidification. Quel que soit le moment où le blé est semé, il est toujours récolté en juin-juillet. Le germe développe une première partie s'ancrant dans le sol pour former les racines, et une autre pointant vers la surface. La

température minimale de germination des graines est de 3° C. Les premières pousses sont visibles après dix jours à peine, c'est la levée. Le rythme d'émission des feuilles est réglé par des facteurs externes comme la durée du jour et le rayonnement au moment de la levée. Le stade 3 "feuilles" est une phase repère. Des bourgeons se forment à l'aisselle des feuilles et donnent des pousses, des tiges latérales creuses appelées talles. Le tallage commence de la fin de l'hiver jusqu'à mi-avril. Chaque talle primaire donne des talles secondaires. Apparaissent alors, à partir de la base du plateau de tallage, des racines secondaires ou adventives, qui seront à l'origine de l'augmentation du nombre d'épis. Au moment du plein tallage, la plante est étalée et a un port retombant. À la fin, les talles commencent à se redresser sur les sillons. Puis commence le stade de montaison correspondant à la montée de l'épi et à l'allongement des entre-nœuds. Ensuite l'épiaison, en juin. Les épis commencent à sortir de leur gaine. Chaque épi est formé de plusieurs groupes de fleurs appelés épillets, entourés de glumelles et de glumes (enveloppes). Le blé fabrique son pollen et ses ovules. La floraison, avec la sortie des étamines, signifie que la fécondation a eu lieu. Le blé est une plante "autogame" qui se reproduit elle-même ; chaque fleur est à la fois mâle et femelle, possède pistil et étamines et s'autoféconde. Enfin la maturation de grains de blé (dernière étape avant la moisson) (**Figure 1**).

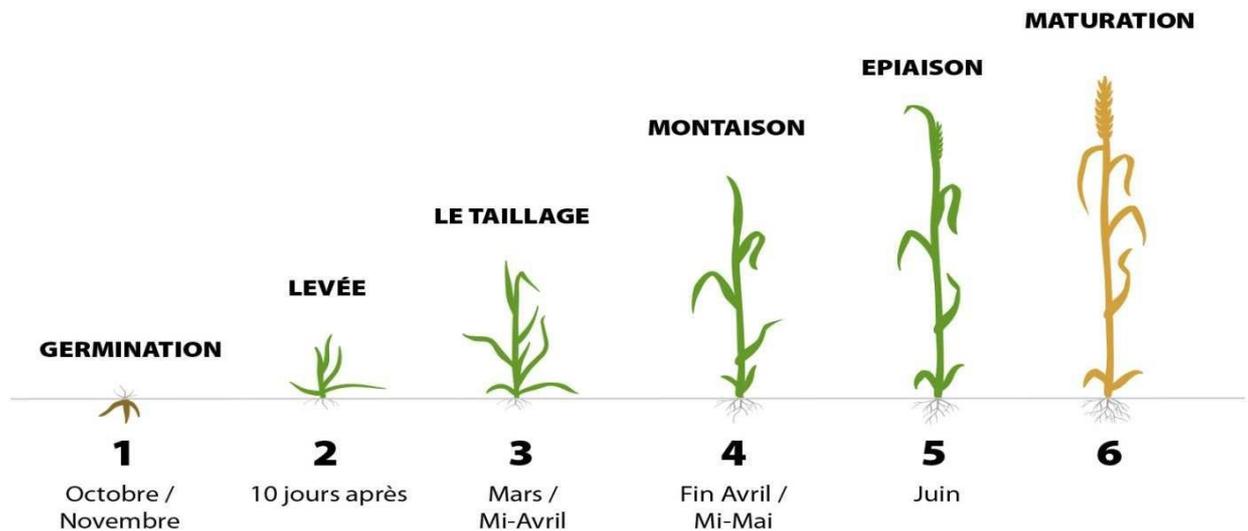


Figure 1 : Les différentes étapes de la culture du blé

Les grains se développent en plusieurs stades : le stade laiteux où le grain vert clair atteint sa taille définitive (le grain contient encore 50 % d'humidité et le stockage des protéines touche à sa fin) ; le stade pâteux où le grain, d'un vert jaune, s'écrase facilement (le grain a perdu en

humidité et l'amidon a été constitué). Les feuilles sont alors sèches et les nœuds de la tige encore verts. Ensuite le grain mûrit : brillant, durci, il prend une belle couleur jaune. À maturité complète, il a la couleur typique de sa variété et la plante est sèche (la teneur en humidité atteint environ 20 %). À sur-maturité, le grain est mat et tombe tout seul de l'épi ; chaque épi porte de 45 à 60 grains : leur nombre dépend de la variété et des conditions de croissance rencontrées. Chaque grain de blé est enfermé dans la balle, formée des glumelles et glumes séchées.

I.1.4 Maladies du blé

I.1.4.1 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 2**).



Figure 2 : Fusariose de blé

I.1.4.2 Maladies causant des symptômes localisés sur feuillage

A. Septoriose des feuilles : fonte des semis

Principale maladie du blé, la septoriose des feuilles peut entraîner des pertes de rendements allant jusqu'à 60 q/ha. Les symptômes de la septoriosetritici apparaissent uniquement sur feuilles sous la forme de taches ovales brun clair (**Figure 3**). Des petits points noirs (pycnides) bien visibles apparaissent le long des nervures dès le début de la formation des nécroses. L'aspect des taches est assez diversifié irrégulières sur les bords du limbe, rectangulaires entre les nervures.



Figure 3 : La Septoriose du blé (fonte des semis)

B. Septoriose des feuilles : tache foliaire

Dans les jeunes parcelles de blé à semis automnal, des plaques aqueuses, qui prennent rapidement une apparence brune et nécrotique (**Figure 4**), sont déjà observables début décembre, ainsi que tout au long de l'hiver sur les étages foliaires inférieurs. Celles-ci contiennent des pycnides noires apparentes, la principale caractéristique de *M. graminicola*.



Figure 4 : Septoriose des feuilles : tache foliaire.

I.1.5 Symptômes de l'oïdium du blé

Les symptômes de l'oïdium peuvent être observés sur les feuilles, les tiges et les épis, mais ce sont les feuilles qui sont les plus souvent attaquées. Généralement, des pustules blanches se développent, et produisent une masse de spores ayant une apparence poudreuse (**Figure 5**). Au fur et à mesure de leur croissance, les pustules d'oïdium foncent et prennent une couleur grise ou brune. À terme, des organes contenant des spores noires (les cleistothèces) sont retrouvés incorporés dans les pustules de l'oïdium, généralement vers la fin de la saison.



Figure 5 :L'oïdium du Blé

I.2 Le Fusarium

I.2.1 Généralité sur le genre Fusarium

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 *fusus* (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).

I.2.2 Taxonomie et classification des Fusarium

La taxonomie du *Fusarium* a connu de nombreuses classifications controversées (Nelson et al., 1983). Tout d'abord, la détermination des espèces appartenant à ce genre, a été effectuée en référence à leurs caractères morphologiques, en se basant sur des observations macro- et microscopiques, puis cette classification a été revue plusieurs fois (Heit, 1989). C'est à partir de la seconde moitié du XXème siècle, qu'une nouvelle approche conceptuelle de classification est rendue possible (Ghorri, 2015). Actuellement, le plus utilisé est le classement dérivé de celui de Nelson et al. (1983) qui regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. Ce classement a été amendé par Burgess et al. (1994), et d'autres chercheurs en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006). Selon Leslie et Summerell (2006), les *Fusarium* sont classifiés par rapport à leur forme sexuée ou asexuée :

- Les anamorphes sont les espèces du genre *Fusarium* dont la forme asexuée est connue (forme imparfaite) (Heit, 1989) ; elles appartiennent aux champignons anamorphiques et au groupe des Hyphomycètes (champignons à conidies produites sur des sporodochies). Généralement, les conidies des espèces du *Fusarium* sont pluricellulaires et arquées en forme de croissant. Leurs tailles, formes et nombres varient avec l'espèce (Gargouri et al., 2006),
- Les téléomorphes sont les espèces dont la forme sexuée est connue (forme parfaite), cette forme n'est pas identifiée pour toutes les espèces (cas de *F. oxysporum*) (Heit, 1989). Ce sont des espèces qui appartiennent au genre *Gibberella* ou *Nectria*, au phylum des *Ascomycota* (champignons produisant des ascospores) et au groupe des *Pyrénomycètes* (champignons dont les asques sont enveloppés dans des périthèces) (Nesraoui, 2006).

I.2.3 Habitat

Les *Fusarium* sont répandus dans tous les écosystèmes dans le monde (**Leslie et Summerell., 2006**), ils peuvent être isolés de la plupart des sols, des insectes, de l'eau courante, des racines, des graines et d'autres tissus de plantes herbacées et ligneuses sauvages ou cultivées. Ils sont également retrouvés, dans les climats tempérés et les climats sub-tropicaux. (Jeunot, 2005). Certaines espèces du *Fusarium* ne sont pas influencées et/ou limitées par les facteurs climatiques (**Trabelsietal., 2017**). Les *Fusarium* en général, sont divers en termes de nombre d'espèces, distribution, gamme d'hôtes et de la virulence (**Gordon, 1960 ; Summerellet al. 2003 ; Leslie et Summerell, 2006**).

I.2.4 Cycle biologique

L'infection d'une plante par *Fusarium* peut avoir plusieurs origines : (i) une origine biotique dans le cas d'un oiseau ou d'un insecte (*Sitodiplosis mosellana* notamment, **Mongrain et al., 2000**) qui transporterait des spores et les dissémineraient dans la nature ou (ii) une origine abiotique lorsque c'est le vent ou la pluie qui permet la dissémination des spores dans la nature.

La fusariose est considérée comme une maladie polycyclique, mais l'inoculum primaire est la source principale d'inoculum pour l'apparition de la maladie (**Trail, 2009**). 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 (**Figure 6**). Le champignon est alors sous sa forme sexuée, *Gibberella*. Par la suite, les ascospores vont germer si l'humidité relative (HR) est supérieure à 85% et la température avoisine les 25-30°C. 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**).

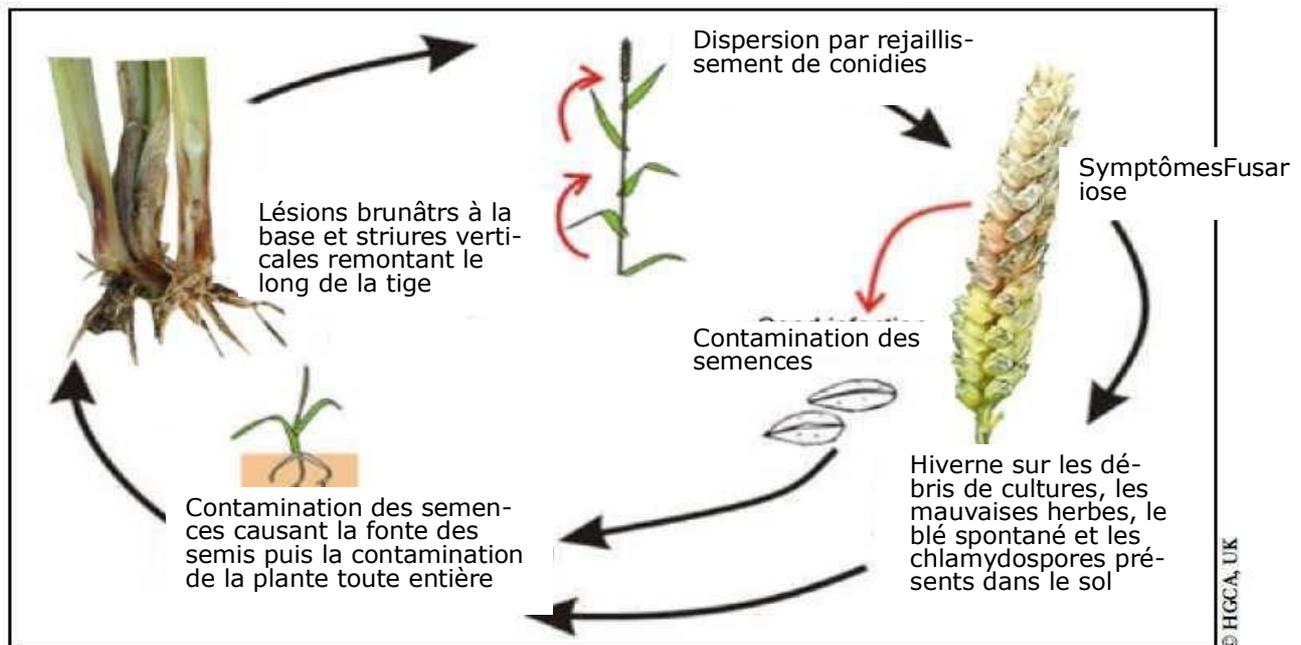


Figure 6 : Cycle de vie du *Fusarium*

I.2.5 Maladie de la Fusariose

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. Le terme "fusariose" des céréales regroupe trois types de symptômes (**Parry et al., 1995**) :

- "Seedling Blight" : fusariose des semences, provoquent des manques à la levée et des fontes des semis.
- "Foot Rot" : fusariose du collet, entraînant la nécrose de ces tissus.
- "Head Blight" : fusariose de l'épi, La fusariose des épis de blé est caractérisée par le flétrissement des épis et une sénescence prématurée, les épis apparaissent alors blanchâtres (**Figure 7**). Les grains de blé fusariés sont petits, légers, ridés et parfois couverts d'un duvet blanc ou rose. Si l'infection est plus tardive, les grains peuvent être de taille normale mais ils se décolorent en rose. Les symptômes observés sur orge sont semblables à ceux observés sur blé (**McMullen et al., 2008**).



Figure 7 : Flétrissement des épis par la fusariose

1.3 Le Trichoderma

1.3.1 Généralité sur le genre Trichoderma

Le terme « *Trichoderma* » a été utilisé pour la première fois par le mycologue sud-africain Christiaan Hendrik Persoon en 1794. C'est le premier qui a décrit le genre *Trichoderma* à partir des échantillons collectés en Allemagne. En milieu terrestre, leur production de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* des agents potentiels en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (**Prieto et al., 1997**) ; utilisés comme agents de lutte biologique en raison de leur antagonisme vis-à-vis d'autres espèces fongiques (**Roquebert, 1996**).

1.3.2 Taxonomie

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

-En 1794, Persoon décrit le premier *Trichoderma sp.* et établit 4 espèces.

-En 1821, Fries classe les *Trichoderma sp.* parmi les Gastéromycètes.

-En 1860, débutent les controverses sur cette systématique, Tulasne contredit Fries puisqu'il ne trouve pas de forme téléomorphes (sexuées) à ce genre.

-En 1871, devant le nombre croissant d'espèces rencontrées, Harz insiste sur l'importance des caractères morphologiques sous microscopie optique (surtout les phialides).

-En 1916, Waksman décrit ce qu'il trouve être 6 nouvelles souches de *Trichoderma sp.* en utilisant des critères macroscopiques, différents de ceux préconisés par Harz.

Synthèse Bibliographique

-En 1926, Abbot identifie 4 espèces de *Trichoderma* selon des critères une fois de plus différents des précédents. Jusqu'à 1939 le raisonnement d'Abbot reste en vigueur, mais aussi à côté d'identifications totalement indépendantes.

-En 1939, Bisby tente de mettre de l'ordre dans ces systèmes en proposant une unique espèce : *Trichoderma viridae*. Et durant 24 ans, toute espèce fongique à spores vertes était considérée comme étant un *Trichoderma sp.*

-En 1963, les travaux de Gutter et Monbasher mettent fin au système précédent, en démontrant la variabilité des espèces de *Trichoderma* en fonction des conditions environnementales.

-En 1969, conscient de toute cette polémique, Rifai propose une classification « utilisable avec le concept d'« espèces agrégées », basé sur les caractères microscopiques. « Une espèce agrégée est une entité composée de groupement d'espèces très similaires, difficiles à séparer ». Neuf espèces agrégées sont créées (*T. aureoviridae* Rifai, *T. hamatum* Bain, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudemans, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Webster et Rifai, *T. polysporum* Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai et *T. viridae* Gray), tout en tolérant une certaine variabilité au sein de chaque espèce agrégée (**Rifai, 1969**). En comparaison avec les nombreux précédents, ce système semble le plus facilement utilisable pour la communauté scientifique, d'autant plus qu'il a été amélioré récemment par Bissett (**1984, 1991a et b**).

-En 1991, Bissett propose la notion de « section » pour faire face au nombre croissant d'espèces nouvelles de *Trichoderma sp.*, sans rapport avec les espèces agrégées. Se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides, il regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (*Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum*) (**Leuchtmann, 1996 ; Landreau, 2001**). Le système taxonomique de Bissett est aussi appuyé, entre autres, par des approches de biologie moléculaire (PCR), pour répondre au positionnement de nouvelles espèces de *Trichoderma* identifiées (dont les formes téléomorphes¹ sont souvent non identifiées) et reste le plus fiable, actuellement Lillard-Roberts(**2004**), repose sur des comparaisons de l'aspect morphologique, le profil métabolique, l'examen phylogénétique et la séquence d'ADN avec des bases de données de références internes au laboratoire de Bissett (Canada).

Les espèces de *Trichoderma* ainsi que leurs rares formes téléomorphes observées sont classées parmi les Ascomycètes (second plus important groupe fongique en nombre d'espèces) du genre *Hypocrea* (Sugiyama, 1987 ; Kubicek et al., 2003). Sous certaines conditions, méconnues, les *Hypocreasp.* (téléomorphes) se transforment « définitivement » en *Trichoderma sp.* (anamorphes).

On pense alors que l'évolution a conduit à la disparition du mode sexué pour l'établissement d'un genre à reproduction exclusivement asexuée (Roquebert, 1996). La biologie moléculaire nous révèle aujourd'hui que des espèces de *Trichoderma* génétiquement différentes, présentent des similitudes morphologiques spectaculaires et leurs caractéristiques se chevauchent ce qui, d'une part explique la longue controverse connue par ce genre auparavant et d'une autre part, montre que les seuls critères morphologiques ne suffisent plus pour une classification incontestable et rigoureuse des formes anamorphes de *Trichoderma sp.* (Cournut, 1984 ; Sugiyama, 1987).

La taxonomie moderne des champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente comme suit (selon Bissett, 2004) :

- Embranchement Amastigomycota et/ou Eumycètes
- Sous embranchement *Ascomycotina*
- Classe *Sordariomycètes*
- Ordre *Hypocréales*
- Famille *Hypocraceae*
- Genre *Hypocreamitosporique* (*Trichoderma*)

I.3.3 Mode d'action

Le *Trichoderma sp.* a fait l'objet de nombreuses études dans le cadre de la protection des plantes vis-à-vis des maladies parasitaires. Il est capable d'attaquer différents agents pathogènes par des mécanismes variés dont les principaux sont le parasitisme, l'antibiose et la compétition (Howell, 2003 ; Vinale et al., 2006).

I.3.4 Les avantages de l'utilisation du *Trichoderma*

Ce moyen de lutte biologique a présenté une efficacité similaire à celui des fongicides. Ces différents modes d'actions lui confèrent un meilleur pouvoir antifongique. De plus la lutte biologique est plus respectueuse de l'environnement et la diminution des doses de fongicides rend les productions plus saines pour la consommation (**Marín, et Romero, 1992**).

I.3.5 Les limites de l'utilisation du *Trichoderma*

L'utilisation de *Trichoderma* en tant qu'agent de lutte biologique présente des contraintes. *Trichoderma* colonise efficacement la spermosphère mais ne survit pas bien dans la rhizosphère. Les espèces du genre *Trichoderma* sont actives seulement dans certains types de sols et de saisons, n'obtenant ainsi qu'une dominance localisée transitoire de la rhizosphère (**Deacon, 1994**). Pour cette raison, *Trichoderma* a une efficacité moindre lorsqu'il est ajouté comme spores à cause de la quiescence et de l'inactivité des spores dans le sol. Pour cette raison ci-dessus, les produits curatifs à base de *Trichoderma* sont pour la plupart du temps des solutions liquides. Ils sont donc pulvérisés sur la surface des feuilles. Cette méthode d'application peut impliquer un lessivage en fonction des conditions météorologiques. Aux champs notamment, les conditions environnementales ne sont pas contrôlées et donc il est plus difficile de gérer la maladie. Aussi selon les pays et le climat, ces actions peuvent être plus ou moins efficaces. En outre, tout comme les fongicides, si ces produits de bio-contrôle sont utilisés en trop grande quantité et trop souvent, les plantes pourraient développer des résistances vis à vis de ces solutions. Cela limiterait considérablement l'efficacité de celui-ci. Toutefois le développement de telles résistances serait limité de part ces différents modes d'action (**Sanjeev Kumar, 2013**).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II.1 Matériel

II.1.1 Matériel fongique

- *Fusarium clomurum* (P)
- *Trichoderma* A

II.1.1.1 Agent pathogène

Le matériel fongique utilisé est *Fusarium clomurum*, responsable de la fusariose du blé. Il appartient à la mycothèque du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales.

II.1.1.2 Agent antagoniste

Trichoderma est le genre utilisé pour évaluer l'activité antagoniste *in vitro* et *in vivo* à l'égard de *Fusarium clomurum*. Ce genre appartient à la mycothèque du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales.

II.1.2 Matériel végétal

Pour tester l'effet antagoniste du genre *Trichoderma* à l'égard des champignons du genre *Fusarium* responsables de la fusariose du blé, une variété de blé dur (*Triticum durum*) GTA a été utilisée. Cette variété d'origine Mexicaine est bien connue pour ses caractéristiques importantes à savoir un rendement élevé, un PMG moyen, un tallage fort, une résistance au froid et la sécheresse, une qualité semoulière bonne et une teneur en protéines de 13,36 %, mais cette variété est très sensible à la fusariose du blé. C'est cette dernière caractéristique qui est recherchée dans notre étude pour tester le pouvoir des champignons du genre *Trichoderma* à anéantir les champignons du genre *Fusarium*.

II.2 Méthodes

II.2.1 Préparation de la suspension sporale de l'agent pathogène et l'agent antagoniste

La préparation du *Fusarium* a été cultivée sur 6 boîtes de Pétri sur milieu potato-saccharose-agar (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 milieu sur la surface de chaque plaque, puis soigneusement raclée jusqu'à ce que la partie superficielle du champignon soit récupérée. Le mélange de macroconidies, mycélium et milieu PSA a été récupéré dans un bécher puis filtré à travers une double couche d'étamine. La concentration de la suspension de macroconidies 6×10^6 macroconidies/ml a été ajustée, à l'aide de cellule de mallassiez en appliquant la loi :

$$Y = \frac{N \times f \times F}{n \times V}$$

Où :

N : nombre de cellules comptées

f : facteur de dilution

F : facteur de conversion (10^6)

n : nombre de carrés

V : volume de comptage (ul)

Pour le test d'inoculation de l'épi en champ, le même protocole a été suivi pour la préparation de la suspension sporale de *Trichoderma* sauf que la concentration de la suspension est différente (1×10^8) et la culture sur milieu PSA n'a duré que 10 jours (sporulation rapide).

II.2.2 Préparation du champ

Un terrain de 7,5 m de longueur et de 4 m de largeur a été utilisé pour la réalisation des expérimentations *in vivo* et sous des conditions environnementales non contrôlées et naturelles.

La première étape de désherbage a commencé le mois de novembre de l'année 2020 suivie du retournement de la terre.

Matériel et Méthodes

Le terrain a été divisé selon un plan de travail bien étudié où 15 parcelles de 1m² ont été générées représentant chacune une expérience bien déterminée (**Figure 8**).



Figure 8 : Parcelles générées pour la réalisation des différents tests

1	0.5m	6		5
4		2		4
5		3		4
6		3		6
2		1		3

Matériel et Méthodes

Le schéma suivant représente la procédure suivie dans la réalisation des expérimentations :

- Cas N01: **Témoin négatif**
- Cas N02 : **Graines traitées avant semis avec l'agent antagoniste (A) + Pulvérisation avec (A) + l'agent pathogène (P)**
- Cas N03 : **Traitement de l'épi avec Pulvérisation de (A) seulement**
- Cas N04 : **Témoin positif (P)**
- Cas N05 : **Graines traitées avant semis (A) + (P)**
- Cas N06 : **Traitement de l'épi avec pulvérisation (A) + P**

II.2.3 Semis

Le semis avait commencé le mois de novembre de l'année 2020 où un nombre de 240 graines a été semé par m². Toutes les graines ont été nettoyées et stérilisées à l'eau de javel à 2% 3 fois puis rincées à l'eau distillée 3 fois également. Les graines n'ont subi aucun traitement sauf pour les cas 2 et 5 où elles ont été submergées par la solution sporale de *Trichoderma* avant le semis.

II.2.4 Entretien du champ

Pour une meilleure production du blé semé, le champ est désherbé et arrosé chaque semaine. Dans le but d'assurer tous les éléments nutritifs pour la croissance des plantes, l'ajout d'engrais s'avère nécessaire où le NPK a été ajouté au mois de janvier 2021 à raison de 10.8 g de NPK par parcelle.

II.2.5 Pulvérisation et inoculation

La pulvérisation par la suspension sporale de l'agent antagoniste (A) préparée précédemment a été effectuée avant une semaine de la floraison du blé, (cas 2, cas 3 et cas 6). Dans chaque cas d'expérimentation, les 10 meilleurs épis sont pulvérisés pulvérisant avec environ 2 ml de la suspension sporale sur les deux côtés de l'épi, puis étiquetés par numéros de 1 à 10.

Après une semaine, l'inoculation par la suspension sporale de l'agent pathogène (P) préparée précédemment a été réalisée dans les cas suivants : cas 2, cas 4, cas 5 et cas 6.

Le but de ce traitement est de voir l'activité des deux champignons sur le blé et l'effet antagoniste de (A) sur (P).

II.2.6 Récolte

Au stade final de développement du blé chaque épi a été récolté puis égrené à la main afin de récupérer tous les grains. Ces derniers ont été comptés et pesés afin d'obtenir le poids de mille grains (PMG) de la variété inoculée et non inoculée.

Chapitre III

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion

III.1 Résultats de l'effet de l'agent pathogène *Fusarium* sur le blé

Les résultats de l'effet de l'agent pathogène dans le cas 02 sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Cas numéro 02 : Graines traitées avant semis avec l'agent antagoniste

Les cas	épi	PES1	PES2	PES3	PES4	AUDPC	AUDPC moyenne
cas N02 Parcelle A	1	0	0	0	0	0	
	2	0	15	20,5	95	25,5178571	
	3	0	9	14	94	21,1428571	
	4	0	8	16	100	22,2857143	
	5	0	10	13	20	10,6071429	19,28035714
	6	0	11	16	94	22,5	
	7	0	5	7	100	18,3214286	
	8	0	4	11	100	19,25	
	9	0	0	16	100	19,4285714	
	10	0	23	35	100	33,75	
Parcelle B	1	0	6	25	100	24,4642857	
	2	0	8	29	100	26,4642857	
	3	4	57	88	100	63,6428571	
	4	0	6	29	100	25,75	
	5	3	28	64	100	45,3928571	33,52142857
	6	0	6	15	100	21,25	
	7	0	63	100	100	68,9285714	
	8	0	2	13	80	16,3214286	
	9	0	2	23	100	22,3928571	
	10	0	6	21	82	20,6071429	
Parcelle C	1	0	17	51	100	36,75	
	2	0	8	28	100	26,1428571	
	3	0	12	28	100	27,5714286	
	4	0	5	21	100	22,8214286	
	5	43	66	83	100	72,2142857	42,11428571
	6	7	39	74	100	53,25	
	7	0	48	85	100	58,75	
	8	16	50	63	100	55,25	
	9	0	31	53	100	42,3928571	
	10	0	4	32	100	26	

Résultats et Discussion

Les statistiques obtenues montrent une augmentation de la croissance mycélienne du *Fusarium*. Par exemple dans ce cas après 22 jours d'inoculation par l'agent P, la majorité des épis dans les 3 parcelles ont un pourcentage de la maladie arrivant jusqu'à 100%.

A propos de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve) on remarque qu'il change d'un épi à un autre, par exemple dans la parcelle A, il est de 19,28, dans la parcelle B, il est de 33,52 et dans la parcelle C, il est de 42,11. Donc il varie selon la résistance de l'épi à l'agent P.

Les résultats de l'effet de l'agent pathogène dans le cas 04 sont résumés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Cas numéro 04 : Témoin positif

cas N04	1	4	38	100	100	60,7142857	
	2	0	26	100	100	55,7142857	
	3	21	100	100	100	85,8928571	
	4	11	100	100	100	84,1071429	
	5	0	0	11	100	17,8214286	57,78928571
	6	2	27	94	100	54,5	
	7	0	21	99	100	53,6071429	
	8	0	15	100	100	51,7857143	
	9	4	22	100	100	55	
	10	5	32	100	100	58,75	
Parcelle A	1	0	13	90	100	47,8571429	
	2	7	100	100	100	83,3928571	
	3	3	29	87	100	53,1428571	
	4	0	9	48	100	32,9285714	
	5	22	100	100	100	86,0714286	
	6	0	0	13	100	18,4642857	50,47857143
	7	5	100	100	100	83,0357143	
	8	0	0	15	41	10,6785714	
	9	8	100	100	100	83,5714286	
	10	0	0	2	35	5,64285714	
Parcelle B	1	0	100	100	100	82,1428571	
	2	0	48	100	100	63,5714286	
	3	0	5	15	90	19,4642857	
	4	0	0	0	83	11,8571429	
	5	0	5	52	100	32,7857143	35,27142857
	6	0	0	28	79	20,2857143	
	7	0	60	60	100	55	
	8	2	31	41	83	36,4642857	
	9	0	0	6	82	13,6428571	
	10	0	5	16	74	17,5	
Parcelle C	1	0	100	100	100	82,1428571	
	2	0	48	100	100	63,5714286	
	3	0	5	15	90	19,4642857	
	4	0	0	0	83	11,8571429	
	5	0	5	52	100	32,7857143	35,27142857
	6	0	0	28	79	20,2857143	
	7	0	60	60	100	55	
	8	2	31	41	83	36,4642857	
	9	0	0	6	82	13,6428571	
	10	0	5	16	74	17,5	

Résultats et Discussion

Les statistiques obtenues montrent une forte augmentation de la croissance mycélienne du *Fusarium*. Presque tous les épis dans les 3 parcelles ont atteint les 100%, tous les grains sont touchés par la fusariose.

L'AUDPC est élevé, il atteint jusqu'à 57,78 dans la parcelle A, 50,47 dans la parcelle B et 35,27 dans la parcelle C.

Les résultats de l'effet de l'agent pathogène dans le cas 05 sont résumés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Cas numéro 05 : grains traités avant semis (A) + P

casN05 Parcelle A	1	0	100	100	100	82,1428571	40,63214286
	2	0	5	17	68	16,9642857	
	3	0	6	100	100	48,5714286	
	4	0	6	86	100	44,0714286	
	5	0	5	20	74	18,7857143	
	6	0	11	81	95	43,5357143	
	7	0	0	0	79	11,2857143	
	8	0	5	72	100	39,2142857	
	9	0	33	91	100	55,3214286	
	10	0	9	90	100	46,4285714	
Parcelle B	1	0	6	21	100	23,1785714	28,9
	2	0	0	9	100	17,1785714	
	3	0	4	29	100	25,0357143	
	4	58	60	100	100	78,2142857	
	5	0	2	20	84	19,1428571	
	6	0	6	25	100	24,4642857	
	7	0	9	24	92	24,0714286	
	8	0	10	32	75	24,5714286	
	9	0	3	52	85	29,9285714	
	10	0	0	42	68	23,2142857	
Parcelle C	1	0	0	35	100	25,5357143	31,81428571
	2	0	15	45	100	34,1071429	
	3	0	9	29	92	25,6785714	
	4	0	7	30	100	26,4285714	
	5	0	17	56	88	36,6428571	
	6	5	40	91	100	58,7142857	
	7	0	0	9	100	17,1785714	
	8	0	5	27	92	23,6071429	
	9	0	10	15	100	22,6785714	
	10	0	32	68	100	47,5714286	

Résultats et Discussion

Les statistiques dans ce cas montrent un ralentissement de la croissance mycélienne de *Fusarium* par rapport aux cas précédents, le nombre des épis touchés par la Fusariose est faible dans les 15 premiers jours grâce à l'effet de l'agent antagoniste, par exemple dans la parcelle A le pic numéro 7 et dans les 15 premiers jours, aucun épi n'est touché par la fusariose, les autres pics montrent un ralentissement dans le développement de la Fusariose.

L'AUDPC est réduit dans ce cas : parcelle A 40, 63, B 28, 9 et C 31,81 grâce à l'effet de (A).

Les résultats de l'effet de l'agent pathogène dans le cas 06 sont résumés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Cas numéro 06 : Traitement de l'épi avec pulvérisation (A) + P

casN06 Parcelle A	1	0	26	100	100	55,7142857	28,49642857
	2	0	13	31	100	28,8928571	
	3	0	14	27	90	26,5357143	
	4	0	2	2	17	3,78571429	
	5	0	11	31	72	24,1785714	
	6	0	6	11	26	9,39285714	
	7	0	3	18	100	21,1428571	
	8	0	100	100	100	82,1428571	
	9	0	0	20	100	20,7142857	
	10	0	4	9	57	12,4642857	
Parcelle B	1	23	100	100	100	86,25	52,40714286
	2	0	14	100	100	51,4285714	
	3	0	42	100	100	61,4285714	
	4	11	100	100	100	84,1071429	
	5	0	7	29	100	26,1071429	
	6	9	29	96	100	57,1071429	
	7	2	14	54	100	37	
	8	0	16	93	100	49,8928571	
	9	0	29	87	100	52,6071429	
	10	0	0	12	100	18,1428571	
Parcelle C	1	5	59	93	100	66,1428571	53,73928571
	2	0	24	26	94	30,3571429	
	3	0	100	100	100	82,1428571	
	4	0	100	100	100	82,1428571	
	5	0	15	31	92	28,4642857	
	6	8	100	100	100	83,5714286	
	7	0	16	43	100	33,8214286	
	8	0	16	87	100	47,9642857	
	9	0	49	100	100	63,9285714	
	10	0	2	12	100	18,8571429	

Résultats et Discussion

Les statistiques dans ce cas montrent un ralentissement de la croissance mycélienne de *Fusarium* mais elle est un petit peu accélérée par rapport au cas précédent.

L'AUDPC est élevé dans la parcelle B et C 52,40 et 53,73 respectivement. Il est réduit dans la parcelle A.

III.2 Résultats du poids de mille grains de chaque cas

Les résultats du poids de 1000 grains dans les différents cas sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 5 : Poids de mille grains

Cas	répétition1			répétition2			répétition3		
	N° grains	poids (g)	PMG	N° grains	Poids	PMG	N° grains	Poids	PMG
1	388	15,55	40,0773196	472	17,24	36,5254237	484	21,37	44,1528926
2	288	9,06	31,4583333	286	7,88	27,5524476	294	8,61	29,2857143
3	441	19,48	44,1723356	526	22,32	42,4334601	529	22,46	42,4574669
4	343	10,27	29,941691	382	11,18	29,2670157	304	9,2	30,2631579
5	322	10,87	33,757764	300	8,48	28,2666667	309	10,43	33,7540453
6	264	7,65	28,9772727	230	7,26	31,5652174	336	9,07	26,9940476

-Cas 01 : un nombre de grains entre 388 dans la parcelle A à 484 dans la parcelle C a été enregistré avec un poids de mille grains entre 36 et 44, ce cas a montré de meilleurs résultats, il s'agit d'un témoin négatif qui s'est développé naturellement.

-Cas 02 : un nombre des grains entre 288 dans la parcelle A à 294 dans la parcelle C avec un poids de mille grains entre 27 et 31, ce cas représente les graines traitées avant semis avec l'agent antagoniste (A) avec pulvérisation avec (A) et une autre avec l'agent pathogène P mais les résultats montrent que le traitement avant semis n'a aucun effet.

-Cas 03 : un nombre des grains entre 441 dans la parcelle A à 529 dans la parcelle C avec un poids de mille grains entre 42 et 44. Ce cas représente le traitement de l'épi avec pulvérisation de (A) seulement. Ce cas donne le meilleur résultat grâce à l'effet de (A).

-Cas 04 : un nombre de grains entre 343 dans la parcelle A à 382 dans la parcelle C avec un poids de mille grains entre 29 et 30, il s'agit du témoin positif P. Une faible récolte grâce à l'effet de l'agent P est notée.

Résultats et Discussion

-Cas 05 : un nombre de grains entre 322 dans la parcelle A à 309 dans la parcelle C avec un poids de mille grains entre 28 et 33. Les graines traitées avant semis avec (A) + P ont enregistrées aussi une faible récolte car le traitement avant semis n'a aucun effet.

-Cas 06 : un nombre de grains entre 264 dans la parcelle A à 336 dans la parcelle C avec un poids de mille grains entre 26 et 31. Le traitement de l'épi avec pulvérisation de (A) + P donne une faible récolte.

Les moyennes du poids de mille grains et de l'AUDPC sont représentées dans le Tableau 6 et la Figure 9.

Tableau 6 : Moyenne de l'AUPDC et du PMG dans les 6 cas testés

CAS	Moyenne AUDPC	Moyenne PMG
1		40,2518
2	32,3047	29,4321
3		43,021
4	47,8463	29,8239
5	33,7815	31,9261
6	44,8809	29,1788

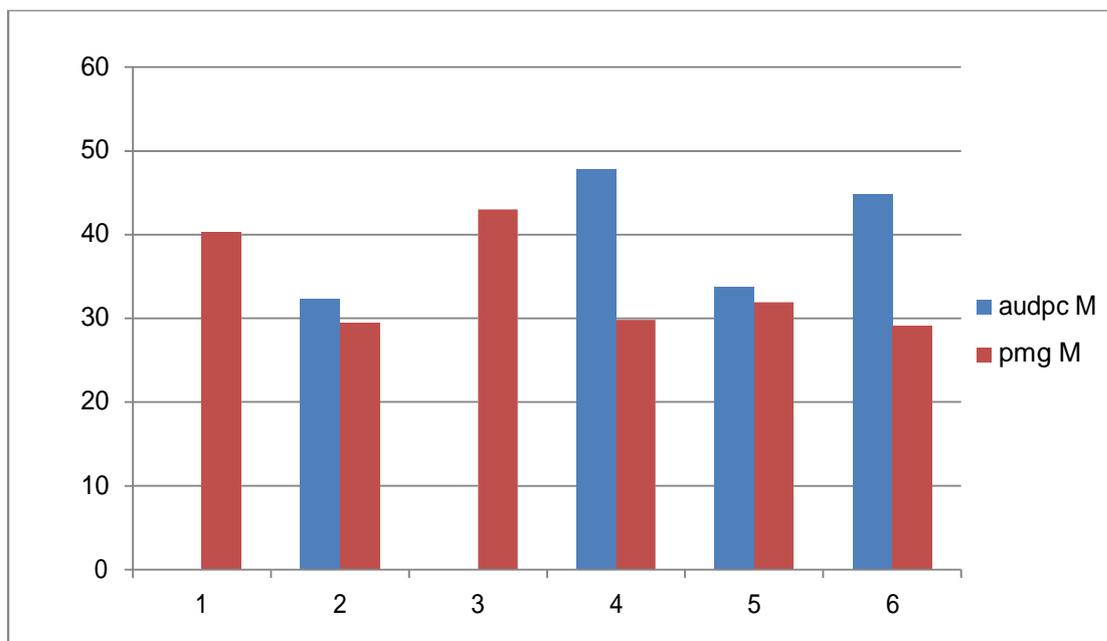


Figure 9 : Moyenne de l'AUPDC et du PMG dans les 6 cas testés

Résultats et Discussion

Cet histogramme montre que L'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve) a un effet sur le poids de mille grains où à chaque fois que l'AUDPC augmente on voit que le poids du mille grains diminue car la vitesse de développement de la maladie va empêcher le développement de l'épi et des grains.

III.3 Effet *in vivo* de la fusariose sur le blé

III.3.1 Effet *in vivo* de l'agent pathogène P sur le blé

Le résultat de l'inoculation par le P a été apparu après 10 jours par l'apparition des symptômes, et on voit que à chaque jours la maladie se développe (Tableau 1 : cas 2), par exemple dans le cas 2, le 2ème épi et après 14 jours de l'inoculation, 15% des grains de cette épi sont touchés par la Fusariose et après 22 jours 95% sont encore touchés. La figure ci-dessous montre le développement de la Fusariose.



Figure 10 : Développement de la Fusariose

III.3.2 Effet *in vivo* du *Trichoderma* (A) sur la réduction de la FCR dans le champ

-L'effet antagoniste de l'agent *Trichoderma* (A) dans l'inoculum mixte (A) + P a réduit de manière significative le pourcentage de gravité de la maladie.

-L'inoculum mixte (A) + P a réduit de manière significative le pourcentage de sévérité de la FCR.

-La pulvérisation par (A) a montré que *Trichoderma* étaient capables d'inhiber la croissance mycélienne de l'agent pathogènes.

-La différence entre le cas traité par le P seulement et le cas traité par les deux champignons (A) et P n'était pas statistiquement significatif, les paramètres largeur et épaisseur des grains montrent une variation très significative, les mesures des grains infectés par FCR seulement sont les plus petits, suivis des grains infectés par FCR et traités par le (A), en raison de l'effet antagoniste du *Trichoderma*. En revanche, la longueur des grains du blé dans les deux cas est la même comme le montre la Figure 11.

-Une amélioration remarquable du poids de mille grains de la variété inoculée et traitée avec P+ (A) a été observée, par rapport à celle inoculée avec P seulement, comme indiqué dans le cas numéro 5.



Figure 11 : Différence entre le cas traité par le P seulement et le cas traité par les deux champignons (A) et P (de gauche à droite : Témoin positif, grain traité par (A) + p, grain traité par (A) seulement)

**Conclusion Générale
et
Perspectives**

CONCLUSION GENERALE

L'agriculture en Algérie a connu un développement positif ces dernières années. Cependant ce domaine est menacé par les phytopathogènes qui attaquent les plantes cultivées. Devant cette situation nous constatons qu'en Algérie il y a peu de travaux sur le *Trichoderma spp* qui est connue comme un agent de lutte biologique contre certains champignons. C'est à cette problématique que nous avons attaché ce travail sur l'effet de l'antagoniste *Trichoderma* dont l'objectif est de connaître la meilleure méthode pour empêcher l'agent pathogène *Fusarium* de ce développé.

Au cours de cette étude, on a réalisé des expérimentations *in vivo* et sous des conditions environnementales non contrôlées et naturelles sur un terrain divisé selon un plan de travail bien étudié. A cet effet 6 expériences ont été menées dont chacune est répétée 3 fois, on a semé dans chaque cas une quantité précise de blé dur (*triticum durum*). On a provoqué certains cas par l'agent pathogène ou l'agent antagoniste et d'autres cas avec les 2 agents ensemble. Un témoin négatif a été utilisé pour comparer les résultats.

La confrontation de *Trichoderma sp* avec *Fusarium sp* se traduit par la diminution de la croissance mycélienne.

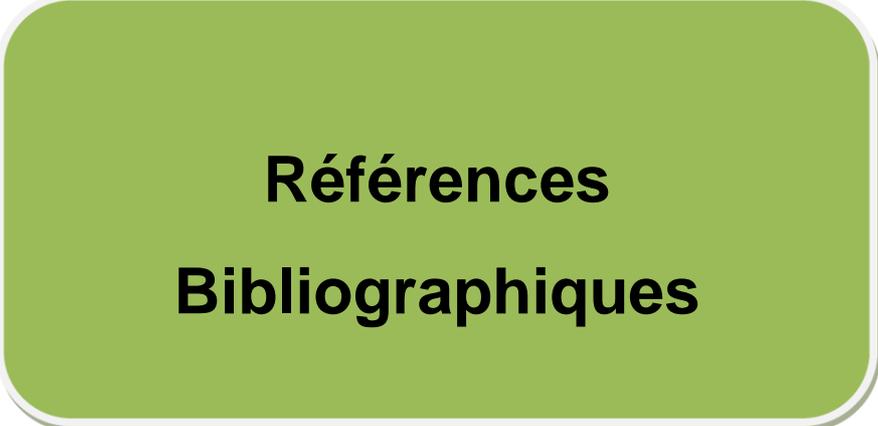
La pulvérisation de l'agent antagoniste avant une semaine de la floraison du blé est la meilleur méthode pour obtenir les bons résultats contre l'agent pathogène

La sporulation des champignons a été effectuée au sein du laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales.

PERSPECTIVES

Cette étude est une initiation, il est recommandé de réaliser des recherches approfondies qui visent principalement à :

- La recherche d'autres champignons qui ont un effet bénéfique sur le blé.
- L'évaluation de l'activité enzymatique des autres espèces de *Trichoderma*.
- L'élongation des tests de *Trichoderma* sur une gamme plus large des *Fusarium* pathogènes.



**Références
Bibliographiques**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbassenne F., Bouzerzour H., Hachemi L. (1998), Phénologie et production du blé dur (*Triticum durum* Desf.) en zone semi-aride. *Ann. Agron. INA*, (18): 24-36.

Abdellaoui Z., Tissekrat H., Belhadj A. et Zaghouane O. (2010), Etude comparative de l'effet du travail conventionnel, semi direct et travail minimum sur le comportement du blé dur. In actes des 4ème rencontres méditerranéennes du semis direct. Sétif, du 3 au 5 mai 2010. Recherche agronomique INRAA. :68-82.

Abis (2012), Le blé en Méditerranée sociétés, commerce et stratégies. Economie et territoire relations commerciales CIHEAM paris : 241-247.

Adams, P.B. (1990), The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Annu. Rev. agents de lutte biologique; INRA, UMR Microbiologie Géochimie des sols*.

Agence de réglementation. (2002), Fongicide biologique Root Shield *Trichoderma harzianum* Rifai souche KRL-AG2. Santé Canada : 32

Akrami M., Hadi G., Ahmadzadeh M., (2011), Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. *African Journal of Biotechnology*, 10: 2653-2658.

Al-Tovi BSS, Haleem RA, Pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown and root rot of wheat (*Triticum aestivum*) under different condition. *Revista Innovaciencia*. 2019;7(1):1–9.

Alexander, L. J., Tucker, C. M. (1945). Physiologic specialization in Baker, R. 1988. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants, *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 7 (2): 97-106.

Ammar M (2014), organisation de la chaine logistique dans la filière céréales en Algérie états des lieux et perspective. Thèse de doctorat de CIHEAM Montpellier

Amreen T, Kumar VBS., (2012), In vitro evaluation of native *Trichoderma harzianum* against major fungal pathogen of flower and fruit crops. *Environment and Ecology* 30: 1039- 1041

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

De Kouassi.,(2001). Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *Vertigo* 2 :2 .

Howell. C. R. (2003), Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*. Vol 87(1) :4–10.

Références Bibliographiques

- Kezih, R., Bekhouche, F., & Merazka, A. (2014)**, Some traditional Algerian products from durum wheat. *African Journal of Food Science*, 8: 30–34.
- Laraba, I., Boureghda, H., Abdallah, N., Bouaicha, O., Obanor, F., Moretti, A., Geiser, D. M., Kim, H. S., McCormick, S. P., Proctor, R. H., Kelly, A. C., Ward, T. J., & O'Donnell, K. (2017)**. Fungal population genetic structure and mycotoxin potential of the wheat crown rot and head blight pathogen *Fusarium culmorum* in Algeria. *Fungal Genetics and Biology*, 103: 34–41.
- Leslie J. F., Zeller K. A., Summerell B.A. (2001)**. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59: 107-17.
- Leslie, J.F., and Summerell, B.A. (2006)**. *The Fusarium Laboratory Manual* (Ames, Iowa: Wiley-Blackwell).
- MADRP. (2016)**. Ministère de l'agriculture et du développement durable et de la pêche.
- Nelson P.E. et Toussoun T.A. (1983)**. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State Univ Pr. 226.
- Nelson, P.E., Dignani, M.C., and Anaissie, E.J. (1994)**. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clin Microbiol Rev* 7, 479–504.
- Prieto. A., Leal. J. A., Poveda. A., Jiménez-Barbero. J., Gómez-Miranda. B., Domenech. J., Ahrazem. O., Bernabé. M. (1997)**. Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *Hypocrea* species. *Carbohydrate Research*. Vol 304(3-4) :281–291.
- Roquebert. M. F. (1996)**. Interactions antagonistes des *Trichoderma* sp dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. *Compte rendu de 4ème Rencontre en Toxicologie*, Paris : 13-15.
- Siou D. (2013)**. Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de doctorat en sciences du végétal : du gène à l'écosystème. Université Paris-sud XI : 182.
- Summerell, B.A., Salleh, B., and Leslie, J.F. (2003)**. A utilitarian Approach to *Fusarium* Identification. *Plant Disease* 87: 117–128.
- Trabelsi R., Sellami H., Gharbi Y., Krid S., Cheffi M., Kammoun S., Dammak M., Mseddi A., Gdoura R., Ali Triki M. (2017)**. Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. Associated with olive trees die back in Tunisia. *3 Biotech* 7: 28. DOI 10.1007/s13205-016-0587-3.
- Vinale. F., Marra. R., Scala. F., Ghisalberti. E. L., Lorito. M., Sivasithamparam.K. (2006)**. Major secondary metabolites produced by two commercial *Trichoderma* strains active against different phytopathogens. *Lett Appl Microbiol*. Vol 43 : 143–148.

RÉSUMÉ

Le blé dur en Algérie est exposé à de fortes contraintes environnementales telles que les maladies des plantes causées par des champignons phytopathogènes.

Le présent travail a été effectué dans le but d'étudier *in vivo* l'effet d'antagonisme de *Trichoderma sp.* sur *Fusarium sp.*, l'agent causal de la fusariose du blé.

Les résultats obtenus montrent que la confrontation de *Trichoderma sp.* vis-à-vis de *Fusarium sp.* se traduit par une inhibition de la croissance de l'agent pathogène. Un résultat important montre que le blé traité par le *Trichoderma sp.* seul présente une croissance végétative meilleure et un poids de 1000 grains plus élevé par rapport au témoin négatif.

Mots clés : Blé, *Trichoderma*, *Fusarium*, Fusariose

SUMMARY

Hard wheat in Algeria is exposed to strong environmental limitations such as plant diseases caused by phytopathogenic fungi.

The present work was carried out with the intention of studying *in vivo* the effect of antagonism of *Trichoderma sp.* on *Fusarium sp.*, the causative agent of Fusarium wilts in wheat.

The obtained results show that the confrontation of *Trichoderma sp.* and *Fusarium sp.* results in the inhibition of the growth of the pathogen. An important result reveals that *Trichoderma sp.* treated wheat shows a better vegetative growth and a 1000 grains weight higher compared to the negative sample.

Keywords: Wheat, *Trichoderma*, *Fusarium*, Fusarium wilts

ملخص

يتعرض القمح القاسي في الجزائر لقيود بيئية شديدة مثل الأمراض النباتية التي تسببها الفطريات الممرضة للنبات. تم تنفيذ هذا العمل بهدف دراسة تأثير تضاد *Trichoderma sp.* في الجسم الحي. على *Fusarium sp.* ، العامل المسبب لذبول الفيوزاريوم في القمح.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مواجهة *Trichoderma sp.* و *Fusarium sp.* يؤدي إلى تثبيط نمو العامل الممرض. نتيجة مهمة تكشف أن *Trichoderma sp.* أظهر القمح المعالج نمو خضري أفضل ووزن 1000 حبة أعلى مقارنة بالعينة السلبية

الكلمات الدالة: القمح *Trichoderma*, *Fusarium* الفيوزاريوم

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Option : Biochimie

Présenté par : **KAABAR Hakim**

ABBASSI Abderahman

Année universitaire : **2020/2021**

Thème

**Évaluation in vivo du pouvoir antagoniste des champignons du genre
Trichoderma contre le Fusarium culmorum sous des conditions
environnementales naturelles et non contrôlées**

Résumé

Le blé dur en Algérie est exposé à de fortes contraintes environnementales telles que les maladies des plantes causées par des champignons phytopathogènes.

Le présent travail a été effectué dans le but d'étudier *in vivo* l'effet d'antagonisme de *Trichoderma sp.* sur *Fusarium sp.*, l'agent causal de la fusariose du blé.

Les résultats obtenus montrent que la confrontation de *Trichoderma sp.* vis-à-vis de *Fusarium sp.* se traduit par une inhibition de la croissance de l'agent pathogène. Un résultat important montre que le blé traité par le *Trichoderma sp.* seul présente une croissance végétative meilleure et un poids de 1000 grains plus élevé par rapport au témoin négatif.

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie.

Université des frères Mentouri Constantine 1.

Mots clés : Blé, *Trichoderma*, *Fusarium*, Fusariose

Jury d'évaluation :

Présidente : Dr. BECHKRI Sakina (MCA)

Encadreur : Dr. BELIL Ines (MCA)

Examinatrice : Dr. ABDELAZIZ Ouided (MCB)

Tuteur : Mr. BOUANAKA Hamza (Doctorant)