

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة |
Frères Mentouri Constantine | University
Université Frères Mentouri Constantine |

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et écologie végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا وعلم البيئة النباتية

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Dans le cadre de l'arrêté 1275**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Intitulé :

**Caractérisation et évaluation du potentiel
Biocontrôle d'une collection de *Trichoderma*
issus d'un écosystème forestier**

Présenté et soutenu par :

BOUSSEHAL Maroua

MEKTI Layal Inès

Soutenu le : 04/07/2023

Jury d'évaluation :

Président du jury : CHAIB Ghania (Pr – UFM1 Constantine)

Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (MRB - INRAA Constantine)

Co-Encadrant : Dr. BOUDCHICHA Rima - Hinde (MRB - CRBt Constantine)

Examineur : Dr. ABDELAZIZ Ouidad (MCB – UFM1 Constantine)

Maison de l'entreprenariat : BENSOUICI Aicha (Pr _ UFM1 Constantine)

Secteur Socioéconomique : BOUBENDIR Hichem (Catalyse Lab)

Année universitaire 2022 – 2023

Remerciements

Tout d'abord nous remercions dieu qui nous a donné la force le courage et la santé de débiter et de terminer ce travail sur la bonne voie.

En guise de reconnaissance, nous tenons à témoigner nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de notre travail de fin d'étude.

Ce travail ne serait pas aussi riche et réussi sans l'aide et l'encadrement de Dr. Harrat Wahiba (Chercheur à l'Institut National de la Recherche Agronomique en Algérie - INRAA - Unité de Recherche Constantine (URC)), on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience et ses conseils, aussi pour sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Nos chaleureux remerciements à Pr. CHAIB Ghania (Professeur à l'université Frères Mentouri Constantine 1), de nous avoir honoré en présidant le jury.

Nos remerciements s'adressent également à Dr. ABDELAZIZ Ouided (Enseignante à l'université Frères Mentouri de Constantine 1) pour avoir bien voulu examiner ce travail.

On remercie également toutes les personnes qui par leurs paroles leurs conseils ont guidé nos choix et réflexions.

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail à mes parents Hacene et Selma, mes êtres les plus chers au monde. Sans leur soutien inconditionnel et leurs prières, je n'aurais jamais pu en arriver là. La fierté que je vois dans leurs yeux me donne le courage et la détermination d'aller encore plus loin.

Je souhaite également dédier ce travail à ma sœur Rahma, ma confidente, qui me soutient et me comble de joie à chaque étape de ma vie.

À mes amours, Yahia et Israa, mes petits anges qui illuminent ma vie, je leur dédie ce travail avec tout mon amour.

Enfin, je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers madame Wahiba Harrat, pour tous ses efforts et son soutien. Je lui suis reconnaissante d'avoir partagé son savoir et ses compétences avec générosité.

Maroua

Dédicace

Je dédie ce travail aux personnes les plus cher au monde pour moi

A mes très très chers parents

Mon père **Mekti Lamine**

Ma mère Ali **guechi Nadjia**

Qui ont été toujours là pour moi dans toutes les épreuves difficiles

Qui m'ont poussées à aller loin dans mes études et qui m'ont données le courage
Pendant tout mon parcours.

Layel - Ines

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre 1. Ecosystème forestier.....	4
1.1. Introduction	4
1.2. La litière forestière.....	4
1.3. Propriétés microbiologiques du sol	4
1.4. Microflore	5
1.5. Interaction microbienne végétal écosystémique.....	5
1.6. Les écosystèmes forestiers en Algérie.....	6
Chapitre 2. Le genre <i>Trichoderma</i>	8
2.1. Introduction	8
2.2. Taxonomie.....	8
2.3. Ecologie de <i>Trichoderma</i>	10
2.4. Survie de <i>Trichoderma</i> dans le sol	11
2.5. Morphologie de <i>Trichoderma</i>	12
2.5.1. Généralité	12
2.5.2. Sporulation	13
2.5.3. Germination.....	13
2.5.4. Aspects macroscopique et microscopique.....	14
2.6. Etude phylogénétique de <i>Trichoderma</i> caractérisées par des données moléculaires	16
Chapitre 3. <i>Trichoderma</i> comme agent de lutte biologique.....	17
3.1. Généralités	17
3.2. Mode d'action de <i>Trichoderma</i>	18
3.3. Mycoparasitisme.....	18
3.4. Antibiose de <i>Trichoderma</i>	19
3.5. Compétition de <i>Trichoderma</i> pour les nutriments et l'espace	20
3.6. Croissance des plantes	21
3.7. Impacte de <i>Trichoderma</i> sur l'agriculture durable	22
ETUDE EXPERIMENTALE	
1. Matériels et méthodes	24
1.1. Matériel fongique	24
1.2. Préparation du milieu de culture.....	25
1.3. Ravivement de la gamme <i>Trichoderma</i>	26

1.4.	Etapes de caractérisation morphologiques des <i>Trichoderma</i>	27
1.4.1.	Repiquage des souches <i>Trichoderma</i>	27
1.4.2.	Mesure de la croissance mycélienne	28
1.4.3.	Observation Macroscopique.....	28
1.4.4.	Observation Microscopique	30
1.5.	Evaluation de l'activité antagoniste <i>in vitro</i>	31
1.5.1.	Méthode confrontation directe	31
1.5.2.	Mesures du taux d'inhibition :	32
1.6.	Caractérisation moléculaire de quelques isolats de <i>Trichoderma</i>	32
1.6.1.	Extractions de l'ADN génomique	32
1.6.2.	Amplification des amorces universelles.....	33
1.6.3.	Séquençage sanger et alignement des séquences par l'outil BLAST.....	34
1.7.	Traitement et analyse des données	35
2.	Résultats et discussions.....	36
2.1.	Vitesse de croissance mycelienne.....	36
2.2.	Observation et caractérisation morphologiques	38
2.2.1.	Répartition en fonction de l'aspect des colonies.....	39
2.2.2.	Caractérisation à partir de la structure morphologique et du mode de croissance 41	
2.2.3.	Répartition en fonction de l'aspect morphologique du mycélium.....	41
2.2.4.	Répartition en fonction de la pigmentation et coloration.....	42
2.2.5.	Répartition à partir de l'élévation du mycélium.....	46
2.2.6.	Identification microscopique.....	47
2.3.	Identification moléculaire.....	47
2.4.	Test de confrontation direct.....	51
	CONCLUSION	55
	Références bibliographiques	58
	Résumé	68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Evolution de la superficie forestière entre 1984 et 2009 (IFNs 1984, 2009).	6
Tableau 2. Classification des espèces de <i>Trichoderma</i>	9
Tableau 3. Provenance des 20 isolats de <i>Trichoderma</i> étudiés provenant de différentes régions de l'écosystème forestier en Algérie.....	24
Tableau 4. Analyse statistique des moyennes de vitesse de croissance des 20 isolats de <i>Trichoderma</i> étudiés.....	38
Tableau 5. Groupes homogènes et moyennes de vitesse de croissance (mm/j), selon le test de tukey pour $\alpha = 0,05$	38
Tableau 6. Classification des 20 isolats étudiés en fonction des groupes de couleurs selon le code universel de la couleur verte.	43
Tableau 7. Classification des 20 isolats étudiés en différents groupes selon leur élévation mycélienne.	46
Tableau 8. Résultats des analyses moléculaires d'identification des différentes espèces de <i>Trichoderma</i> étudiées.....	48

LISTES DES FIGURES

Figure 1. Carte de répartition des forêts en Algérie du Nord.	7
Figure 2. Les cinq sections systématiques du genre <i>Trichoderma</i> spp. Selon Bisset (1991)...	10
Figure 3. Aspect morphologique d'un conidiophore de <i>Trichoderma harzianum</i> (Samuels et al., 1994).....	15
Figure 4. Schéma de l'interaction mycoparasitaire des hyphes de <i>Trichoderma</i> avec les hyphes de champignons pathogènes.....	19
Figure 5. Transformation de la forme insoluble du fer (Fe^{3+}) en une forme soluble et facilement assimilable (Fe^{2+}) par des sidérophores produits par des champignons <i>Trichoderma</i>	21
Figure 6. Préparation du milieu de culture Agar Pomme de Terre Dextrose (PDA)	25
Figure 7. Protocole de ravinement des isolats de <i>Trichoderma</i> et culture sur milieu PDA. (A) Transfert d'isolats de <i>Trichoderma</i> dans des boîtes de Pétri avec milieu PDA ; (B) Incubation des boîtes des souches.	26
Figure 8. Colonies de <i>Trichoderma</i> sur milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation en boîte de Pétri.....	27
Figure 9. Techniques de repiquage des souches de <i>Trichoderma</i> dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA.	28
Figure 10. Code universel de la couleur verte pour l'identification et la pigmentation de <i>Trichoderma</i>	29
Figure 11. Terminologie spécifique pour la description des types de colonies courants dans nos souches étudiées de <i>Trichoderma</i>	29
Figure 12. Méthode réalisée pour l'observation microscopique et l'identification des structures caractéristiques de <i>Trichoderma</i>	30
Figure 13. Confrontation directe de <i>Trichoderma</i> avec un pathogène in vitro sur un milieu solide.	31
Figure 14. Réalisation des confrontations directes au laboratoire.	32
Figure 15. Méthodologie pour l'identification des espèces de <i>Trichoderma</i> dans nos souches étudiées, utilisant des analyses moléculaires au CRBT.	34
Figure 16. Les vitesses de croissance (mm/ jour) mycélienne calculées pour chaque isolat <i>Trichoderma</i> étudiés.....	37
Figure 17. Illustration macroscopique des différentes colonies de <i>Trichoderma</i>	39

Figure 18. Caractérisation des isolats de Trichoderma en fonction de la couleur de leur face recto et verso.	45
Figure 19. Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des trois espèces de Trichoderma. (1) recto ; (2) revers de la boîte de Pétri ; (3) Aspect microscopique. (T16)T. afroharzianum ; (T2) T. longibrachiatum ; (T15) T. Harzianum	50
Figure 20. Comparaison des taux d'inhibition des deux pathogène pathogène par <i>Trichoderma sp.</i>	51
Figure 21. Confrontation directe entre Trichoderma sp. Avec Alternaria sp. (A) et Verticillium sp. (V) ; (T16) T. afroharzianum, (T2) T. longibrachiatum, (T15) T. harzianum.....	53

LISTE DES ABREVIATIONS

IFN : inventaires forestiers nationaux.

FAO : *Food and agriculture organisation* (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture).

INRAA : Institut national de la recherche agronomique d'Algérie.

URC : Unité de Recherche Constantine.

PH : Potentiel Hydrogène.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

Tef1- α : *Translation Elongation Factor 1-alpha*.

ITS : Internal Transcribed Spacer.

ARNr : acide ribonucléique ribosomique.

BCA : *Biological Control Agents* (Agents de Lutte Biologique).

PDA : Agar pomme de terre-dextrose.

CTAB : Cetyltrimethylammonium bromide

CIA : Chloroforme-isoamyle alcool.

DNTP : Désoxyribonucléoside triphosphate.

RNase : Ribonucléase.

PCR : *Polymerase Chain Reaction* (Réaction de Polymérisation en Chaîne).

NCBI : *National Center for Biotechnology Information*.

IBM SPSS Statistics 24 : Statistical Package for the Social Sciences.

ANOVA : Analyse de la variance.

ICTT : *l'International Commission on Trichoderma Taxonomy*.

MIST : *Multilocus Identification System for Trichoder*

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans le domaine de l'agriculture, la révolution verte a apporté l'élan nécessaire pour améliorer considérablement la production agricole durable. Toutefois, en raison de la nécessité d'utiliser des intrants importants, nous avons réexaminé la manière dont les technologies durables peuvent être mises en place pour améliorer la productivité des cultures (Zadoks et Waibel, 1999).

De plus, les recherches actuelles confirment l'impact positif des microorganismes bénéfiques sur la santé des plantes et leur productivité. Ces microorganismes, tels que *Trichoderma* favorise l'absorption des nutriments, renforce la résistance aux maladies et accroît la tolérance des plantes au stress environnemental (Compant *et al.*, 2019 ; Khan *et al.*, 2021). Ainsi, l'utilisation de ce champignon en tant qu'intrant agricole prometteur ouvre de nouvelles perspectives pour une agriculture durable et respectueuse de l'environnement.

Les *Trichoderma* sont depuis longtemps reconnus en tant qu'agents biologiques substituant les fongicides commerciaux dans la lutte contre un large éventail de pathogènes fongiques (Howell, 2003 ; Harman, 2000 ; Ranasingh *et al.*, 2006 ; Harman et Shores, 2007 ; Saba *et al.*, 2012). Ils ont démontré leur efficacité contre plusieurs pathogènes responsables de la pourriture des racines, du sol et du feuillage (Elad *et al.*, 1998 ; Elad, 2000 ; Chaube *et al.*, 2002 ; Harman, 2006). De plus, ils sont connus pour leur capacité à améliorer le développement des racines et des pousses, ainsi que la productivité des cultures. Les *Trichoderma* sont également bénéfiques pour la résistance aux stress abiotiques et l'absorption des nutriments (Monte et Llobell, 2003 ; Harman, 2006 ; Ranasingh *et al.*, 2006 ; Saba *et al.*, 2012). Leur utilisation améliore la productivité des cultures sans causer de déséquilibre écologique ni de préjudice social. De ce fait, ils contribuent à la sécurité alimentaire durable.

Outre les avantages qu'ils offrent aux plantes, les *Trichoderma* se distinguent également par leur morphologie diversifiée et leur diversité génétique qui contribue à leur adaptabilité et à leur capacité d'interaction avec leur environnement (Herman *et al.*, 2004 ; Cummings *et al.*, 2016). Cette diversité morphologique se manifeste notamment par la variation des conidiophores, des phialides et des spores produites (Atanasova *et al.*, 2013 ; Jaklitsch, 2009 ; Bissett, 1991).

D'un point de vue génétique, les *Trichoderma* présentent une diversité génétique considérable, ce qui témoigne de leur potentiel évolutif et de leur capacité à répondre aux changements environnementaux et de coloniser une large gamme d'écosystèmes et de s'adapter aux conditions spécifiques de chaque environnement (Wachowska *et al.*, 2016 Druzhinina *et al.*,2012).

L'objectif de notre travail est de réaliser une caractérisation morphologique et moléculaire d'une gamme de 20 isolats de *Trichoderma* appartenant à la mycothèque de L'INRAA-Unité de Recherche Constantine, isolés à partir sols de système forestiers algériens et d'évaluer le potentiel antagoniste *in vitro*, de certaines espèces identifiées de la gamme, vis-à-vis de deux champignons pathogènes « *Verticillium sp.* et *Altérnaria sp.* ».

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. Ecosystème forestier

1.1. Introduction

La présence des écosystèmes forestiers assure la survie de plusieurs espèces, dont les êtres humains. Elles ont un rôle fondamental dans la régulation et le maintien du climat et dans la production de nourriture (Christine, 2016).

L'écosystème forestier est un système écologique complexe, dynamique et en évolution, constitué d'une communauté biotique (végétaux, animaux et micro-organismes), ainsi que d'un environnement abiotique (sol, eau et air), qui interagissent pour former un équilibre écologique global (European Forest Institute, 2021).

Un écosystème forestier est composé d'espèces végétales et animales, de champignons, de bactéries, de parasites et de matière non vivante (Bouzerzour *et al.*, 2021).

1.2. La litière forestière

La litière dans un écosystème forestier est composée de la matière organique morte qui tombe sur le sol depuis la canopée de la forêt, comprenant les feuilles, les branches, les fruits, les graines, les écorces, les champignons morts, les insectes... (Wardle, 2002).

La faune du sol joue un rôle important dans le conditionnement de la litière et la stimulation

De l'action microbienne, tandis que les microbes du sol sont les principaux moteurs des processus de décomposition (Coleman et Crossley, 1996). La principale faune du sol et les microbes associés à la décomposition de la litière comprennent les algues, les actinomycètes, les bactéries et les champignons (McCarthy, 1987 ; Schaefer et Schauer mann, 1990).

1.3. Propriétés microbiologiques du sol

Le sol est un milieu vivant, constitué d'un réservoir exceptionnel de microorganismes (Davet, 1996) formant des populations de différents genres. La distribution et l'activité de ces

Populations est variable d'une région à une autre et dépend du contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le PH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (Ruark et Zarnoch, 1992, Madigan *et al.*, 1997, Subler et Kirsch, 1998, Peuk, 2000, Smith *et al.*, 2000 et Katterer et Andoren, 2001).

Les communautés microbiennes peuvent être influencées de plusieurs façons, notamment la perturbation des membranes cellulaires, l'altération de la production d'enzymes et la limitation de la reproduction. Cela amène à la perturbation de la santé et la productivité du sol (Birgander *et al.*, 2014).

1.4. Microflore

La microflore du sol est l'ensemble des micro-organismes présents dans un écosystème

Donné. Elle comprend principalement des bactéries, des champignons, des virus et des protozoaires qui interagissent entre eux et avec leur environnement pour maintenir l'équilibre écologique (Bull et Stenlid, 2012).

La microflore joue un rôle crucial dans la santé des sols et des écosystèmes en général. Elle participe notamment à la décomposition de la matière organique, à la fixation de l'azote atmosphérique, à la régulation du pH du sol, à la disponibilité des nutriments pour les plantes et à la résistance aux pathogènes (Bardgett *et al.*, 1999 ; Madigan *et al.*, 2000 ; Philippot *et al.*, 2013).

1.5. Interaction microbienne végétal écosystémique

Contrairement aux animaux, les plantes ne peuvent pas se déplacer pendant leurs cycles de développement et ont développé des stratégies pour s'adapter à leur environnement. Les plantes sont colonisées par un microbiote abondant et diversifié qui contribue à l'adaptation des plantes aux stress abiotiques et biotiques (Lemanceau *et al.*, 2016).

Bien que les plantes aient développé leurs propres adaptations pour atténuer la plupart des stress biotiques et abiotiques dans la nature, elles comptent également sur leurs partenaires microbiens pour survivre et se défendre contre les envahisseurs on site sur ce fait quelques champignons bénéfiques pour le sol et les plantes tel que *Trichoderma*, *Gloméromycètes*, *Penicillium*, *Trametes*, *Mycorhizes*...etc.

D'autre part il existe de nombreux agents potentiellement pathogènes avec une répercussion nuisible pouvant avoir un impact important sur la biodiversité en affectant la croissance et la productivité des arbres, ainsi que la composition de l'écosystème forestier. Ils peuvent également avoir un impact économique important pour l'industrie forestière en causant des pertes de revenus, on site sur ce fait quelques espèces de champignons néfaste à la santé de

l'écosystème forestier tel que *Cryphonectria parasitica*, *Heterobasidion annosum*, *Phytophthora sp.*, Le mildiou du pin, La maladie de l'encre...etc.

1.6. Les écosystèmes forestiers en Algérie

L'Algérie se situe parmi les pays méditerranéens qui présentent une grande diversité

Écologique sur le plan bioclimatique, morphologique et floristique. Cette diversité se traduit par une richesse de paysages et de milieux naturels variés (Yefsah, 2016).

La position géographique et les variations importantes du climat en Algérie induisent des écosystèmes forestiers à la fois diversifiés et fragiles (Mezali, 2003).

Les terres forestières (forêts, maquis et reboisements) occupent 4 115 908 ha (**Tab.1**). Elles sont constituées à 58% de maquis et maquis arborés et à 41% de forêts proprement dites « formations arborées » (IFN, 2009). Ces chiffres sont à rapporter aux 4 milliards d'hectares forestiers à l'échelle du globe (FAO, 2010). Le taux de boisement en Algérie est de 16,7% pour le nord de l'Algérie selon le document IFN (2009). L'espace forestier est rapporté à l'ensemble du territoire national, il varie selon les statistiques autour de 2% (**Fig. 1**). Ce taux de boisement est évidemment insuffisant pour assurer l'équilibre physique et biologique. L'essence prédominante est le pin d'Alep qui occupe 1 145 464 ha (IFN, 2009).

Les forêts font partie du domaine public de l'Etat. La surface sylvatique potentielle est de 13000000 ha. Elle est définie à partir des correspondances entre les aptitudes des espèces dominantes et les potentialités écologiques.

Tableau 1. Evolution de la superficie forestière entre 1984 et 2009 (IFNs 1984, 2009)

Classe nationale	Superficie (ha) IFN 1984	Superficie (ha) IFN 2003	% variation	Superficie (ha) IFN 2009	% variation
Forêts denses	753000	584659	-22	1440822	+3,96
Forets claires	719000	801235	+11		
Maquis	1876000	2560241	+36	2413090	-5,74
Reboisements	247000	141178	-42	261996	+85,72
Vides	50000	-	-	-	-
Total	3645000	4087313	12	4115908	1

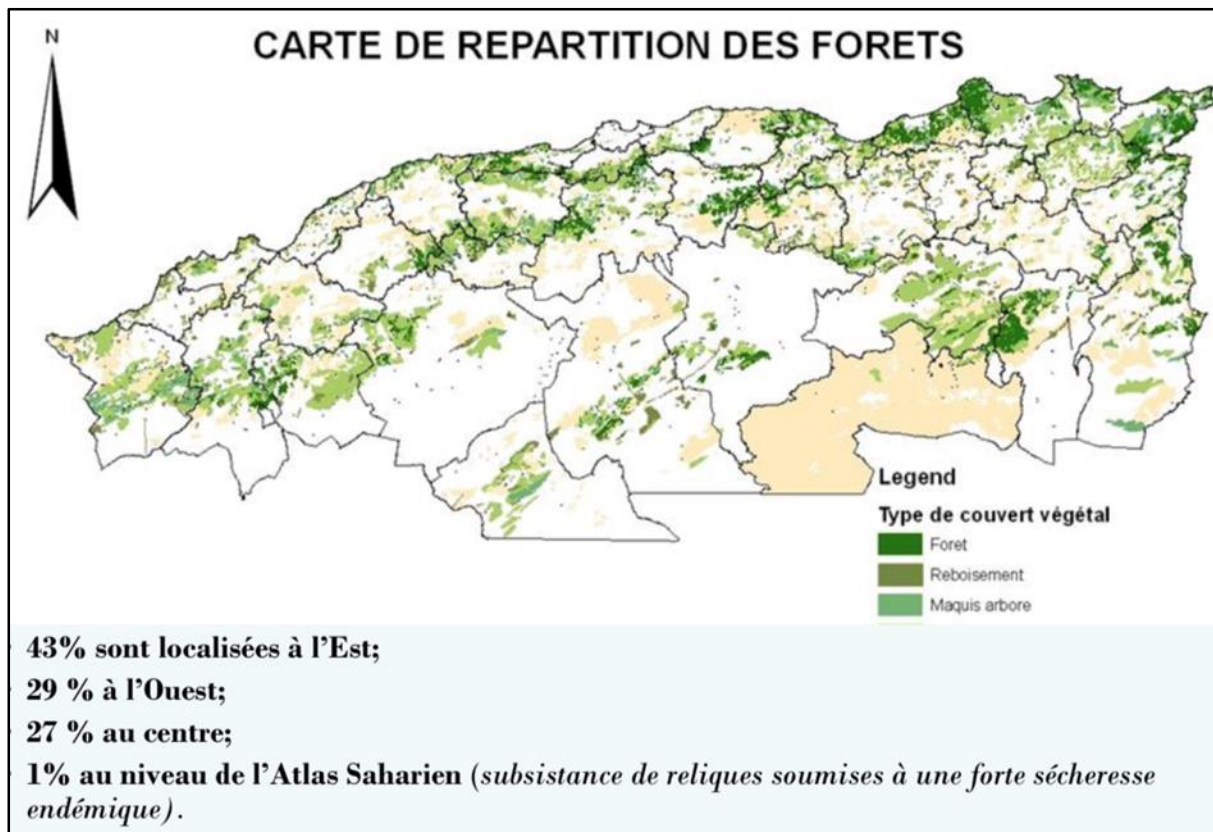


Figure 1. Carte de répartition des forêts en Algérie du Nord.

Chapitre 2. Le genre *Trichoderma*

2.1. Introduction

Trichoderma est un genre cosmopolite de champignons ascomycètes filamenteux couramment retrouvés dans les sols, sur les matières végétales en décomposition et sur le bois. Les espèces de *Trichoderma* sont souvent des composants dominants de la microflore du sol dans des habitats très variés. Cela s'explique par leur capacité métabolique diversifiée et leur compétitivité agressive (Atanasova, 2014 ; Klein et Everleigh, 1998 ; Migheli *et al.*, 2009).

Le genre compte actuellement plus de 260 espèces (Bissett *et al.*, 2015). La majorité de ces espèces est décrite en se basant principalement sur des analyses phylogénétiques des données de séquences d'ADN (Chaverri et Samuels, 2004 ; Samuels *et al.*, 2006, 2012 ; Jaklitsch, 2009, 2011 ; Jaklitsch *et al.*, 2013 ; Chaverri *et al.*, 2015).

2.2. Taxonomie

Dans l'histoire de la classification taxonomique des champignons, l'abbé Antonio Micheli joue un rôle essentiel en 1729, il réalise la première description d'un champignon qu'il nomme *Sphaeria nivea*. Cette observation attire l'attention de nombreux scientifiques, dont Persoon en 1794. Persoon s'appuie sur la description de Micheli pour décrire une nouvelle espèce de champignon, qu'il nomme *Trichoderma*. Il décrit *Trichoderma* comme étant une "poudre farineuse enfermée dans une couverture".

Au fil du temps, de nombreuses espèces sont décrites et regroupées en différents genres par plusieurs chercheurs. Des études sur la variabilité du genre démontrent que *Trichoderma* est un genre monotypique et que la variation morphologique existe (Bisby, 1939 ; Rifai et Webster, 1966 ; Webster et Rifai, 1968).

En 1969, Rifai introduit le concept d'espèces agrégées pour classer les espèces de *Trichoderma*. Selon ce concept, les espèces de *Trichoderma* sont regroupées en neuf "agrégats d'espèces" distincts. Ces agrégats comprennent les espèces suivantes : *Trichoderma aureoviride*, *Trichoderma hamatum*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma piluliferum*, *Trichoderma polysporum*, *Trichoderma pseudokoningii* et *Trichoderma viride* (Rifai, 1969). Rifai est conscient que ces neuf taxons ne correspondent pas à des entités biologiques liées à des espèces téléomorphes uniques. Ces espèces, ainsi que d'autres décrites ultérieurement, sont répertoriées par d'autres chercheurs (Rifai, 1969 ; Domsch *et al.*, 1980 ; Harman et Kubicek, 1998).

Des réarrangements taxonomiques sont effectués ultérieurement par Bisset (**Fig.2**), basés sur des analyses moléculaires et la morphologie des conidiophores et des phialides. Ces réarrangements conduisent au regroupement des espèces de *Trichoderma* en cinq sections distinctes : *Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum* (Bissett, 1991 ; Samuels *et al.*, 2006).

Selon la classification présente dans de nombreuses publications, les champignons du genre *Trichoderma* sont classés dans la classe des Hyphomycètes et sont souvent considérés comme des anamorphes de la famille des Hypocreaceae (**Tab. 2**), appartenant à la division des Ascomycètes (Esposito *et al.*, 1998). La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* Se présente selon Bissett (2004) sur la figure 2.

Les scientifiques actuels continuent de faire de nouvelles découvertes concernant les espèces de *Trichoderma* grâce à l'utilisation de techniques modernes telles que le séquençage de l'ADN et la phylogénie moléculaire. Ces approches permettent d'identifier des variations subtiles dans les séquences d'ADN entre les différentes espèces, même si elles peuvent présenter des similitudes morphologiques. Cette avancée scientifique permet ainsi de mieux comprendre la diversité génétique et la phylogénie des *Trichoderma* (Druzhinina *et al.*, 2005 ; Druzhinina *et al.*, 2006 ; Mule *et al.*, 2005).

Par exemple, en 2020, l'espèce *Trichoderma caatingaense* est décrite à partir d'un échantillon de sol prélevé dans une zone semi-aride du Brésil. De même, *Trichoderma lentiforme* est décrite en 2019 à partir d'un échantillon de sol prélevé dans une forêt tempérée en Chine. En 2018, *Trichoderma haizhengense* est décrite à partir d'un échantillon de sol prélevé dans un verger de pommes en Chine, tandis que *Trichoderma lixii* est décrite en 2016 à partir d'un échantillon de sol prélevé dans une forêt tempérée en Chine.

Tableau 2. Classification des espèces de *Trichoderma* selon Bissett (2004)

Embranchement	<i>Amastigomycota et/ou Eumycètes</i>
Sous embranchement	<i>Ascomycotina</i>
Classe	<i>Sordariomycètes</i>
Ordre	<i>Hypocréales</i>
Famille	<i>Hypocraceae</i>
Genre	<i>Trichoderma</i>
Espèce	<i>Exp. T. Harzianum</i>

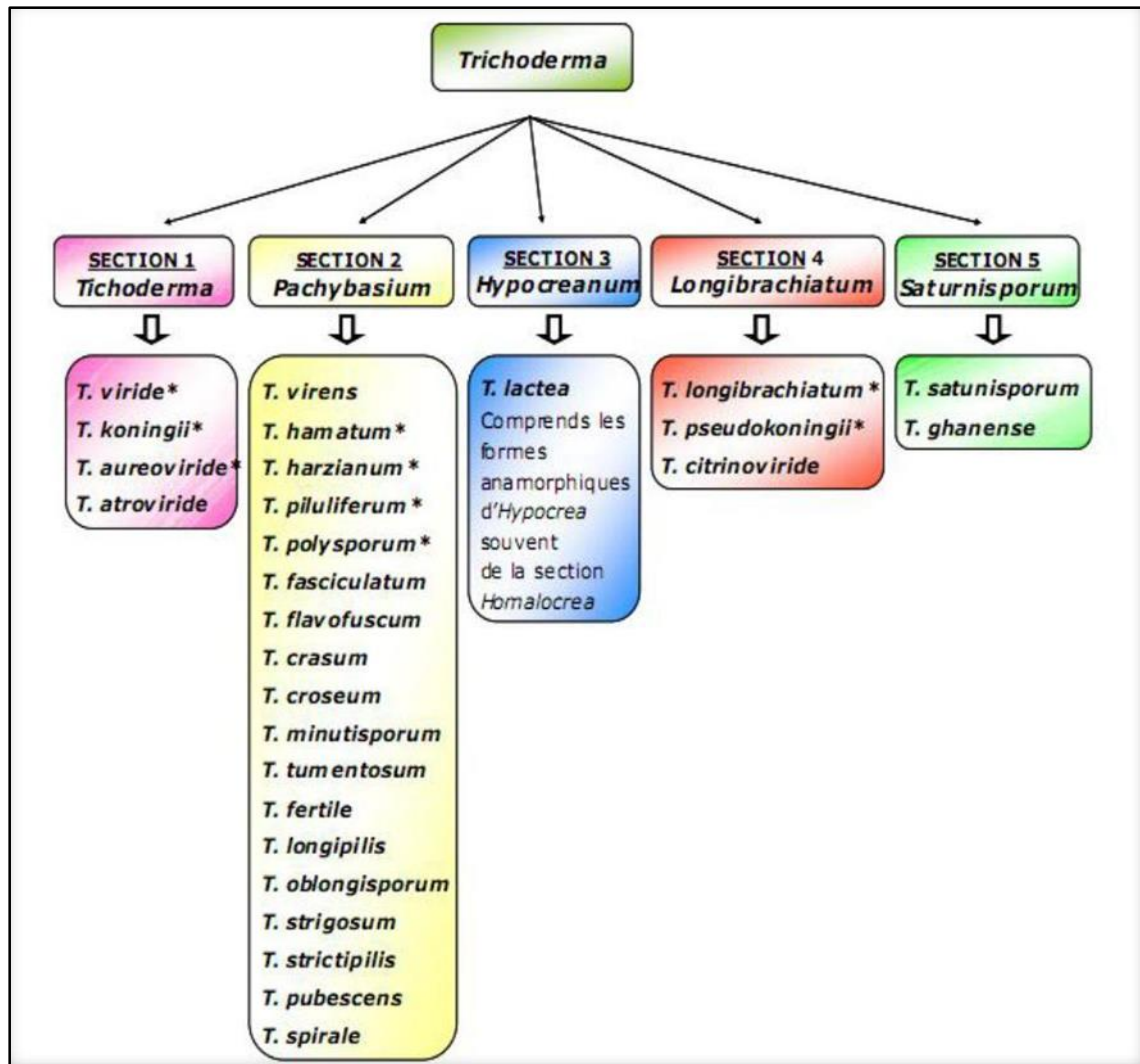


Figure 2. Les cinq sections systématiques du genre *Trichoderma spp.* Selon Bisset (1991).

2.3. Ecologie de *Trichoderma*

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques et à sa sporulation abondante dans le sol, *Trichoderma* est largement recensé dans toutes sortes d'études et considéré comme un champignon ubiquitaire dans l'environnement, très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (Samuels, 1996 ; Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

Les espèces de *Trichoderma* jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique dans le sol, la lutte contre les pathogènes des plantes, la promotion de la croissance

des plantes et la régulation de la composition microbienne dans le sol. Elles peuvent également être utilisées pour la bio-remédiation des sols contaminés.

(Sabry *et al.*, 1997 ; Reinhold-Hurek et Hurek, 1998 ; Harman *et al.*, 2004 ; Yadav *et al.*, 2009 ; Kapri et Tewari, 2010 ; Verma *et al.*, 2010 ; Singh *et al.*, 2011 ; Singh *et al.*, 2016 ; Mahato *et al.*, 2018 ; Kucuk *et al.*, 2019).

Il est vrai que les *Trichoderma* sont caractérisés en général par leur croissance rapide et leur capacité à utiliser divers substrats, ce qui en fait un élément majeur de la microflore terrestre et marine (Widden et Abitrol, 1980 ; Kubicek *et al.*, 2003). La répartition des espèces du genre *Trichoderma* en milieu terrestre représente environ 6% du nombre total des espèces fongiques (De Moura Sarquis et Cunha de Oliveira, 1996), une proportion similaire à celle observée en milieu marin, où elle varie de 6,4% à 10,4% (Landreau, 2001).

En somme, l'écologie des *Trichoderma* est complexe et diversifiée, avec des interactions bénéfiques avec les plantes et une capacité à coloniser différents types d'environnements.

2.4. Survie de *Trichoderma* dans le sol

Les espèces de *Trichoderma* sont des champignons cosmopolites, largement présentes dans tous les types de sol (Samuels, 2006). La survie de ce champignon dans le sol est déterminée par divers facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité, le pH et la présence d'autres microorganismes. Des études montrent que la survie de *Trichoderma* dans le sol est plus élevée à des températures plus basses (Tzean *et al.*, 1997), tandis que le PH du sol a également une influence directe sur sa survie (Wachowska *et al.*, 2016).

Le PH optimal pour la sporulation de *Trichoderma* varie en fonction de l'espèce spécifique et des conditions environnementales. En général, un PH légèrement acide à neutre est considéré comme favorable pour la sporulation de *Trichoderma*.

Par exemple, *Trichoderma atroviride* montre une sporulation optimale dans une plage de PH allant de 5 à 7 (Chaverri *et al.*, 2003), tandis que *Trichoderma harzianum* atteint une sporulation maximale à un PH compris entre 6 et 7 (Mukherjee *et al.*, 2012). Il est important de noter que ces résultats sont spécifiques aux espèces de *Trichoderma* étudiées dans ces recherches particulières et peuvent varier en fonction de l'espèce et des conditions de culture spécifiques.

La présence de compétiteurs tels que les bactéries et les autres champignons, ainsi que la présence d'antagonistes fongiques, peuvent affecter la survie de *Trichoderma* dans le sol. Les études de (Domsch *et al.*, 1980) ont montré que la survie de *Trichoderma* peut être affectée par la compétition avec d'autres microorganismes tels que les bactéries et les autres champignons. De même que les études de Lima *et al.* (2018) ont montré que la survie de *Trichoderma* peut être affectée par la présence de certains antagonistes fongiques dans le sol (Lima *et al.*, 2018).

Ces études soulignent l'importance de considérer les interactions entre les microorganismes du sol pour comprendre la survie de *Trichoderma* dans le sol et sa fonction en tant qu'agent de lutte biologique. La compétition entre *Trichoderma* et d'autres microorganismes du sol peut avoir des implications significatives pour son utilisation dans la production agricole et la gestion des sols (Whipps et Davies, 2000 ; Whipps, 2001 ; Harman *et al.*, 2004 ; Qualhato *et al.*, 2013 ; Latz *et al.*, 2018).

En plus de leur capacité à sporuler, les *Trichoderma* colonisent les racines des plantes, ce qui leur permet de survivre dans le sol pendant une période prolongée. Par exemple, *Trichoderma harzianum* survit dans le sol pendant jusqu'à 14 semaines (Widden et Abitbol, 1980). De même, *Trichoderma asperellum* persiste dans le sol pendant une durée pouvant atteindre 120 jours (Zhu *et al.*, 2015). Il convient de noter que la survie de ces espèces de *Trichoderma* peut varier en fonction du type de sol spécifique dans lequel elles se trouvent.

La survie de *Trichoderma* au sol et son écologie ne font pas qu'un, mais elles sont étroitement liées.

En résumé, la survie des *Trichoderma* au sol dépend de leur écologie, qui à son tour est influencée par de nombreux facteurs environnementaux. La compréhension de l'écologie de *Trichoderma* dans le sol est donc importante pour sa fonction en tant qu'agent de lutte biologique, ainsi que pour son utilisation dans la production agricole et la gestion des sols a également une influence directe sur sa survie (Wachowska *et al.*, 2016).

2.5. Morphologie de *Trichoderma*

2.5.1. Généralité

Rifai (1969) et Bissett (1991) ont discuté des caractères morphologiques qu'ils ont utilisés pour caractériser et différencier les espèces de *Trichoderma*. Les deux auteurs ont souligné les difficultés inhérentes à la définition morphologique des espèces de *Trichoderma*.

Samuels (1996) a également fourni des observations et des commentaires détaillés sur l'utilité des caractères morphologiques pour définir les espèces de *Trichoderma*.

Les caractéristiques morphologiques couramment utilisées pour la caractérisation et l'identification des hyphomycètes ne sont pas toujours utiles pour distinguer les espèces de *Trichoderma* en raison de la faible variation de la morphologie simplifiée chez ce genre ou de la description peu précise des variations de couleur et de motif (Rifai, 1969).

Néanmoins, des observations morphologiques minutieuses suffisent pour identifier les espèces et les souches de *Trichoderma*, à condition que les taxons aient été correctement différenciés et décrits dans la littérature existante. Les identifications basées sur les caractères morphologiques restent la principale méthode d'identification et de vérification des espèces de *Trichoderma* sans séquençage préalable de l'ADN ni données moléculaires de 1999 à 2009 (Hibbett *et al.*, 2011). Les combinaisons de caractéristiques physiologiques et d'observations microscopiques conservent une valeur pratique et scientifique dans l'examen des champignons (Druzhinina *et al.*, 2005 ; Druzhinina *et al.*, 2006).

2.5.2. Sporulation

La sporulation est un processus essentiel dans le cycle de vie de *Trichoderma*, qui permet la production de spores, la principale forme de propagation de l'organisme dans le sol. La sporulation de *Trichoderma* est stimulée par des conditions environnementales spécifiques, notamment une température et une humidité optimales. De plus, la production de spores peut être améliorée par l'utilisation de substrats de culture spécifiques (Harman et Kubicek, 1998). Cependant, un point souvent négligé dans le phénomène de sporulation chez *Trichoderma* est la production de chlamydospores, des spores de résistance durables à paroi épaisse, qui se forment sur différents types de milieux. Les chlamydospores sont souvent terminales ou intercalaires et se différencient par transformation de cellules ou d'articles du mycélium (Lin et Heitman, 2005 ; Samuels *et al.*, 2002 ; Gams et Bisset, 2002). Ces informations sont importantes pour comprendre l'écologie de *Trichoderma* dans le sol et son utilisation en tant qu'agent de lutte biologique (Harman et Kubicek, 1998).

2.5.3. Germination

La germination des spores de *Trichoderma* est un processus crucial pour son établissement dans le sol et sa capacité à coloniser les racines des plantes. Plusieurs facteurs environnementaux influencent la germination des spores de *Trichoderma*, tels que la température, l'humidité et la

présence de nutriments. En effet, de nombreuses recherches montrent que la germination des conidies dépend d'une source externe de nutriments (Jaklitsch, 2009 ; Howell, 2003).

Les conidies répondent également à la concentration en protons, elles germent mieux dans des milieux acides que neutres (Papavizas, 1985). De plus, les extraits de racines de tomate stimulent la germination des spores de *Trichoderma atroviride*, ce qui conduit à une augmentation de la colonisation des racines des plantes par l'organisme (Vinale *et al.*, 2008).

En résumé, la germination des spores de *Trichoderma* est influencée par plusieurs facteurs environnementaux et peut également être stimulée par des composés présents dans les racines des plantes. Ces connaissances sont essentielles pour améliorer la capacité de *Trichoderma* à coloniser les racines des plantes et pour optimiser son utilisation en tant qu'agent de lutte biologique.

2.5.4. Aspects macroscopique et microscopique

Les caractéristiques des colonies sont souvent utilisées pour différencier les espèces de *Trichoderma*. La couleur de la colonie varie en fonction de l'espèce observée, allant du vert-noir au jaune-vert clair, en raison du pigment contenu dans les phialospores (conidies). Cependant, la couleur des colonies dépend de plusieurs facteurs, tels que le nombre de spores, le PH du milieu et la production de cristaux dans le milieu (Atanasova *et al.*, 2013 ; Jaklitsch, 2009 ; Bissett, 1991). Des études récentes examinent ces aspects et contribuent à notre compréhension des variations de couleur des colonies chez *Trichoderma*.

Les thalles des *Trichoderma* poussent rapidement, sont lisses au début puis deviennent plus ou moins floconneux, souvent zonés, et peuvent être de couleur blanche ou verte. Cette couleur verte est due aux spores formées par le champignon (Ragnaud *et al.*, 1984).

La morphologie des conidiophores, en particulier leur mode de production de conidies, est considérée comme une caractéristique distinctive d'une espèce. Par exemple, la production de conidies à partir de conidiophores effusés ou de conidiophores agrégés en fascicules ou en pustules peut être considérée comme un trait caractéristique (Jaklitsch, 2009 ; Gams et Bissett, 2002).

Les *Trichoderma* présentent parfois des pigments diffusibles qui peuvent être considérés comme des caractères distinctifs, bien que leur couleur ne varie pas significativement entre les espèces. De plus, différentes souches de *Trichoderma* produisent généralement des odeurs indistinctes de moisi ou de renfermé (Bissett *et al.*, 2015 ; Jaklitsch, 2009).

En résumé, les souches de *Trichoderma* peuvent souvent être facilement identifiées au genre grâce à une morphologie distinctive qui inclut une croissance rapide, des pigments conidiens verts ou blancs brillants et une structure conidiophore répétitivement ramifiée, mais par ailleurs mal définie.

Au microscope, on observe un mycélium composé d'hyphes septés, ramifiés à parois lisses. La sporulation asexuée se fait par la formation de conidies unicellulaires souvent de couleur verte et libérées en grande quantité. Les conidiophores des *Trichoderma* ont une forme conique ou pyramidale et poussent en touffes plus ou moins compactes et très ramifiées. Les verticilles sont irréguliers et les ramifications s'effectuent à angle droit (Samuels *et al.*, 1999 ; Bissett ,1991).

Les phialides sont ovoïdes à ellipsoïdales, atténuées au sommet, solitaires ou en groupes et généralement perpendiculaires à l'axe. Elles portent les spores (**Fig.3**). Les conidies sont réunies en glomérules au sommet des phialides. Elles sont unicellulaires, parfois hyalines, le plus souvent vertes, lisses ou granuleuses. Les chlamydospores sont très souvent globuleuses et incolores. Elles diffèrent les unes des autres par leur taille et par leur fréquence et lieu d'apparition (Bissett *et al.*, 1991 ; Samuels *et al.*, 2006).

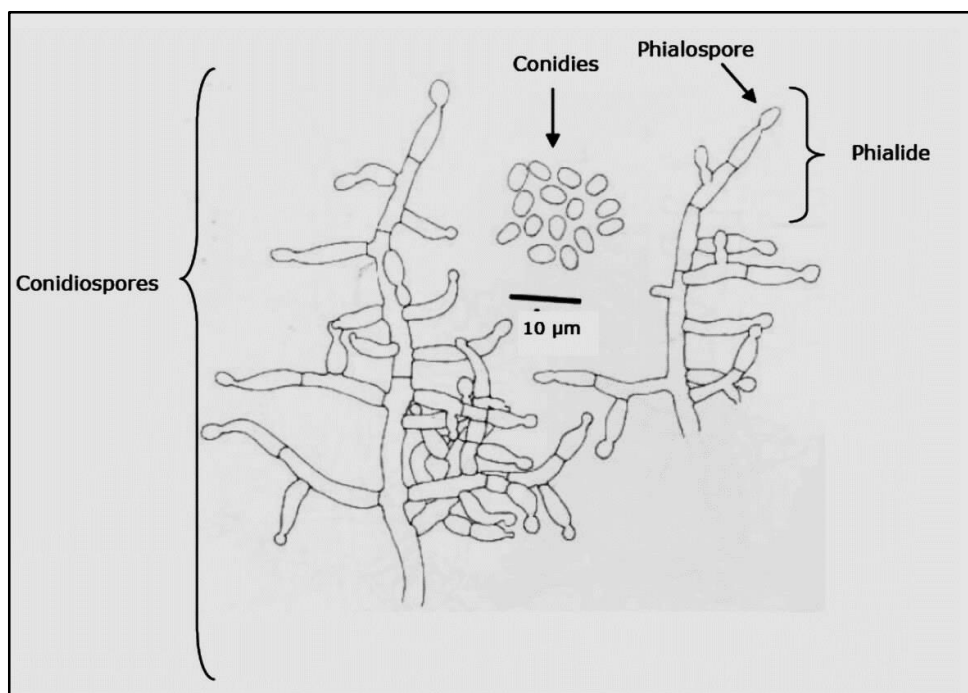


Figure 3. Aspect morphologique d'un conidiophore de *Trichoderma harzianum* (Samuels *et al.*, 1994).

2.6. Etude phylogénétique de *Trichoderma* caractérisées par des données moléculaires

L'identification morphologique des espèces de *Trichoderma* peut être difficile en raison de l'homoplasie observée dans leurs structures conidiennes. Cela signifie que différentes espèces de *Trichoderma* peuvent présenter des caractéristiques conidiennes similaires, rendant l'identification basée uniquement sur l'observation phénotypique morphologique problématique (Samuels *et al.*,2006 ; Kuhls *et al.*,1999), Pour surmonter ces limitations, des analyses moléculaires ont été effectuées sur des souches de *Trichoderma* afin de comprendre leur diversité génétique, leur phylogénie et leurs relations évolutives (Druzhinina *et al.*,2012 ; Samuels *et al.*,2006).

L'analyse approfondie des séquences d'ADN a joué un rôle essentiel pour l'identification de nouvelles espèces et de décrire leurs caractéristiques distinctives (Druzhinina *et al.*,2012 ; Samuels *et al.*,2006 ; Druzhinina *et al.*,2010 ; Samuels *et al.*,2010).

Les séquences génétiques les plus fréquemment utilisées dans l'identification de *Trichoderma* comprennent :

- L'ARN ribosomal (ARNr) 18S et 28S, qui sont des composants essentiels du ribosome (Kuhls *et al.*,1999 ; Kantarcioğlu *et al.*,2009 ; Alanio *et al.*,2008 ; Ranque *et al.*,2008).
- Les gènes codant pour des protéines spécifiques, comme gène *tef1- α* (O'Donnell *et al.*,1998).
- Les séquences ITS région non codante de l'ADN, a été étudié pour son utilité dans la distinction entre les espèces de *Trichoderma* (O'Donnell *et al.*,1998).

Les informations obtenues grâce à ces analyses moléculaires sont essentielles pour l'utilisation et l'étude de *Trichoderma* dans différents domaines, tels que la protection des plantes, la biotechnologie et la recherche en bioremédiation (Chaverri *et al.*,2013).

Chapitre 3. *Trichoderma* comme agent de lutte biologique

3.1. Généralités

Les espèces du genre *Trichoderma* sont connues par leurs pouvoir antagoniste ce qui explique leur grande utilisation comme agent de lutte biologique répandu à travers le monde, offrant un potentiel d'application considérable dans le contrôle des maladies des plantes (Tyśkiewicz *et al.*, 2022). De nombreuses études ont démontré que la plupart des espèces de *Trichoderma* ont la capacité de produire des substances bioactives et d'exercer des effets antagonistes sur les champignons phytopathogènes et les nématodes (Druzhinina *et al.*, 2018). Ces substances bioactives comprennent des métabolites secondaires et des enzymes qui dégradent les parois cellulaires, contribuant ainsi à renforcer la résistance des cultures, à réduire les maladies des plantes et à favoriser leur croissance (Kubicek *et al.*, 2019).

La production de substances bioactives par *Trichoderma* est fortement influencée par les conditions environnementales, notamment la composition du substrat de culture, la température, l'humidité et le pH. Des études ont montré que la production maximale de métabolites bioactifs peut être obtenue en optimisant ces paramètres environnementaux (Kubicek *et al.*, 2019).

De plus, des recherches sont en cours pour améliorer la production et la formulation de ces substances afin d'optimiser leur efficacité en tant qu'agents de lutte biologique. Les propriétés de biocontrôle et de biostimulation de *Trichoderma* ont conduit à une large application de ce champignon en agriculture. En raison de sa capacité à produire de nombreux composés bioactifs antifongiques, *Trichoderma* est considéré comme le genre présentant le plus grand potentiel en tant qu'agent de lutte biologique (Rush *et al.*, 2021 ; Vishwakarma *et al.*, 2020).

Les espèces de *Trichoderma* représentent 50 à 60% des agents de lutte biologique à base de champignons (BCA) (Rush *et al.*, 2021). Actuellement, plus de 77 biofongicides commerciaux à base de *Trichoderma* sont disponibles sur le marché mondial, dont 7 ont été approuvés par la Commission européenne pour une utilisation dans les états membres de l'Union Européenne (Rush *et al.*, 2021 ; Vishwakarma *et al.*, 2020).

3.2. Mode d'action de *Trichoderma*

Les espèces de *Trichoderma* présente des propriétés de biocontrôle qui se manifestent par sa capacité à supprimer activement la croissance des phytopathogènes fongiques, réduisant ainsi l'incidence des maladies dans les cultures et favorisant une production agricole plus saine et durable. Ainsi les champignons du genre *Trichoderma* déploient une variété de mécanismes complexes, directs ou indirects, pour lutter contre les pathogènes fongiques, qui généralement interagissent de manière synergique dans le phénomène de lutte biologique (Ghorbanpour *et al.*, 2018).

L'impact direct sur les agents pathogènes comprend la production d'enzymes dégradant la paroi cellulaire, la synthèse d'antibiotiques, la compétition pour l'espace et les nutriments essentiels tels que le carbone, l'azote et le fer, ainsi que l'établissement d'une relation parasitaire directe avec l'agent pathogène fongique (Jaroszuk-Ścisiel *et al.*, 2019 ; Benítez *et al.*, 2004 ; Rai *et al.*, 2016 ; Druzhinina *et al.*, 2011). Parallèlement, *Trichoderma* induit indirectement une résistance locale ou systémique chez les plantes grâce à des produits « éliciteurs » libérés par les parois cellulaires de la plante hôte « endoéliciteurs » et par le micro-organisme infectieux lui-même « exoéliciteurs » (Saravanakumar *et al.*, 2016).

Le type de mécanismes impliqués varie souvent en fonction de la souche spécifique et dépend de la nature de l'interaction entre le microorganisme antagoniste, le pathogène et la plante hôte (Benítez *et al.*, 2004 ; Ghorbanpour *et al.*, 2018).

3.3. Mycoparasitisme

Le mycoparasitisme est un phénomène dans lequel un champignon antagoniste (mycoparasite) peut parasiter un autre champignon hôte (Ghorbanpour *et al.*, 2018). Les champignons du genre *Trichoderma* sont principalement classés comme des mycoparasites nécrotrophes. L'effet mycoparasitaire des nécrotrophes de *Trichoderma* sur les pathogènes fongiques implique plusieurs étapes (Seidl-Seiboth *et al.*, 2014).

Tout d'abord, ils détectent les proies et se déplacent vers elles par chimiotaxie, en utilisant des signaux chimiques pour localiser les hyphes de l'hôte cible (Seidl-Seiboth *et al.*, 2014). Ensuite, ils s'attachent à l'hôte cible et engagent une attaque physique en se ramifiant et en s'enroulant intensément autour des hyphes de l'hôte (**Fig.4**). Ce processus favorise un contact étroit et une meilleure efficacité de la pénétration (Seidl-Seiboth *et al.*, 2014).

Les hyphes de *Trichoderma* produisent et sécrètent une variété d'enzymes, telles que les cellulases, les chitinases et les protéases, qui sont impliquées dans la dégradation des composants de la paroi cellulaire de l'agent pathogène fongique (Mukherjee *et al.*, 2012). Ces enzymes permettent la lyse du contenu cellulaire de l'agent pathogène, ce qui entraîne finalement sa mort (Mukherjee *et al.*, 2012). Ainsi, l'action mycoparasitaire de *Trichoderma* repose sur une combinaison de reconnaissance de l'hôte, d'adhésion, de ramification et d'enroulement des hyphes, ainsi que de sécrétion d'enzymes de dégradation de la paroi cellulaire (Mukherjee *et al.*, 2012 ; Seidl-Seiboth *et al.*, 2014).

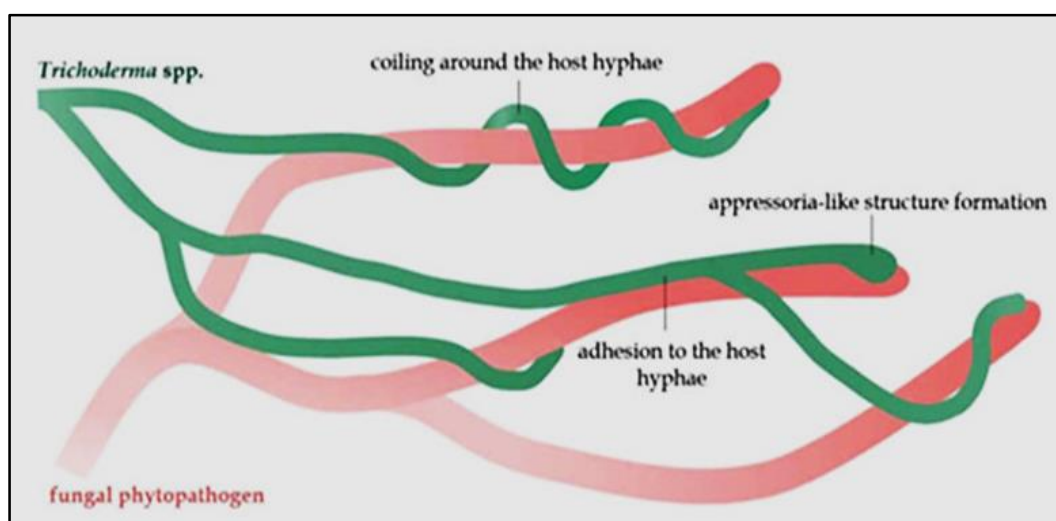


Figure 4. Schéma de l'interaction mycoparasitaire des hyphes de *Trichoderma* avec les hyphes de champignons pathogènes.

3.4. Antibiose de *Trichoderma*

L'antibiose de *Trichoderma*, qui se réfère à la capacité de *Trichoderma* à produire et à libérer des substances antibiotiques inhibant la croissance des pathogènes fongiques, joue un rôle crucial dans sa capacité de lutte biologique contre les maladies des plantes. Les *Trichoderma* produisent divers métabolites secondaires, tels que les peptides antifongiques, les polykétides et les terpénoïdes, qui perturbent la physiologie et la morphologie des agents pathogènes fongiques, entraînant ainsi leur inhibition ou leur élimination (Baker *et al.*, 2012 ; Vinale *et al.*, 2008).

Les métabolites antifongiques de certaines espèces de *Trichoderma* ne se contentent pas d'inhiber directement la croissance des pathogènes, mais ils stimulent également les défenses naturelles des plantes, renforçant ainsi leur résistance aux infections fongiques (Mukherjee *et*

al.,2011) Ces mécanismes de défense sont essentiels dans la lutte biologique contre les maladies des plantes, offrant une alternative écologique aux pesticides chimiques.

3.5. Compétition de *Trichoderma* pour les nutriments et l'espace

La majorité des espèces de *Trichoderma* sont capables de priver les agents pathogènes

D'espace et de nutriments en colonisant des habitats communs tels que les tissus végétaux, les rhizosphères ou les phyllosphères (Ghorbanpour *et al.*,2018).

Cependant, la compétition réussie dépend des propriétés spécifiques de *Trichoderma*, de son degré de colonisation de la plante hôte et de son adaptation aux conditions environnementales (Ghorbanpour *et al.*, 2018 ; Sood *et al.*, 2020). Une stratégie efficace de colonisation des plantes et une abondance dans une niche compétitive avec d'autres champignons sont essentielles pour la compétition réussie de *Trichoderma* (Ghorbanpour *et al.*, 2018 ; Gajera *et al.*,2013).

Dans ce contexte, les sidérophores jouent un rôle crucial, en raison de leur forte affinité pour le fer (Fe) (**Fig.5**), et sont produits par *Trichoderma* en réponse au stress de carence en fer (Khan *et al.*, 2018 ; Zhao *et al.*, 2020). Les sidérophores aident *Trichoderma* à absorber le fer disponible et à inhiber la croissance des phytopathogènes. Par conséquent, *Trichoderma* peut priver les agents pathogènes des sources de fer dans leur niche commune, ce qui limite leur colonisation de la surface racinaire et réduit le risque de maladies (Harman *et al.*, 2004).

Par ailleurs, l'inhibition de la croissance et de l'activité des agents pathogènes cibles du sol par les *Trichoderma* est également attribuée à l'action de ses enzymes compétitives pour les nutriments et l'espace (Saravanakumar *et al.*, 2020). De plus, la compétition pour le fer a été identifiée comme l'un des principaux facteurs de l'antagonisme observé *in vitro* chez certaines espèces de *Trichoderma* (Segarra *et al.*, 2010).

En résumé, lorsque *Trichoderma* colonise le milieu, il établit une zone d'interaction dans la rhizosphère des plantes, sécrète des sidérophores et utilise les mêmes ressources que les agents pathogènes. Cependant, grâce à ses adaptations spécifiques, *Trichoderma* peut être plus performant dans la compétition pour ces ressources, ce qui entraîne des difficultés pour les agents pathogènes à coloniser la surface racinaire et limite ainsi le développement de maladies.

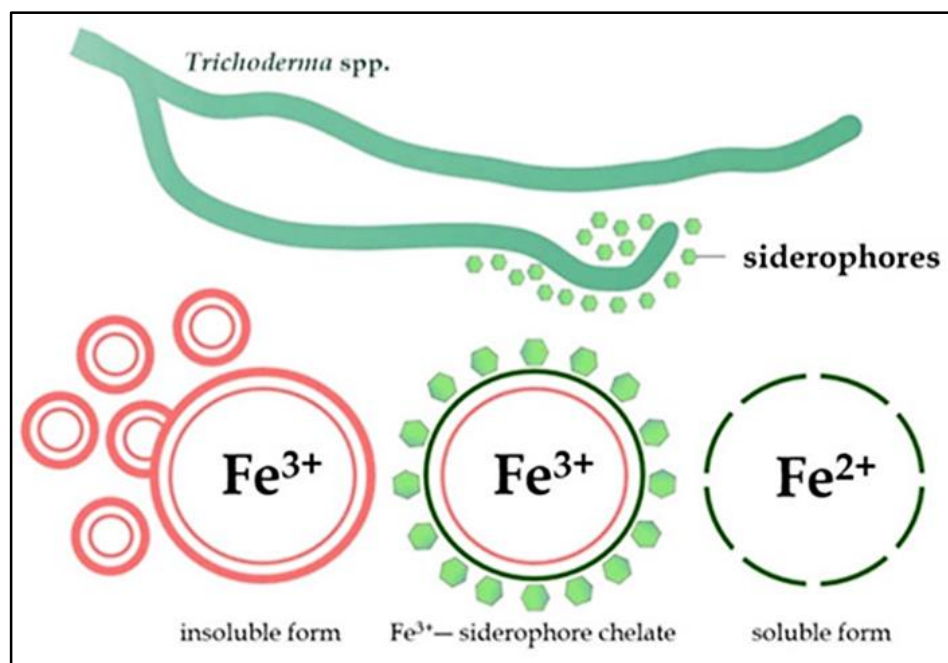


Figure 5. Transformation de la forme insoluble du fer (Fe³⁺) en une forme soluble et facilement assimilable (Fe²⁺) par des sidérophores produits par des champignons *Trichoderma*.

3.6. Croissance des plantes

Trichoderma déploie différents mécanismes qui démontrent leur capacité à améliorer la santé, la croissance et le développement des plantes. Des études révèlent que *Trichoderma* produit des sidérophores, des enzymes solubilisant le phosphate et des phytohormones, ce qui lui confère une polyvalence en termes d'interaction avec les plantes (Doni *et al.*, 2013). Ces mécanismes permettent à *Trichoderma* de stimuler activement les processus physiologiques des plantes, favorisant ainsi leur développement optimal (Lorito *et al.*, 2010 ; Hermosa *et al.*, 2012 ; Lopez-Bucio *et al.*, 2015).

En parallèle, des recherches rapportent les effets positifs de *Trichoderma* sur la croissance des cultures telles que le poivron, le radis, la tomate et le concombre (Chang *et al.*, 1986). Ces études mettent en évidence l'influence bénéfique de *Trichoderma* sur divers aspects de la croissance des plantes, tels que la promotion de la germination, l'amélioration de la croissance des racines et des parties aériennes, et la stimulation du développement global des plantes. En agissant comme un biofertilisant et un biostimulant, *Trichoderma* contribue à l'amélioration du rendement et de la qualité nutritionnelle des cultures, ainsi qu'à l'atténuation des effets néfastes des stress abiotiques (Doni *et al.*, 2013 ; Chang *et al.*, 1986).

3.7. Impacte de *Trichoderma* sur l'agriculture durable

Les espèces de *Trichoderma* établissent des associations mutuelles avec les plantes, agissant en tant que symbiotes opportunistes et non pathogènes (Harman *et al.*, 2004). Elles favorisent la croissance des plantes en stimulant le développement racinaire, en améliorant l'absorption des nutriments et en augmentant l'efficacité de l'utilisation de l'eau (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009). De plus, elles possèdent une activité de lutte biologique contre un large éventail de pathogènes végétaux, offrant une protection contre les maladies des cultures (Vinale *et al.*, 2008). *Trichoderma* renforce la capacité des plantes à se défendre contre les attaques pathogènes en induisant une résistance systémique (Shoresh *et al.*, 2010). En outre, *Trichoderma* améliore la disponibilité des nutriments dans le sol (Yedidia *et al.*, 2001). L'utilisation de *Trichoderma* en tant qu'agent de lutte biologique et promoteur de croissance est en accord avec les principes de l'agriculture durable, qui mettent l'accent sur la réduction des intrants chimiques et l'atténuation de l'impact environnemental. L'intégration de produits à base de *Trichoderma* dans les pratiques agricoles peut contribuer au développement de systèmes de culture respectueux de l'environnement et économiquement viables.

**ETUDE
EXPERIMENTALE**

1. Matériels et méthodes

Notre étude est menée au laboratoire de phytopathologie de l'Institut National de la Recherche Agronomique en Algérie-INRAA – Unité de Recherche Constantine (URC). Une partie de notre travail est également réalisée au Centre de Recherche en Biotechnologie – CRBt.

1.1. Matériel fongique

Les isolats de *Trichoderma* testés dans cette étude appartiennent à la mycothèque de l'URC. Les isolations sont réalisées à partir de rhizosphères d'arbres (entre 30 et 50 cm) prélevées à partir de différents écosystèmes forestiers à travers l'Algérie. L'échantillonnage est réalisé aléatoirement de manière à obtenir une grande diversité (**Tab.3**). Les isolations sont réalisées selon la méthode des dilutions. Le stockage se fait dans un milieu nutritif à -20°C.

Tableau 3. Provenance des 20 isolats de *Trichoderma* étudiés provenant de différentes régions de l'écosystème forestier en Algérie.

Isolat	Région	Rhizosphère
T1	Bourdj Bou-Arreidj- Sidi Embarek	Maquis
T2	Mila-Ouad athmania	Foret
T3	Sétif	Roseaux
T4	Bejaia	Maquis
T5	Bourdj Bou-Arreidj-Ain zada	Maquis
T6	Biskra	Oasis
T7	Constantine- El meridj	Maquis
T8	Adrar	Oasis
T9	Skikda-Beni bachir	Maquis
T10	Khenchla	Maquis
T11	Ilizi- Omr idris	Oasis
T12	Bejaia	Maquis
T13	Mila-El ouldja	Maquis
T14	Souk ahras-sedrata	Maquis
T15	Mostghanem	Maraichage
T16	Constantine- Didouche mourad	Maquis
T17	Mila-Ouled arama	Maquis
T18	Skikda-Kolo	Montagne
T19	Guelma-Nechmaia	Maquis
T20	Souk ahras-sedrata	Maquis

1.2. Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture utilisé dans cette étude est le PDA (Agar Pomme de Terre-Dextrose), qui contient 200 g de pomme de terre, 20 g de dextrose, 20 g d'agar-agar et est complété à 1 litre d'eau distillée (Mouria *et al.*, 2013). Ce milieu est distribué dans des flacons autoclavables de 500 ml. La stérilisation est effectuée dans un autoclave pendant 20 minutes à 120°C. Ensuite, une manipulation en conditions aseptiques est réalisée pour transférer le contenu dans des boîtes de Pétri (**Fig.6**). Le choix du milieu de culture PDA s'explique par sa composition nutritionnelle favorable à la croissance optimale des champignons filamenteux (Domsch *et al.*, 2007).

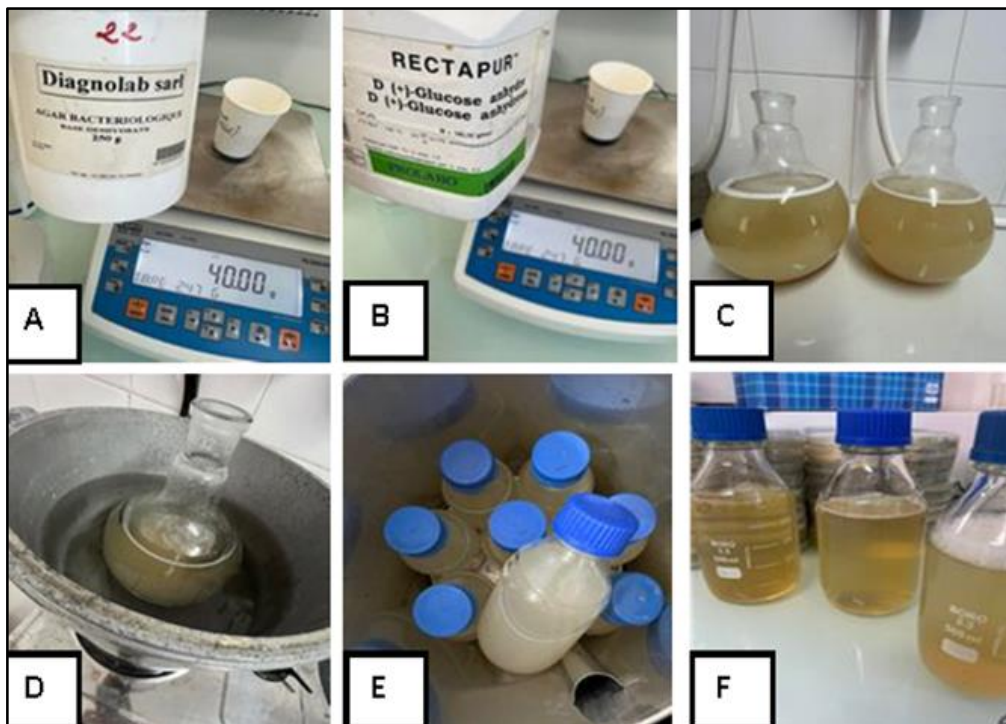


Figure 6. Préparation du milieu de culture Agar Pomme de Terre Dextrose (PDA)

(A) Mesure précise de la quantité de glucose. (B) Mesure précise de la quantité d'agar ; (C) Préparation du mélange d'agar, de pomme de terre et de dextrose ; (D) Chauffage contrôlé du mélange (C) en utilisant un bain-Marie ; (E) Transfert du mélange dans des flacons stériles, (E) suivi de la stérilisation par autoclavage ; (F) Obtention du milieu de culture PDA, prêt à être utilisé pour la culture de *Trichoderma*.

1.3. Ravivement de la gamme *Trichoderma*

Pour raviver les isolats de *Trichoderma* précédemment conservés à -20°C dans des tubes Eppendorf contenant un milieu nutritif, nous suivons les étapes suivantes : Les isolats sont décongelés en les laissant à température ambiante pendant 2 heures. Après cette période et dans des conditions d'asepsie complètes, le contenu des tubes est transféré dans des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture solide PDA. Les boîtes sont ensuite incubées à une température appropriée.

Pour la croissance de *Trichoderma*, généralement autour de 25°C , pendant une période de 7 jours (Samuels *et al.*, 2012) (**Fig.7**).

Après 7 jours d'incubation, nous examinons les colonies obtenues sur les boîtes de Pétri de PDA (**Fig. 8**) pour déterminer la pureté des isolats (pures ou contaminées par d'autres micro-organismes). Les colonies qui présentent une apparence pure, c'est-à-dire sans présence évidente de contaminations, sont sélectionnées pour la caractérisation ultérieure. En revanche, les colonies qui présentent des signes de contamination sont purifiées. Nous réalisons cela en transférant une seule colonie sur une nouvelle boîte contenant du PDA, et nous répétons ce processus jusqu'à obtenir une colonie pure (Samuels *et al.*, 2012 ; Harman *et al.*, 2004).

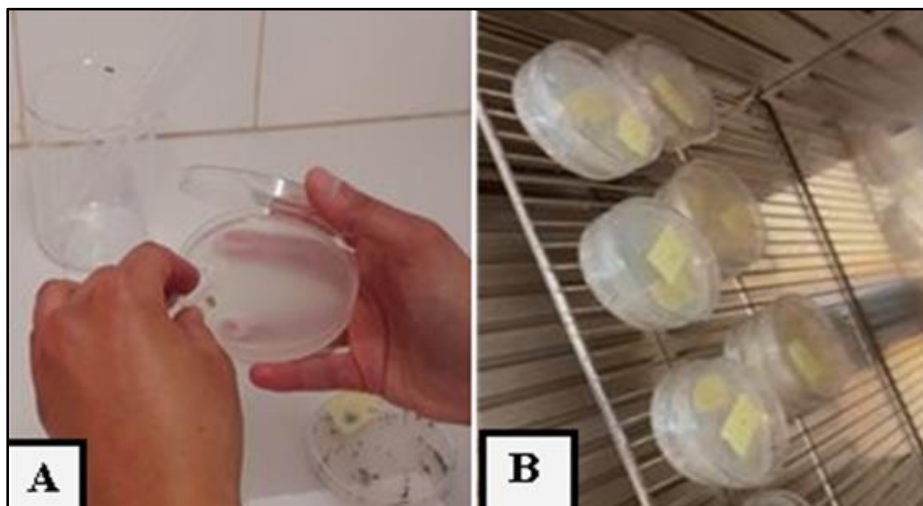


Figure 7. Protocole de ravivement des isolats de *Trichoderma* et culture sur milieu PDA.
(A) Transfert d'isolats de *Trichoderma* dans des boîtes de Pétri avec milieu PDA ; (B)
Incubation des boîtes des souches.

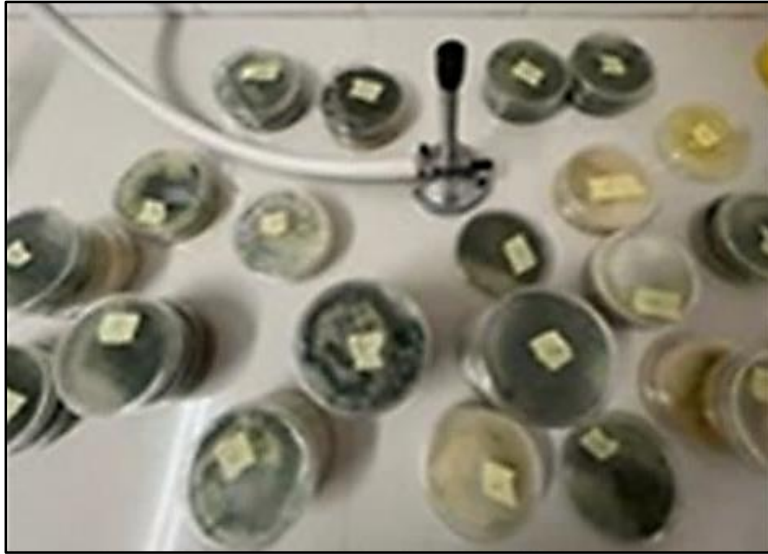


Figure 8. Colonies de *Trichoderma* sur milieu de culture PDA après 7 jours d'incubation en boîte de Pétri.

1.4. Etapes de caractérisation morphologiques des *Trichoderma*

Cette caractérisation morphologique est réalisée dans le but de diviser les isolats étudiés en groupes phénotypiques.

1.4.1. Repiquage des souches *Trichoderma*

Les isolats sont repiqués avec deux répétitions par isolat. Nous avons mis en place des mesures de biosécurité préalables pour assurer un environnement de travail stérile. L'espace de travail ainsi que les instruments utilisés pour le repiquage sont désinfectés à l'aide d'alcool.

En utilisant une pipette Pasteur, nous prélevons un explant de 6 mm de diamètre à partir d'une culture pure âgée de 7 jours, obtenue sur une boîte de Pétri contenant du milieu de culture PDA. Cet explant est déposé de manière aseptique dans une zone spécifique de la boîte de Pétri, à une distance de 1,5 cm du bord de la boîte de culture (**Fig.9**). Les boîtes de Pétri sont ensuite soigneusement fermées pour prévenir toute contamination externe (Harman *et al.*, 2004).

Nous plaçons les boîtes de Pétri dans une étuve d'incubation maintenue à une température de 25°C (Botton *et al.*, 1990). Ces cultures sont ensuite utilisées pour évaluer plusieurs paramètres de caractérisation morphologique, microscopique et de vitesse de croissance.

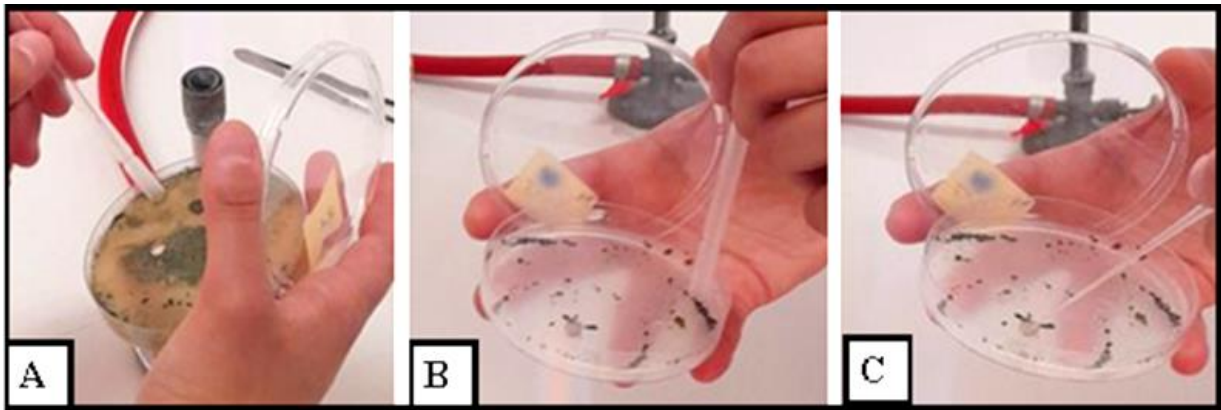


Figure 9. Techniques de repiquage des souches de *Trichoderma* dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA.

1.4.2. Mesure de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne de *Trichoderma* est évaluée en mesurant quotidiennement la distance parcourue par le mycélium à l'aide d'une règle graduée. Nous effectuons une mesure linéaire en partant de l'explant jusqu'à la limite externe du mycélium. Il convient de noter que la taille maximale de la boîte de Pétri définit la limite physique de la croissance du *Trichoderma* dans cet espace restreint.

La méthode de mesure linéaire fournit des données quantitatives sur la croissance du *Trichoderma*, nous permettant d'analyser la vitesse et l'étendue de la colonisation mycélienne. Nous effectuons des mesures répétées sur une période de 7 jours pour obtenir une vision globale de la croissance du *Trichoderma* dans les conditions spécifiques de notre expérience (Harman, 2011).

La vitesse de croissance est calculée de la manière suivante selon (Mondo *et al.*, 2016) :

-Calcul de $V_n - V_{n-1}$.

-Ensuite la moyenne de variation fut calculée, $V_1 + V_2 + V_n \dots /$ Nombre des jours d'observation.

1.4.3. Observation Macroscopique

Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés sont étudiés sur le milieu PDA avec une culture âgée de 7 jours, en observant des caractéristiques phénotypiques visibles à l'œil nu.

L'identification macroscopique se base généralement sur les critères suivants : la couleur du recto (selon le code universel de la couleur verte) (**Fig.10**) et du revers de la boîte, ainsi que la présence de pigments diffusibles ; la texture de la colonie qui peut être laineuse, duveteuse, poudreuse ou glabre ; et la topographie qui peut être plate, surélevée ou cérébriforme avec des stries radiales (Dufresne,2014) (**Fig.11**).



Figure 10. Code universel de la couleur verte pour l'identification et la pigmentation de *Trichoderma*.

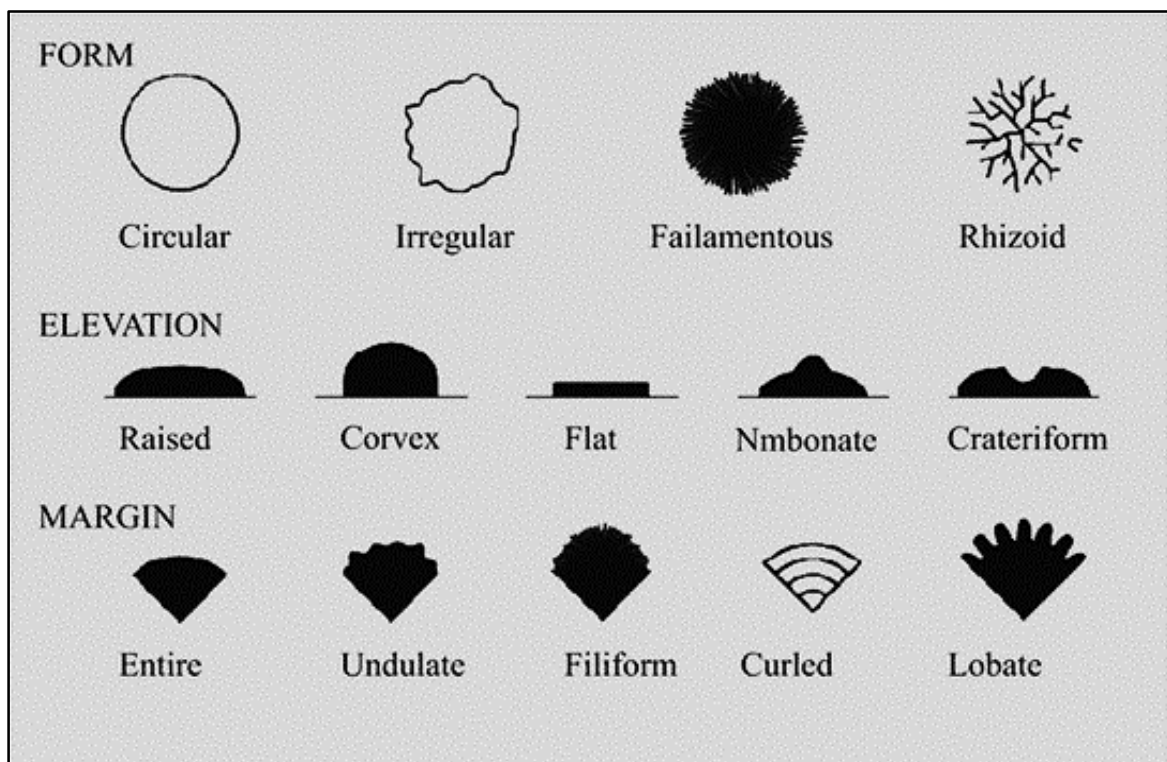


Figure 11. Terminologie spécifique pour la description des types de colonies courants dans nos souches étudiées de *Trichoderma*.

1.4.4. Observation Microscopique

L'identification microscopique des organismes végétaux repose principalement sur l'observation attentive des caractéristiques morphologiques des structures végétatives. Cette approche implique l'examen minutieux des hyphes afin de déterminer leur présence ou absence de cloisons transversales, ainsi que l'observation détaillée des structures de reproduction, telles que les conidiophores, les cellules conidiogènes et les conidies (Dufresne, 2014).

L'étude microscopique est réalisée afin d'observer les structures micromorphologiques caractéristiques de *Trichoderma*, notamment les conidies, les conidiophores, les philiades, la pigmentation et la structure des spores, à l'aide d'un microscope optique.

Cette approche d'identification repose principalement sur l'étude morphologique du mycélium, en prenant en compte des caractéristiques telles que la présence ou l'absence de cloisons, la couleur et la taille. De plus, l'étude des spores est également essentielle, en portant une attention particulière à leur forme, leur origine et leur mode de groupement.

La préparation des échantillons pour l'examen microscopique de *Trichoderma* implique l'utilisation de la technique du ruban adhésif. Cette méthode consiste à appliquer délicatement un morceau de ruban adhésif sur la surface de l'échantillon, puis à le retirer rapidement pour collecter les colonies de *Trichoderma* qui y sont attachées. Le ruban adhésif contenant les colonies est ensuite déposé sur une lame de microscope propre contenant une goutte de bleu de méthylène. L'observation microscopique est ensuite effectuée en utilisant un microscope optique (Fig.12) avec différents objectifs de grossissement, en commençant par l'objectif le moins puissant (G×10) jusqu'au plus puissant (G×100) pour examiner en détail les conidies, les conidiophores et d'autres structures de *Trichoderma* (Domsch *et al.*, 2007).

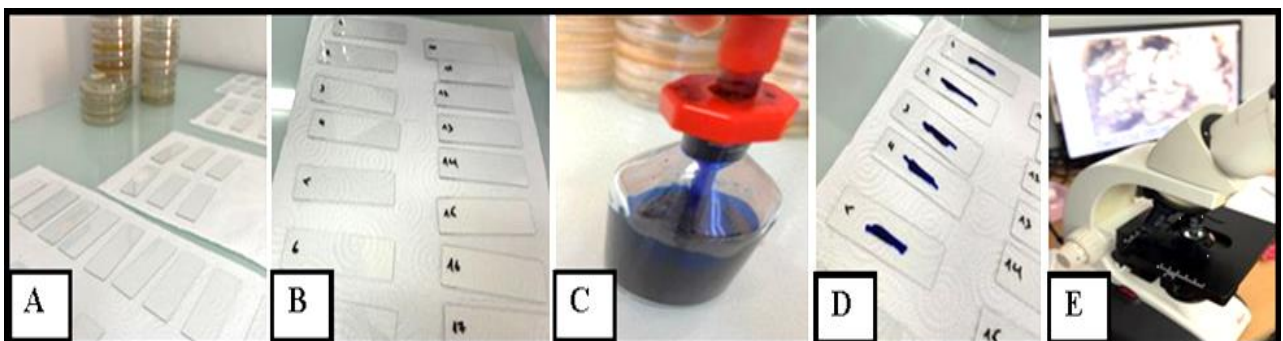


Figure 12. Méthode réalisée pour l'observation microscopique et l'identification des structures caractéristiques de *Trichoderma*

(A.B.C.D) Préparation des lames pour l'observation microscopique : fixation, montage, marquage et coloration spécifique des échantillons avec le bleu de méthylène (E) Utilisation d'un microscope pour observer et analyser les échantillons préparés, en utilisant différents. Objectifs et ajustements.

1.5. Evaluation de l'activité antagoniste *in vitro*

1.5.1. Méthode confrontation directe

Afin d'évaluer le potentiel antagoniste de trois isolats de *Trichoderma*, représentatif de chaque groupe phénotypique, la technique de confrontation directe en double culture, également connue sous le nom de technique de cultures opposées, est utilisée (**Fig.13**).

Dans cette méthode, un explant (6 mm) de *Trichoderma* est aseptiquement inoculé sur un côté de la surface de la boîte de Pétri de 90 mm, tandis que l'agent pathogène ciblé est inoculé sur le côté opposé de la surface de la même boîte de Pétri déposés sur un même axe (**Fig.14**), utilisant un milieu de culture PDA (Benhamou *et al.*, 1996).

Les boîtes de Pétri sont ensuite soigneusement refermées et incubées à une température de 25°C et dans des conditions optimales de croissance pendant 7 jours (Meraj *et al.*, 2012).

Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène placé au centre de la boîte de Pétri. Chaque couple pathogène-antagoniste sont répété deux fois.

Dans cette étude, deux agents pathogènes, à savoir *Alternaria sp.* et *Verticillium sp.*, sont sélectionnés pour l'évaluation de leur confrontation directe *in vitro* avec *Trichoderma*.

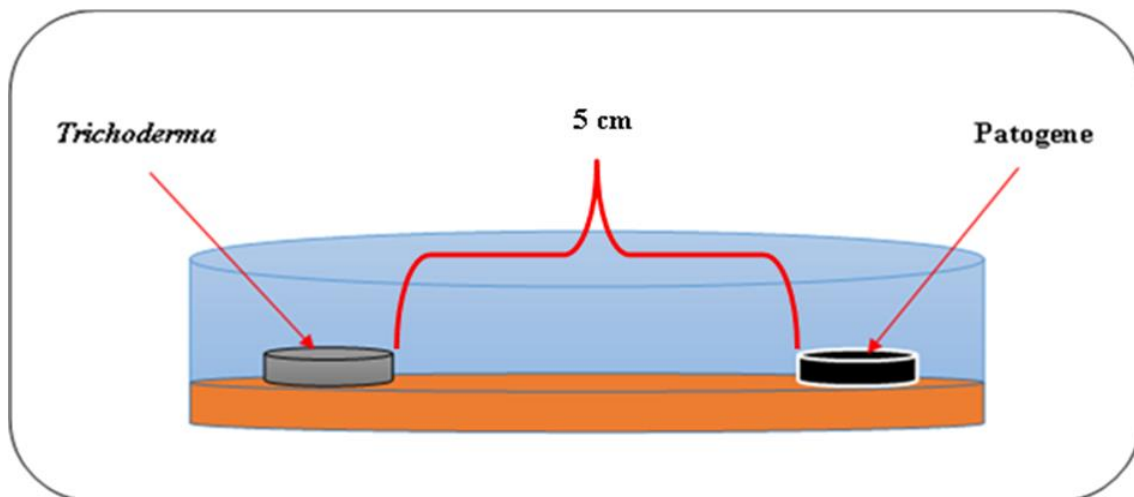


Figure 13. Confrontation directe de *Trichoderma* avec un pathogène *in vitro* sur un milieu solide.

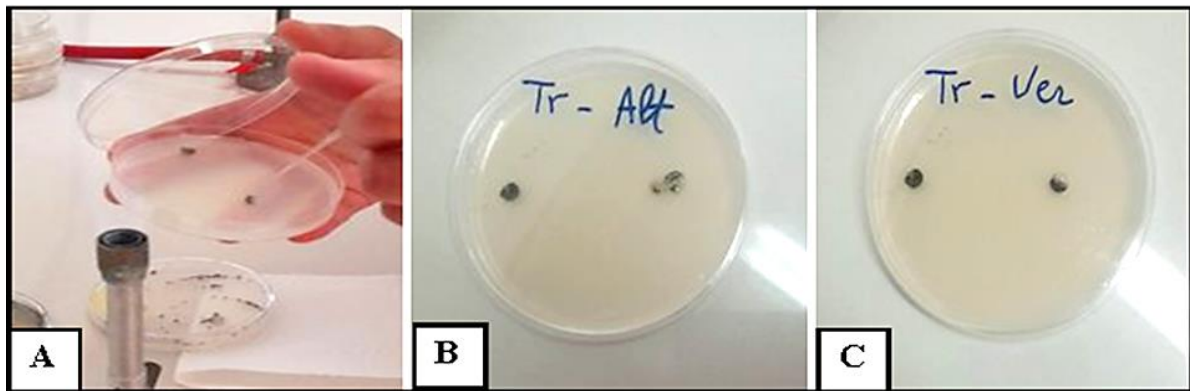


Figure 14. Réalisation des confrontations directes au laboratoire.

(A) Confrontation de *Trichoderma* avec un agent pathogène ciblé sur milieu PDA ; (B.C) Mise en confrontation des deux champignons en boîte de Pétri sur milieux PDA.

1.5.2. Mesures du taux d'inhibition

Après une incubation de 7 jours, les boîtes de Pétri, contenant la confrontation entre *Trichoderma* et le pathogène, sont prêtes à être évaluées.

Une règle graduée est utilisée pour mesurer la croissance mycélienne du pathogène. Ces mesures permettaient d'estimer l'effet inhibiteur de *Trichoderma* sur le développement du pathogène en le comparant avec le témoin. Le taux d'inhibition est calculé selon la formule de Hmouni *et al.* (1996).

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

- I% est le Taux d'inhibition de la croissance.
- CN est le diamètre moyen des colonies du pathogène en présence de l'antagoniste.
- Co est le diamètre moyen des colonies du témoin du pathogène.

1.6. Caractérisation moléculaire de quelques isolats de *Trichoderma*

1.6.1. Extractions de l'ADN génomique

Les échantillons d'ADN sont obtenus en suivant la méthode d'extraction développée par Doyle et Doyle (1987), avec des modifications apportées par Benbouza *et al.* (2006). Pour cela, nous

broyons 0,1 g de mycélium frais à l'aide d'azote liquide pour assurer une fragmentation efficace. Le protocole d'extraction de l'ADN se décompose en trois étapes principales :

Nous isolons l'ADN en utilisant une solution de CTAB (chlorure de cétyltriméthylammonium) à une concentration de 2%. Le CTAB permet de dissoudre les membranes cellulaires et de libérer l'ADN.

Les protéines sont éliminées en utilisant du chloroforme-isoamyle alcool (CIA) dans un rapport de (24 :1) Cette étape permet de séparer les protéines de l'ADN et de les éliminer.

Nous précipitons l'ADN en utilisant de l'isopropanol, ce qui permet de concentrer l'ADN dans la solution. L'ADN précipité est ensuite récupéré par centrifugation.

Une fois l'ADN obtenu, nous le diluons dans 200 µl de tampon TE (Tris-EDTA) pour le stabiliser et le protéger de la dégradation. De plus, nous traitons l'ADN avec de la RNase, une enzyme qui dégrade les acides ribonucléiques (ARN) présents dans l'échantillon, afin de purifier davantage l'ADN.

Enfin, nous évaluons la concentration et la pureté de l'ADN extrait à l'aide d'un spectrophotomètre Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, Waltham, MA-USA). Cette analyse nous permet de déterminer la quantité d'ADN présente dans l'échantillon ainsi que son degré de pureté en évaluant les ratios absorbance/longueur d'onde caractéristiques de l'ADN.

1.6.2. Amplification des amorces universelles

Nous avons amplifié les régions ITS (Internal Transcribed Spacer) et un fragment du gène *tefl α* (translation elongation factor 1-alpha) en suivant le protocole décrit précédemment par Hermosa *et al.* (2004). Les réactions de PCR ont été réalisées dans un volume total de 20 µl, contenant un tampon à pH 8,8, une concentration de 2 à 4 mM de MgCl₂, une concentration de 0,2 mM pour chaque dNTP, une concentration de 0,4 µM pour chaque amorce, 50 ng d'ADN génomique et 1 unité de Taq DNA polymérase.

L'amplification est réalisée dans un thermocycleur 1000C (BioRad Laboratories, CA-USA) en suivant le profil thermique suivant : une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 minutes, suivi de 35 cycles comprenant une étape de dénaturation de 30 secondes à une température d'hybridation comprise entre 55°C et 60°C (selon l'amorce utilisée), une étape d'élongation de 1 minute à 72°C, et enfin une étape d'élongation finale à 72°C pendant 5 minutes (**Fig.15**).

Les produits de PCR ont ensuite été séparés sur un gel d'agarose à 2% en utilisant une électrophorèse pendant 20 heures à 100 volts. Un marqueur de taille d'ADN, le DNA Ladder 100 pb (Invitrogen, CA, USA), a été utilisé pour déterminer les tailles des fragments séparés. L'identification des tailles des fragments a été réalisée à l'aide du logiciel ImageLab (BioRad Laboratories, CA-USA) en utilisant le système de documentation GelDoc™ XR (BioRad Laboratories, CA-USA).

1.6.3. Séquençage sanger et alignement des séquences par l'outil BLAST

Les produits amplifiés sont actuellement purifiés des résidus de la PCR à l'aide du kit enzymatique ExoSap (ThermoFisher) dans le but d'éliminer les amorces et les nucléotides non incorporés. Ensuite, ces produits sont soumis à une réaction de séquençage pour déterminer leur séquence nucléotidique.

Les séquences générées sont ensuite analysées à l'aide du logiciel BioEdit, qui permet de visualiser et d'éditer les séquences. Pour effectuer une identification précise, les séquences obtenues sont comparées aux séquences de référence présentes dans la base de données NCBI (National Center for Biotechnology Information).

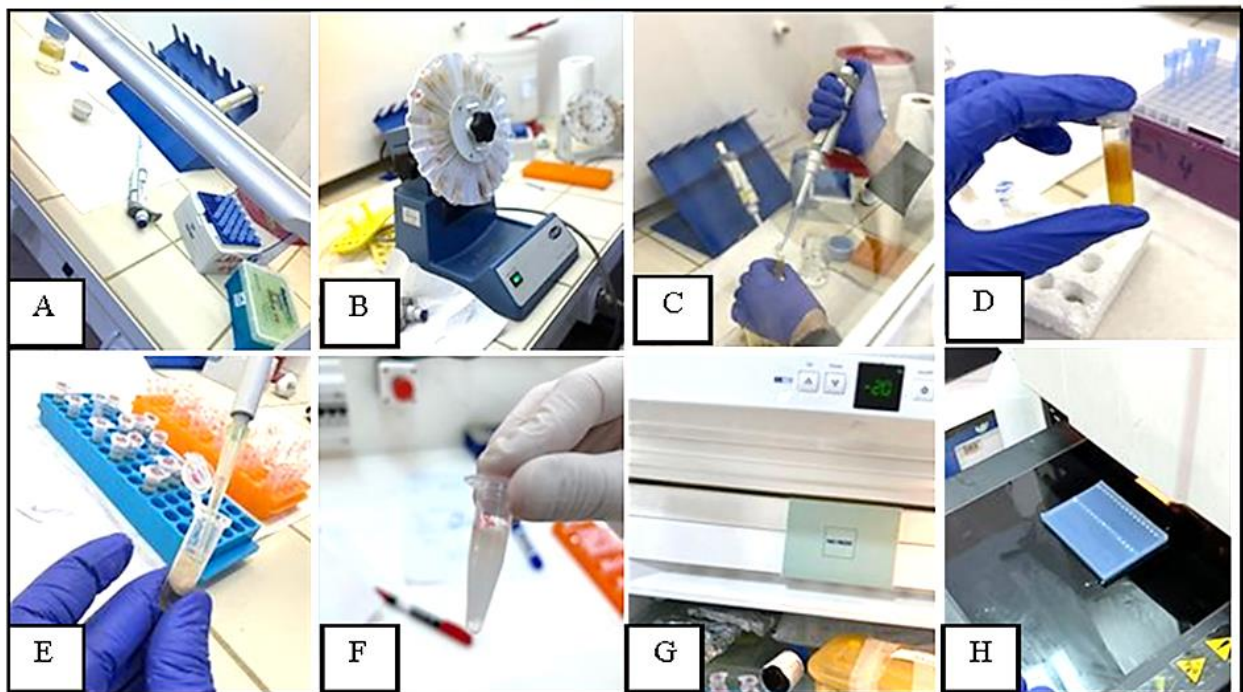


Figure 15. Méthodologie pour l'identification des espèces de *Trichoderma* dans nos souches étudiées, utilisant des analyses moléculaires au CRBT.

1.7. Traitement et analyse des données

Nous avons utilisé l'analyse de variance (ANOVA) ainsi que le logiciel IBM SPSS Statistics 24 (Statistical Package for the Social Sciences) pour évaluer les variations significatives entre les différentes souches de *Trichoderma*. Ces analyses nous ont permis d'approfondir notre compréhension de la diversité et de la performance de ces souches en termes de développement du mycélium et de production de spores.

L'ANOVA et le test de Tukey sont employés pour comparer les moyennes de croissance des 20 isolats de *Trichoderma* étudiés, et pour déterminer l'existence de différences significatives entre elles. L'utilisation du logiciel SPSS a facilité cette analyse en automatisant les calculs statistiques et en fournissant des résultats détaillés.

2. Résultats et discussions

Les *Trichoderma* collectés à partir de divers échantillons de sol et de différentes zones de l'écosystème forestier en Algérie ont démontré des variations au niveau de leur morphologie, de leur cinétique de croissance et de leur activité antagoniste. Ces caractéristiques ont été minutieusement observées et analysées au laboratoire de phytopathologie de l'Institut National de la Recherche Agronomique en Algérie (INRAA) - Unité de Recherche Constantine (URC).

2.1. Vitesse de croissance mycelienne

La croissance mycélienne est estimée avec l'aide d'une règle graduée en mesurant la croissance linéaire journalière du mycélium sur le milieu de culture PDA pendant une durée de 7 jours pour comparer le développement et le comportement entre les différents isolats il est important de contrôler les conditions de culture, telles que la température, l'humidité et la luminosité, car elles peuvent influencer la croissance mycélienne de *Trichoderma* (Domsch *et al.*, 2007 ; Samuels *et al.*, 2010).

Les vitesses de croissance mycélienne calculées pour chaque isolat sont rapportées dans le graphe (**Fig.16**).

L'analyse statistique ANOVA par l'utilisation du logiciel IBM SPSS Statistics 24 (Statistical Package for the Social Sciences) a révélé une différence très hautement significative pour la croissance mycélienne des 20 isolats des *Trichoderma* étudiées (**Tab.4**).

Cette observation met en évidence des variations significatives dans le développement mycélien des souches étudiées. Les données recueillies dans nos recherches confirment les résultats obtenus à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA) et du logiciel IBM SPSS Statistics 24 (Statistical Package for the Social Sciences) qui sont en concordance avec ceux rapportés de Smith *et al.* (2018).

L'application du test de Tukey dans notre étude a permis de regrouper les 20 isolats de la collection étudiée en deux groupes homogènes, mettant en évidence une variation significative entre ces isolats (**Tab.5**).

- Le premier groupe, groupe A comprend les isolats T13, T20, T5, T9, T10, T17, T3, T11, T4, T14, T18, T19, T15, T16, T1, T7, T3, T6, T8.
- Le deuxième groupe, groupe B est composé de l'isolat T2.

Le groupe B, caractérisé par une moyenne de croissance de 7 mm/jour, présente une performance élevée et une croissance vigoureuse.

En revanche, le groupe A, avec une moyenne de croissance de 8 mm/jour, représente les souches T7, T14, T3 qui ont manifesté une croissance encore plus soutenue et plus importante. Ces résultats suggèrent que les souches T7, T14, T3 du groupe B peuvent être considérées comme les meilleures souches en termes de potentiel de croissance mycélienne (Smith *et al.*, 2018).

La formation de ces groupes homogènes peut être le résultat de variations génétiques, de différences dans les capacités métaboliques ou d'interactions spécifiques avec l'environnement (Garcia *et al.*, 2019).

Il convient de souligner l'importance du milieu de culture PDA dans le développement mycélien des souches des *Trichoderma* étudiées. En tant que milieu adéquat, le PDA favorise une croissance vigoureuse et aérobie, ce qui conduit à une sporulation plus importante (Verma, 2007 ; Moussaoui, 2010).

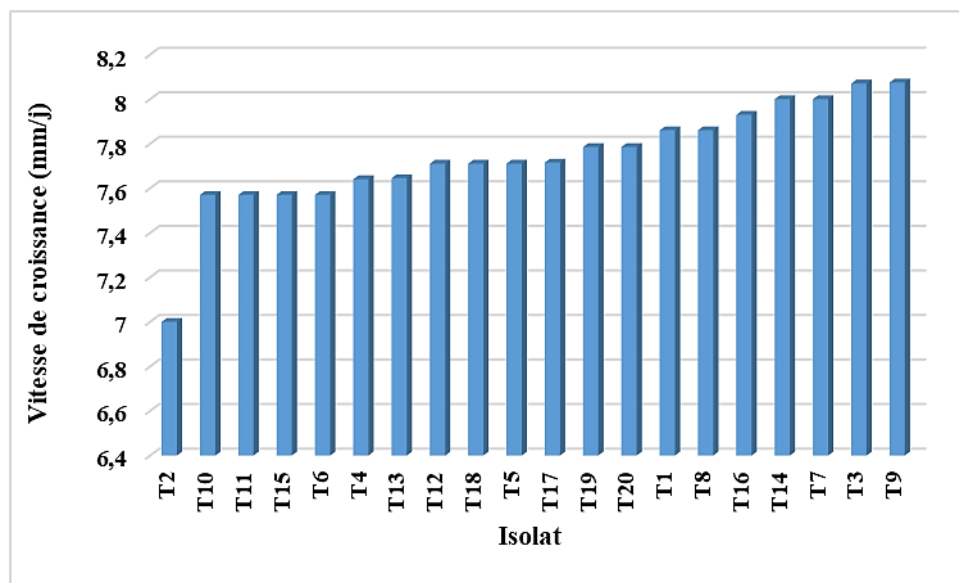


Figure 16. Les vitesses de croissance (mm/ jour) mycélienne calculées pour chaque isolat *Trichoderma* étudiés.

Tableau 4. Analyse statistique des moyennes de vitesse de croissance des 20 isolats de *Trichoderma* étudiés.

	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Inter-groupes	2,222	19	0,117	6,546	0,000***
Intragroupes	0,357	20	0,018		
Total	2,579	39			

Tableau 5. Groupes homogènes et moyennes de vitesse de croissance (mm/j), selon le test de tukey pour alpha = 0,05

Isolat	T2	T6	T10	T11	T15	T4	T13	T5	T12	T18	T17	T19	T20	T1	T8	T16	T7	T14	T3	T9
Groupe B	7																			
Groupe A		7,5	7,5	7,5	7,5	7,6	7,6	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,8	7,8	7,9	8	8	8	8

2.2. Observation et caractérisation morphologiques

Après une période d'incubation de 7 jours à une température de 25°C dans des conditions de croissance optimales, les colonies se développent sur les boîtes de Pétri contenant du PDA et sont soumises à une évaluation morphologique et caractérisées. Cette étape permet d'examiner les caractéristiques macroscopiques des 20 isolats de *Trichoderma* étudiés.

Les observations relatives au comportement culturel des 20 souches de *Trichoderma* étudiées reposent sur l'utilisation de clés d'identification qui se basent sur des caractéristiques morphologiques. Les colonies de *Trichoderma* présentent une diversité d'aspects, avec des variations de couleur, de forme (circuler ou irrégulière) et de caractéristiques telles que la taille, l'élévation, la bordure, la surface, l'opacité, la couleur et la pigmentation. Ces caractéristiques sont utilisées pour décrire et différencier les colonies de *Trichoderma* dans le cadre de l'identification des espèces (Rifai *et al.*, 1969 ; Bissett *et al.*, 1984).

Ces caractéristiques morphologiques permettent une description détaillée des colonies de *Trichoderma* dans notre étude et contribuent à notre compréhension de la diversité et de la variation entre les isolats.

2.2.1. Répartition en fonction de l'aspect des colonies

L'étude morphologique des colonies est une méthode utilisée pour aider à identifier et à décrire les caractéristiques des 20 isolats de *Trichoderma* étudiés qui poussent sur le milieu de culture PDA dans une boîte de Pétri. Les différences dans la forme des colonies révèlent des variations dans la croissance mycélienne, la sporulation, la production d'enzymes ou d'autres caractéristiques spécifiques à chaque souche (Jaklitsch, 2009 ; Howell, 2003). Les isolats de *Trichoderma* étudiés sont répartis en quatre groupes distincts en fonction de leur aspect morphologique (**Fig.17**), ce qui permet d'identifier des caractéristiques communes au sein de chaque groupe. Les groupes sont comme suit :

- Le groupe A comprend les souches T2, T20, T18, T19 présente une absence de cercles.
- Le groupe B comprend les souches T7, T9 présentant un cercle.
- Le groupe C comprend les souche T1, T3, T5, T8, T11, T17, T6 présentent deux cercles.
- Le groupe D comprend les souches T13, T4, T12, T10, T14, T15, T16 présentent trois cercles.

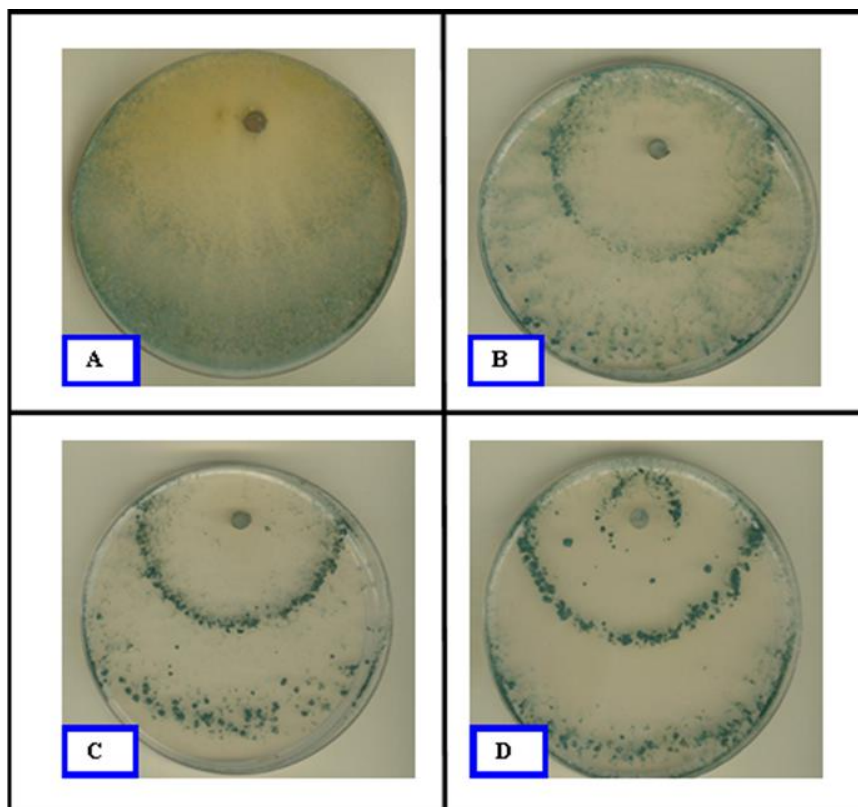


Figure 17. Illustration macroscopique des différentes colonies de *Trichoderma*.

- (A) Absence de cercle de croissance T19 ; (B) Présence d'un seul cercle de croissance T9 ; (C) Présence de deux cercles de croissance T11 ; (D) Présence de trois cercles de croissance T1

Les isolats de *Trichoderma* qui présentent un cercle de croissance sur le milieu PDA se caractérisent par une croissance radiale régulière. Cela est dû à la capacité de *Trichoderma* à former un réseau dense de filaments (hyphes) qui se propage de manière radiale autour du point d'inoculation. Cette croissance régulière indique que la souche produit des spores de manière équilibrée dans toute la colonie. Nos résultats d'observations et d'études sont en concordance avec ceux rapportés par les chercheurs et les scientifiques Harman *et al.* (2004), Mukherjee *et al.* (2013), Chaverri *et al.* (2013), Rifai *et al.* (1969) et Bissett *et al.* (1984).

Les isolats de *Trichoderma* qui présentent deux cercles de croissance sur le milieu PDA exhibent une croissance concentrique, caractérisée par la formation de cercles concentriques de croissance mycélienne distincts autour du point d'inoculation. Ces cercles peuvent varier en taille et en densité de croissance, indiquant des zones de croissance différente au sein de la colonie. Les caractéristiques intrinsèques qui influencent la croissance concentrique sont des différences génétiques ou des régulations spécifiques des voies de signalisation. De plus, la présence de deux cercles de croissance peut également être associée à une sporulation différenciée dans différentes zones de la colonie, résultant en une production abondante de spores. Nos résultats d'observations et d'études sont en concordance avec ceux rapportés par les chercheurs et les scientifiques Harman *et al.* (2004), Mukherjee *et al.* (2013), Chaverri *et al.* (2013), Rifai *et al.* (1969) et Bissett *et al.* (1984).

Les *Trichoderma* qui présentent trois cercles de croissance sur le milieu PDA témoignent d'une complexité accrue dans le développement de leurs colonies. Cette complexité peut être attribuée à des facteurs génétiques spécifiques propres à ces souches. Les variations génétiques entre les souches de *Trichoderma* peuvent influencer les mécanismes de régulation impliqués dans la croissance et la sporulation. Certaines études ont montré que certains gènes jouent un rôle clé dans ces processus et peuvent présenter des variations entre les souches, ce qui entraîne des différences dans le développement et la morphologie des colonies. Nos résultats d'observations et d'études sont en concordance avec ceux rapportés par les chercheurs et les scientifiques Kubicek *et al.* (2012) ; Zeilinger *et al.* (2016) ; Druzhinina *et al.* (2011). Il est important de souligner que les souches de *Trichoderma* qui présentent trois cercles de croissance démontrent une sporulation plus rapide par rapport aux autres souches, ce qui les positionne comme des souches de qualité supérieure (Jaklitsch, 2009 ; Bissett *et al.*, 1984).

L'absence de cercle de croissance dans les souches *Trichoderma* peut être le résultat d'une faible croissance mycélienne ou d'une faible sporulation de la souche spécifique. Nos résultats

d'observations et d'études sont en concordance avec ceux rapportés par les chercheurs et les scientifiques Harman *et al.* (2004) ; Mukherjee *et al.* (2013) ; Chaverri *et al.* (2013).

Une faible croissance mycélienne peut être causée par des déficiences nutritionnelles, des facteurs de stress, des interactions compétitives avec d'autres microorganismes ou des inhibiteurs présents dans le milieu de culture (Reino *et al.*, 2008 ; Zeilinger *et al.*, 2016).

Une faible sporulation peut résulter de la régulation génétique spécifique de la souche ou de conditions environnementales inappropriées. Des études montrent que des gènes impliqués dans la sporulation, tels que ceux codant pour des enzymes de la voie de biosynthèse des spores, présentent des variations entre les souches de *Trichoderma* (Mukherjee *et al.*, 2013 ; Zeilinger *et al.*, 2016).

2.2.2. Caractérisation à partir de la structure morphologique et du mode de croissance

L'observation de nos 20 isolats étudiés révèle que *Trichoderma* présente une structure filiforme et filamenteuse.

Les souches de *Trichoderma* sont généralement considérées comme étant filiformes et filamenteuses. Les constatations et les recherches que nous avons menées sont en accord avec les découvertes et les études effectuées par d'autres chercheurs et scientifiques.

Cela fait référence à la structure caractéristique de leur mycélium, qui est composé de filaments appelés hyphes. Les hyphes des *Trichoderma* sont cylindriques, longs et minces, avec une croissance apicale. Ils se ramifient et forment un réseau complexe de filaments qui s'étendent dans le substrat. Cette structure filamenteuse permet aux *Trichoderma* d'explorer efficacement le milieu de culture à la recherche de nutriments et d'espace pour se développer. Il convient de noter qu'il peut y avoir une certaine variabilité entre les souches en termes de densité de mycélium, de vitesse de croissance et de ramification (Harman *et al.*, 2006 ; Kubicek *et al.*, 1998 ; Jaklitsch, 2009 ; Bisset *et al.*, 1991).

2.2.3. Répartition en fonction de l'aspect morphologique du mycélium

Les 20 isolats de *Trichoderma* étudiées sont répartis en deux groupes distincts en fonction de la présence ou de l'absence de mycélium aérien.

Le premier groupe, comprend les souches T3, T4, T5, T6, T9, T10, T11, T14, T17, T18, T19, T20 présente un mycélium aérien qui se développe principalement à la surface du milieu de culture, formant un réseau visible de structures fines et ramifiées.

En revanche, le groupe 2, comprend les souches T1, T2, T7, T8, T12, T13, T15, T16, présente un mycélium non aérien qui se développe en majorité en immersion ou dans les couches internes du milieu.

Le mycélium aérien de *Trichoderma* est dû à la nature des hyphes et à leur capacité à former des structures aériennes. La formation de structures aériennes est souvent associée à la production de spores et de métabolites par *Trichoderma*. Ces structures aériennes permettent aux spores d'être dispersées dans l'environnement, favorisant ainsi la dissémination et la colonisation de nouvelles zones. De plus, la formation du mycélium aérien peut être influencée par des signaux génétiques et des interactions avec d'autres microorganismes présents dans le milieu de culture. Les interactions entre *Trichoderma* et d'autres microorganismes peuvent jouer un rôle dans la régulation de la croissance et du développement du mycélium (Kubicek *et al.*, 2011 ; Vinale *et al.*, 2008, Mukherjee *et al.*, 2012).

Le mycélium non aérien de *Trichoderma* se développe principalement en immersion ou à l'intérieur du milieu de culture, sans former une couche visible à la surface. Les hyphes restent confinés dans le substrat et se propagent horizontalement, explorant le milieu de culture en quête de nutriments et d'espace pour leur croissance. La croissance des hyphes non aériens se fait principalement de manière apicale, où de nouvelles cellules sont générées à l'extrémité de l'hyphes et s'étendent horizontalement dans le substrat. Les hyphes peuvent également se ramifier et former un réseau complexe de filaments, favorisant ainsi une exploration efficace du milieu de culture (Shoresh *et al.*, 2010 ; Kubicek *et al.*, 2011).

À la lumière de nos recherches, de nos études et de nos observations documentées, nous parvenons à la conclusion que les informations fournies par la communauté scientifique sont en parfait accord avec les résultats de nos propres recherches respectives.

2.2.4. Répartition en fonction de la pigmentation et coloration


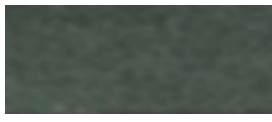

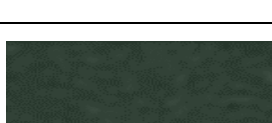


L'étude et l'observation des 20 isolats de *Trichoderma* ont révélé une variabilité dans la couleur observée à la surface et à l'envers des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. La couleur du verso de la boîte présentait une teinte différente de celle observée à la surface (Jaklitsch, 2009 ; Howell, 2003). La Couleur du revers de la colonie est déterminée sur fond blanc.

Une observation méticuleuse des cultures de *Trichoderma* étudiées permet de les classer en six catégories distinctes en fonction de la coloration et de la pigmentation observées sur le recto des boîtes de Pétri (**Tab.6**).

Les souches étudiées sont classées en six groupes distincts en fonction de leur couleur selon le code universel de la couleur verte :

- Le groupe 1 est composé des souches T7, T8, T9, T11 et T15, qui présentent une couleur beige.
- Le groupe 2 comprend les souches T1, T3, T4, T5, T6, T10 et T12, qui ont une couleur blanche.
- Le groupe 3 est constitué de la souche T19, qui a une couleur beige orangé.
- Le groupe 4 est formé des souches T2, T18 et T20, qui ont une couleur jaune.
- Le groupe 5 est représenté par la souche T14, qui ne présente aucune coloration.
- Le groupe 6 comprend les souches T16 et T17, qui ont une couleur orange.

Tableau 6. Classification des 20 isolats étudiés en fonction des groupes de couleurs selon le code universel de la couleur verte.

Groupe	Isolats	Couleur	Code universel de couleur
1	T1, T4, T6	Bouteille	
2	T12	Epinard	
3	T2, T3, T5, T7, T8, T10, T11, T13, T14, T15, T16,17	Imperial	
4	T9 et T18	Malachite	
5	T20	Sapin	
6	T19	Sauge	

Les pigments se forment plus fréquemment sur le milieu de culture PDA, qui fournit les nutriments nécessaires à la production de pigments par les espèces de *Trichoderma*. Ces pigments présentent une variété de couleurs, y compris le jaune, le brun et les teintes rougeâtres.

Cependant, il convient de noter que la formation de pigments peut varier d'une souche à l'autre, et certains isolats de *Trichoderma* ne produisent pas de pigments du tout (Jaklitsch, 2009 ; Du Plessis *et al.*, 2018).

Lors de leur développement, les conidiophores et les phialides produisent une variété de couleurs, allant du blanc au jaune, au brun et aux teintes rougeâtres, en raison de la présence de pigments spécifiques synthétisés par les souches de *Trichoderma*. Ces pigments se trouvent principalement dans les conidiophores et les phialides, ce qui contribue à la coloration caractéristique des colonies de *Trichoderma*. Différents pigments sont identifiés chez les souches de *Trichoderma*, ce qui explique la diversité des couleurs observées. On observe notamment la présence de la xanthomégline, de la Trichodémine et de la *Trichodermine*. Ces pigments sont synthétisés et stockés dans les conidiophores et les phialides, contribuant ainsi à la variation des couleurs des colonies de *Trichoderma* (Atanasova *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2016 ; Jaklitsch, 2009 ; Bissett *et al.*, 2015).

Le phénomène de différence de couleur entre le recto et le verso de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA peut être attribué à plusieurs facteurs nous citons la différence de luminosité, interaction avec l'oxygène et la Diffusion de substances chimiques (Jaklitsch, 2009).

Nos résultats sur la pigmentation et la coloration sont en accord avec les résultats des sources fournies (**Fig.18**), ce qui confirme la cohérence et la fiabilité des informations rapportées par la communauté scientifique notamment Jaklitsch (2009), Du Plessis *et al.* (2018), Zhang *et al.* (2016), Atanasova *et al.* (2012) et Bissett *et al.* (2015). Cette concordance renforce la confiance dans l'exactitude des informations disponibles et permet de mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à la pigmentation et à la coloration de nos 20 isolats étudiées.

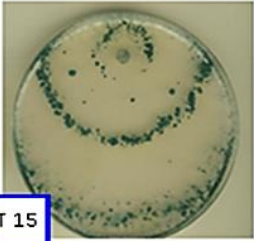
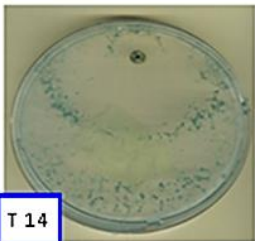
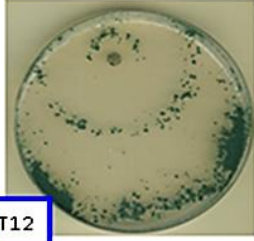
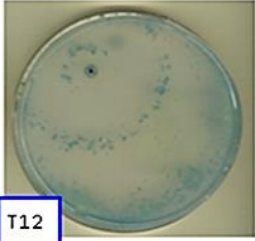
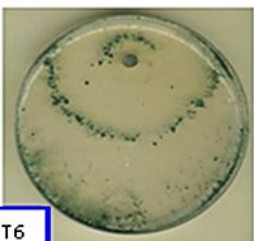
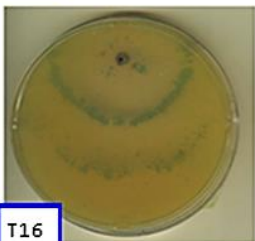
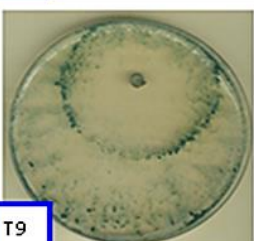
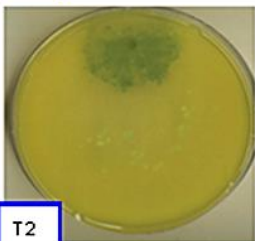
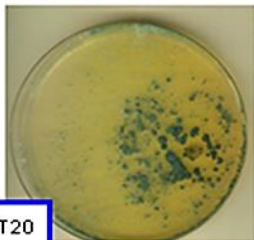
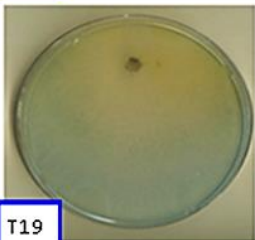
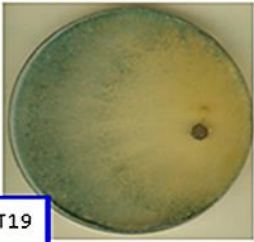
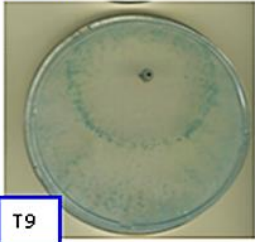
Caractérisation des isolats selon la couleur			
Recto		Verso	
Isolat	couleur	Isolat	Couleur
 T 15	Impèrial	 T 14	Non coloré
 T12	Épinard	 T12	Blanc
 T6	Bouteille	 T16	Orange
 T9	Malachite	 T2	Jaune
 T20	Sapin	 T19	BO
 T19	Sauge	 T9	Beige

Figure 18. Caractérisation des isolats de *Trichoderma* en fonction de la couleur de leur face recto et verso.



BO = Beige-orangé

2.2.5. Répartition à partir de l'élévation du mycélium

L'observation relative à l'élévation mycélienne est réalisée en évaluant les colonies de *Trichoderma* après une période d'incubation sur le milieu de culture PDA dans des conditions optimales

L'étude des 20 souches de *Trichoderma* a permis de les classer en deux groupes distincts en se basant sur leur élévation mycélienne (**Tab.7**).

Tableau 7. Classification des 20 isolats étudiés en différents groupes selon leur élévation mycélienne.

Group e	Elevation	Form e	souches
1	Flate		T1, T3, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T20 T14, T15, T16, T17, T18, T19
2	Raised		T4, T2

L'élévation plate du mycélium de *Trichoderma* se réfère à son développement horizontal sans formation de structures élevées telles que les conidiophores responsables de l'élévation du mycélium au-dessus de la surface du milieu de culture. Certains isolats de *Trichoderma* peuvent ne pas produire de conidiophores ou en produire en quantités limitées, entraînant ainsi un développement mycélien plat. Par ailleurs, divers facteurs environnementaux tels que l'humidité, la disponibilité des nutriments et la présence d'autres microorganismes concurrents peuvent également influencer le développement plat du mycélium. Nos résultats d'observations et d'études correspondent de manière cohérente et satisfaisante aux informations rapportées par la communauté scientifique (Kubicek *et al.*,1998 ; Rifai *et al.*,1969 ; Bissett *et al.*, 1984).

Le développement surélevé du mycélium de *Trichoderma* se caractérise par la formation de structures en relief au-dessus de la surface du milieu de culture. Cette élévation est généralement due à la présence de structures aériennes, telles que les conidiophores, qui émergent et s'élèvent du mycélium, ils jouent un rôle clé dans la formation et la dispersion des spores de *Trichoderma*, contribuant ainsi à l'élévation du mycélium. Plusieurs facteurs peuvent

influencer le développement surélevé du mycélium de *Trichoderma*. Parmi ces facteurs, on retrouve la génétique spécifique de la souche étudiée, les conditions environnementales et les interactions avec d'autres microorganismes présents dans le milieu de culture. Les données obtenues dans nos recherches appuient les connaissances des travaux précédents menés par Kubicek *et al.* (1998), Rifai *et al.* (1969) et Bissett *et al.* (1984).

2.2.6. Identification microscopique

Nous avons entrepris une caractérisation microscopique détaillée des 20 isolats de *Trichoderma* étudiés afin d'explorer leur morphologie et leurs structures caractéristiques. Les paramètres examinés comprenaient les conidies, les conidiophores, les phialides et la structure des spores (Jaklitsch, 2009 ; Anees *et al.*, 2010). L'observation a été réalisée à l'aide d'un microscope optique, en utilisant des niveaux de grossissement variés pour une analyse approfondie. Parallèlement, des analyses moléculaires ont été effectuées pour confirmer et compléter nos observations microscopiques. Les résultats de l'observation microscopique révèlent une variabilité intéressante entre les isolats. Ce qui est confirmé par les analyses moléculaires.

2.3. Identification moléculaire

Les 20 isolats étudiés présentent une variabilité dans les caractéristiques macroscopiques, telles que la morphologie de la colonie, du mycélium et la vitesse de croissance, ainsi que dans leurs caractéristiques microscopiques, notamment les conidies et les phialides. Toutefois, la morphologie des colonies seule est insuffisante pour distinguer les espèces, ce qui justifie la nécessité de confirmer leur identification par des méthodes moléculaires (Druzhinina *et al.*, 2005 ; Druzhinina *et al.*, 2006). Les méthodes moléculaires sont parmi les outils les plus précis utilisés pour différencier les espèces et identifier de nouvelles souches, la comparaison des séquences d'ADN permet une classification précise des espèces fongiques et apporte des éclaircissements sur les relations évolutives et écologiques entre les différentes espèces (Mule *et al.*, 2005).

Plusieurs bases de données sont couramment utilisées pour l'identification taxonomique précise des *Trichoderma*. Parmi elles, la base de données du National Center for Biotechnology Information (NCBI) est utilisée pour effectuer des comparaisons de séquences à l'aide de la recherche blastn. Cependant, d'autres bases de données telles que l'International Commission on *Trichoderma* Taxonomy (ICTT), le Multilocus Identification System for *Trichoderma* (MIST) et Trichokey sont recommandées pour obtenir des résultats plus spécifiques (Duo *et al.*, 2020 ; Cai et Druzhinina, 2021).

Selon les résultats du séquençage, les séquences obtenues ont permis l'identification des espèces présentes parmi les 20 souches étudiées. En se référant à la base de données NCBI, trois espèces distinctes ont été identifiées *Trichoderma afroharzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma harzianu* (Tab.8).

Tableau 8. Résultats des analyses moléculaires d'identification des différentes espèces de *Trichoderma* étudiées.

Isolat	Espèce
T16	<i>Trichoderma afroharzianum</i>
T2	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
T15	<i>Trichoderma harzianum</i>

L'observation microscopique des *Trichoderma* étudiées, complétée par des analyses moléculaires précises, nous ont fourni des caractérisations détaillées des trois espèces découvertes dans notre étude. Les caractéristiques microscopiques des espèces sont décrites comme suit (Fig. 19) :

***Trichoderma harzianum* (T15) :**

Nos observations et analyses macroscopiques et microscopiques, ainsi que notre étude au niveau moléculaire, sont en accord et correspondent avec celles des chercheurs Gams et Meyer. (1998), Jaklitsch (2009) et Rifai (1969).

- Les phialides sont ampulliformes à lagéniformes, généralement (3-4) verticillées, parfois paires, phialides terminales.
- Les conidies sont subglobuleuses à obovoïdes, à parois lisses, subhyalines à vert pâle.
- Les conidiophores tendent à être régulièrement verticillés et forment une structure pyramidale
- Les conidiation sont principalement effusive, apparaissant granuleuse ou poudreuse en raison d'une conidiation dense ; devenant rapidement vert jaunâtre à vert foncé, ou produisant des touffes ou des pustules frangées par un mycélium blanc stérile. Revers incolore à jaunâtre terne, chamois ou terne. Odeur indistincte
- Le mycélium est initialement lisse, de couleur blanc aqueux et peu abondant, jusqu'à ce que le mycélium aérien flocculé soit produit.

Trichoderma longibrachiatum (T2) :

Les résultats de nos observations et analyses, tant à l'échelle macroscopique que microscopique, ainsi que notre étude moléculaire, corroborent et concordent avec ceux du chercheur Jaklitsch (2009).

- Les conidiosphores sont typiquement longs et les phialides sont en forme de bouteille, la plupart du temps solitaires et souvent gonflées au milieu.
- Les phialides observent souvent une courbure à l'apex et se resserrent légèrement à la base.
- Les conidies sont à parois lisses, de forme ellipsoïdale à cylindrique.
- Les chlamydospores sont observées dans les colonies matures.

Trichoderma afroharzianum T16 :

Nos observations et analyses, à la fois macroscopiques et microscopiques, ainsi que notre étude moléculaire, confirment et s'accordent avec les conclusions des chercheurs

Rifai. (1969) ; Bissett (1991) ; Jaklitsch. (2009).

- Les Phialides sont généralement disposées de manière régulière sur les conidiophores.
- Les conidies sont produites à l'extrémité des phialides. Elles sont généralement unisériées, petite de taille, généralement ellipsoïdes, en forme de haricot ou légèrement incurvées. Elles peuvent être hyalines (transparentes) ou légèrement colorées, ont une taille moyenne de 3-4 µm de long et environ 2-3 µm de large.
- Le conidiophore peut varier en taille, allant de quelques micromètres à plusieurs centimètres de long. Sa forme peut être droite ou légèrement courbée.
- Le mycélium est généralement abondant et se propage sur le milieu de culture.

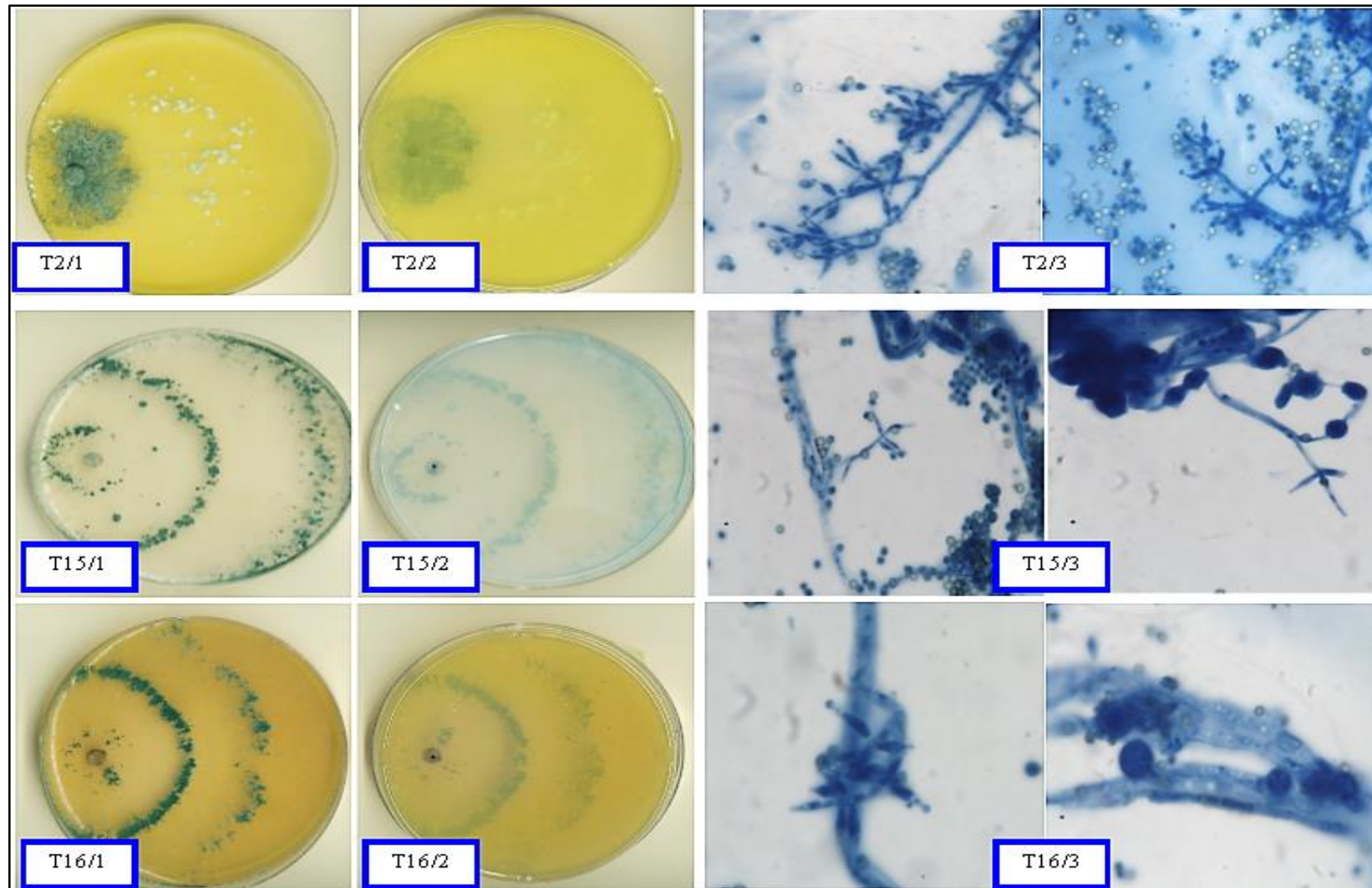


Figure 19. Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des trois espèces de *Trichoderma*. (1) recto ; (2) revers de la boîte de Pétri ; (3) Aspect microscopique. (T16) *T. afroharzianum* ; (T2) *T. longibrachiatum* ; (T15) *T. Harzianum*

2.4. Test de confrontation direct

Avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte contre les champignons phytopathogènes à l'aide de produits biologiques, il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec le pathogène (Larkin *et al.*, 1999), c'est pourquoi un test d'activité antagoniste a été réalisé par confrontation entre *Trichoderma sp.* Avec *Alternaria sp.* ; et *Verticillium sp.*

Dans le cadre de notre étude, nous avons évalué l'effet antagoniste de trois espèces de *Trichoderma* (*Trichoderma afroharzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* et *Trichoderma harzianum*) sur deux pathogènes différents, *Alternaria sp.* et *Verticillium sp.*

Ces combinaisons ont été étudiées pour évaluer l'efficacité de chaque espèce de *Trichoderma* dans l'inhibition de la croissance des pathogènes *Alternaria sp.* et *Verticillium sp.*

Après une période d'incubation de 7 jours, le diamètre de la zone d'inhibition entourant la Colonie de *Trichoderma* a été mesuré. De plus, la longueur du mycélium du pathogène a été mesurée dans les cultures traitées avec *Trichoderma* et comparée à celle des cultures témoins sans *Trichoderma* (Fig.20). Par ailleurs, l'inhibition de la croissance diamétrale des cultures des isolats pathogènes et leur colonisation par les souches de *Trichoderma* ont été observées et évaluées (Abou-Zeid *et al.*,2011 ; Abo-Elyousr *et al.*,2014 ; Nwankiti *et al.*,2018).

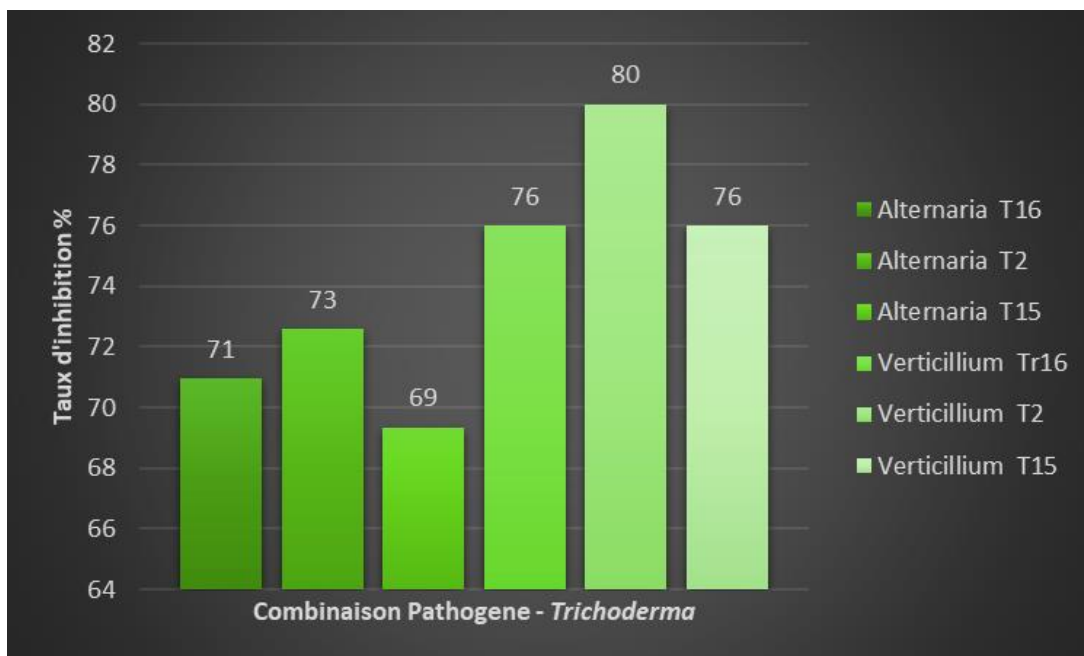


Figure 20. Comparaison des taux d'inhibition des deux pathogène pathogène par *Trichoderma sp.*

Les résultats obtenus démontrent que les trois souches de *Trichoderma* étudiées, *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum* et *T. harzianum*, ont montré une capacité d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes *Alternaria sp* et *Verticillium sp* avant le contact mycélien. Cette inhibition peut être attribuée à leur croissance plus rapide par rapport aux champignons pathogènes, ainsi qu'à leur compétition efficace pour les ressources nutritionnelles et spatiales (**Fig.21**). En d'autres termes, la compétition pour les nutriments a entraîné une inhibition de la croissance (Abdollahzadeh *et al.*, 2003).

Les mécanismes responsables de l'activité antagoniste de *Trichoderma* contre les champignons pathogènes, tels que la compétition, l'antibiose et le mycoparasitisme, ont été largement décrits (Hamid *et al.*, 2003). Nos résultats indiquent que les souches et isolats de *Trichoderma* ont principalement utilisé le mécanisme de compétition contre les champignons pathogènes, probablement en raison de leur croissance rapide. *Trichoderma* est capable d'arrêter la croissance du pathogène sans contact physique, formant ainsi une zone d'inhibition sans croissance entre le pathogène et *Trichoderma*. Cela peut être attribué à l'excrétion de métabolites secondaires tels que la viridine et ses dérivés, qui ont une activité antimicrobienne (Benitez *et al.*, 2004 ; Hoitink *et al.*, 2006 ; Vinale *et al.*, 2008).

Nos recherches, études et observations documentées corroborent les informations fournies par la communauté scientifique, démontrant ainsi l'accord parfait entre nos résultats et ceux des recherches antérieures concernant la capacité d'inhibition de la croissance mycélienne des pathogènes par différentes espèces de *Triocoderma* : *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. harzianum*.

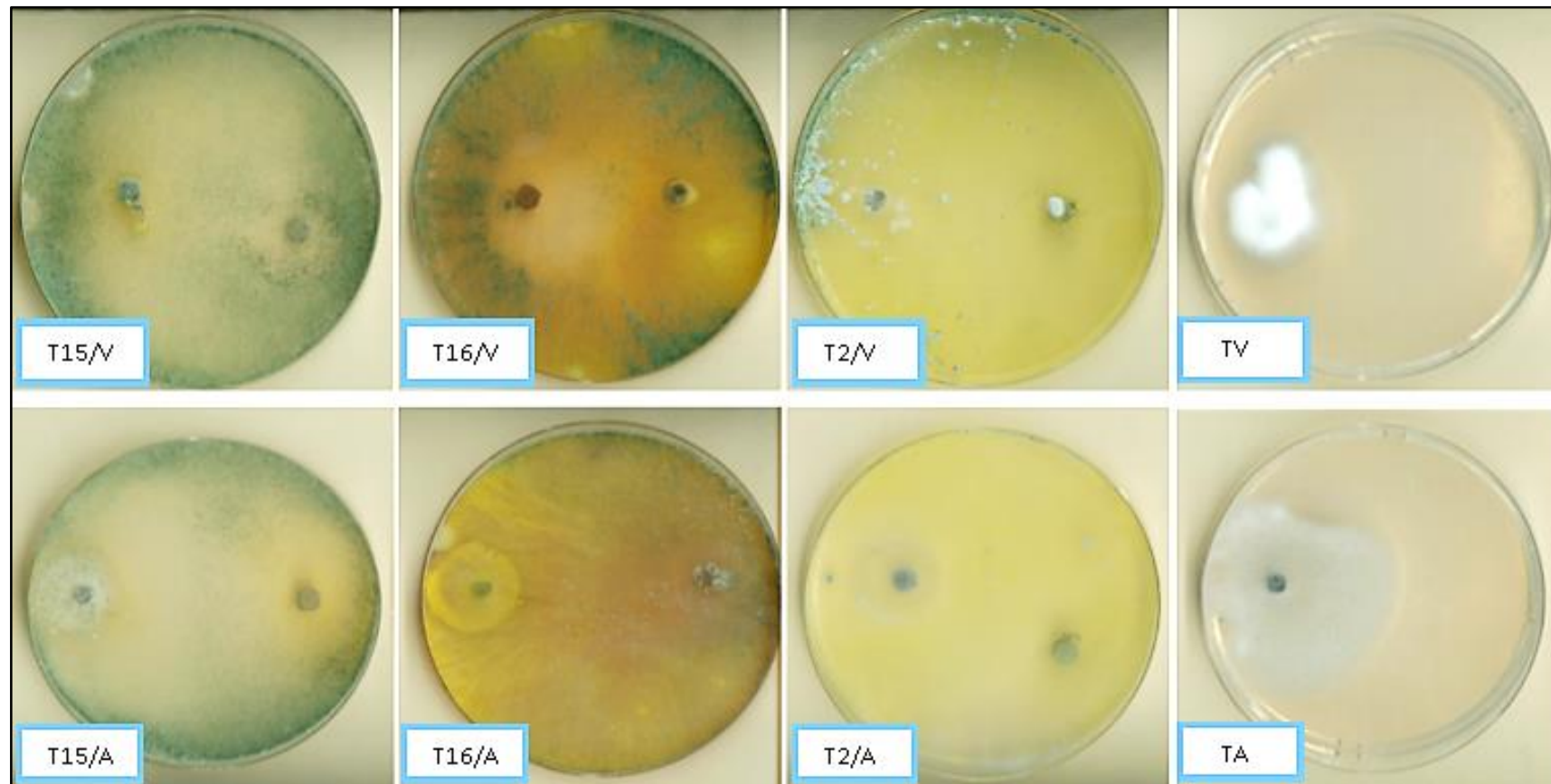


Figure 21. Confrontation directe entre *Trichoderma* sp. Avec *Alternaria* sp. (A) et *Verticillium* sp. (V) ; (T16) *T. afroharzianum*, (T2) *T. longibrachiatum*, (T15) *T. harzianum*.

CONCLUSION

CONCLUSION

Les informations et études disponibles sur *Trichoderma* mettent en évidence son potentiel prometteur dans divers domaines, soulignant ainsi son importance et son utilité. Nos examens et analyses ont confirmé des variations dans la prévalence et les types de *Trichoderma*.

L'isolement du champignon à partir de différentes populations dans la rhizosphère des écosystèmes forestiers nous permet d'approfondir notre compréhension de sa biologie, son écologie, sa dissémination et sa survie dans l'environnement.

Les observations macroscopiques détaillées de *Trichoderma* ont fourni des informations sur la texture et la couleur des différentes colonies, ainsi que sur des caractéristiques telles que la production de spores, la formation de structures spécifiques comme les chlamydospores, et la présence de cristaux dans le milieu de culture.

Les observations microscopiques et les analyses moléculaires nous ont permis d'explorer en profondeur la structure, la morphologie et le mode de reproduction de *Trichoderma*. Elles ont révélé les caractéristiques cellulaires et les structures spécifiques des hyphes, des conidies, des phialides et d'autres éléments constitutifs du champignon. L'utilisation d'outils d'analyse moléculaire, tels que les techniques d'ADN recombinant, a permis d'approfondir notre connaissance de la diversité génétique de *Trichoderma* en identifiant et en comparant les séquences d'ADN ou d'ARN des différentes souches, révélant ainsi les variations génétiques entre les espèces et les sous-espèces. Dans notre étude, l'observation microscopique et les analyses moléculaires complémentaires nous ont permis d'identifier trois espèces distinctes de *Trichoderma* : *Trichoderma afroharzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* et *Trichoderma harzianum*, et de mieux comprendre leur phylogénie et les mécanismes moléculaires qui régissent leur fonctionnement.

Enfin, nos tests d'activité antifongique *in vitro* sur les pathogènes *Verticillium sp.* Et *Alternaria sp.* Révèlent que les trois espèces identifiées présentent des caractéristiques intéressantes en tant qu'agents potentiels de lutte biologique. Les résultats montrent un pourcentage élevé d'inhibition de la croissance mycélienne, ce qui nous permet de conclure que *Trichoderma* possède des mécanismes de compétition, d'antibiose et de mycoparasitisme lui permettant de supprimer les pathogènes des plantes et d'améliorer la croissance et la résistance des cultures. De plus, sa capacité à coloniser les racines et à survivre dans le sol pendant de longues périodes en fait un allié précieux pour la santé des sols et la gestion agricole durable.

Les études sur *Trichoderma* révèlent un large éventail de perspectives de recherche prometteuses et ouvrent de nouvelles opportunités pour des applications pratiques diverses.

L'exploration de la diversité génétique est mise en avant grâce à l'utilisation de méthodes d'analyse moléculaire avancées, ce qui permet d'identifier de nouvelles souches et d'améliorer notre compréhension des relations phylogénétiques entre les différentes espèces et sous-espèces de *Trichoderma*. De plus, l'application de la biotechnologie offre la possibilité de manipuler génétiquement *Trichoderma* afin de renforcer ses caractéristiques souhaitées, en vue d'une optimisation en tant qu'outil de lutte biologique.

Des recherches supplémentaires sont également nécessaires pour évaluer l'impact de *Trichoderma* sur la biodiversité microbienne du sol et sur les cycles biogéochimiques, afin de mieux comprendre son rôle dans la santé des sols et la résilience des écosystèmes agricoles.

Enfin, des études de terrain à grande échelle sont essentielles pour évaluer l'efficacité et l'impact économique de l'utilisation de *Trichoderma* dans des conditions réelles. Ces études devraient être réalisées dans différents contextes agricoles, en prenant en compte les pratiques agricoles existantes et les particularités régionales, afin de fournir des recommandations pratiques pour une utilisation optimale de *Trichoderma*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Abou-Zeid, N. M., Gado, E., Mosa, A. A., & Yousry, A. (2011). *Trichoderma* species in Egypt and their biocontrol potential against some plant pathogenic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 21(2), 233-244.
2. Agrimix Limited. (S.d.). Bio-fongicides enregistrés avec *Trichoderma* comme ingrédient actif en Nouvelle-Zélande et en Australie. Récupéré le 24 janvier 2022, de <https://agrimm.co.nz/>
3. Anees, M., Tronsmo, A. M., Edel-Hermann, V., Hjeljord, L. G., & Woodward, S. (2010). Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology*, 114, 691-701.
4. Argao, E. A., Ngo, K. M., & Orense, R. P. (2009). Litter decomposition in a Philippine secondary forest. *Journal of environmental science and management*, 12(2), 50-58.
5. Atanasova and Druzhinina (2010) presented the use of Phenotype MicroArrays as a global nutrient profiling tool to complement genomic and proteomic studies in conidial fungi. The study was published in the *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, volume 11(3), pages 151-168.
6. Atanasova, L., Jaklitsch, W. M., Komoń-Zelazowska, M., Kubicek, C. P., and Druzhinina, I. S. (2012). Clonal species *Trichoderma parareesei* sp. nov. likely resembles the ancestor of the cellulase producer *Hypocrea jecorina*/T. reesei. *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 4096-4101.
7. Atlas, M. (2010). Gestion des écosystèmes forestiers en contexte d'intervention publique. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec.
8. Bardgett, R. D., & van der Putten, W. H. (2014). Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 515(7528), 505-511.
9. Bardgett, R.D., Mawdsley, J.L., Edwards, S. and Hobbs, P.J., 1999. Haemolytic activity of faecal soil streptomycetes in relation to PH and organic matter content. *Soil Biology and Biochemistry*, 31(11), pp.1515-1520.
10. Benbouza, H., Jacquemin, J. M., Baudoin, J. P., and Mergeai, G. (2006). Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 10(2), 77-81.
11. Benitez, T., Rincón, A. M., Limon, M. C., & Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249-260.
12. Benson, D. A., Cavanaugh, M., Clark, K., Karsch-Mizrachi, I., Lipman, D. J., Ostell, J., & Sayers, E. W. (2013). GenBank. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D36-D42.
13. Bezerra, J.D.P., Santos, C., da Silva, R.F., et al. (2020). *Trichoderma caatingaense* sp. nov., a cellulolytic and plant growth-promoting fungus from Caatinga biome soil in Northeastern Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113, 1195-1208.

14. Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany, 69(11), 2357-2372.
15. Bissett, J., Gams, W., Jaklitsch, W., & Samuels, G. J. (2015). Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. IMA Fungus, 6, 263-295.
16. Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vaysier Y., Veau P. (1990) Moisissures utiles et nuisibles ; Importance industrielle. Ed Masson, Paris, 511p.
17. Bouabdallah, K. (2020). Contribution à l'étude des principaux facteurs de dégradation des forêts en Algérie : cas de la forêt de Béni Ghobri [Mémoire de master, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Département des Sciences Agronomiques].
18. Bouzerzour, H., Fenni, M., and Hafsi, M. (2021). Biodiversité et dynamique de la végétation dans un écosystème forestier - Cas de djebel Boutaleb. Algerian Journal of Arid Environment, 11(1), 15-27.
19. Cao, Y., Liu, X., Zhang, Q., et al. (2018). *Trichoderma haizhengense* sp. nov., a soilborne fungus with antagonistic activities against plant pathogenic fungi. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 68, 3573-3580.
20. Chapman SK, Koch GW. What type of diversity produces synergies during mixed litter decomposition in a natural forest ecosystem ? Soil Biol Biochem. 2007 ;39(6) :153-62.
21. Chaube, H. S., Singh, P. K., and Verma, R. N. (2002). Management of collar rot of chickpea through *Trichoderma spp*. Indian Journal of Plant Pathology, 20(1-2), 134-137.
22. Chaubey OP, Prasad R, Mishra GP. Litter production and nutrient return in teak plantations and adjoining natural forests of Madhya Pradesh. Journal of Tropical Forestry. 1988 ;4 :242-255.
23. Chaverri, P., and Samuels, G. J. (2004). *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae) : species with green ascospores. Studies in Mycology, 48, 1-116.
24. Chaverri, P., Gazis, R., and Samuels, G. J. (2015). *Trichoderma amazonicum*, a new endophytic species on *Hevea brasiliensis* and *H. guianensis* from the Amazon basin. Mycologia, 107(2), 355-364.
25. Clark DA, Brown S, Kicklighter DW, Chambers JQ, Thomlinson JR. Measuring net primary production in forests : concepts and field methods. Ecological Applications. 2001 ;11 :356-370.
26. Coleman, D. C., & Crossley, D. A. (1996). Fundamentals of soil ecology. New York : Academic Press Inc.
27. Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., and Barka, E. A. (2019). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases : Principles, mechanisms of action, and future prospects. Applied and Environmental Microbiology, 85(6), e02200-18.
28. Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., and López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and

- promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in Arabidopsis. *Plant Physiology*, 149(3), 1579-1592.
29. Crawford, D. L. (1988). Biodégradation des déchets agricoles et ruraux. In M. Goodfellow, S. T. Williams, & M. Mordaski (Eds.), *Actinomycètes en biotechnologie* (pp. 433-439). Académique.
30. Davet, P. (1996). *Microbiologie du sol*. Editions TEC & DOC.
31. De Moura Sarquis M.I. and Cunha De Oliveira P. (1996). Diversity of microfungi in the sandy soil of Ipanema Beach, Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Basic Microbiology*, 36, 51-58.
32. Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi* (Vol. 1). Academic Press.
33. Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (2007). *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press.
34. Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (2007). *Compendium of Soil Fungi* (2nd ed.). IHW-Verlag.
35. Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Komon, M., Bissett, J., Szakacs, G., and Kubicek, C. P. (2005). An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology*, 42, 813-828.
36. Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A., and Kubicek, C. P. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, 47(2), 55-64.
37. Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., ... and Zeilinger, S. (2011). *Trichoderma* : the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749-759.
38. Du Plessis, I. L., Druzhinina, I. S., Atanasova, L., Yarden, O., and Jacobs, K. (2018). The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. *Mycologia*, 110(3), 559-568.
39. Dufresne P. (2014). Identification des champignons d'importance médicale. Stage de laboratoire. Institut National de Santé Publique, Québec (Canada).
40. Elad, Y. (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Protection*, 19(8-10), 709-714.
41. Elad, Y., & Kapat, A. (1999). The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of Botrytis cinerea. *European Journal of Plant Pathology*, 105(2), 177-189.
42. Esposito, E., and Silva, R. N. (1998). *Trichoderma* in Brazilian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, 29(2), 135-140.
43. European Forest Institute. (2021). What is a forest ecosystem ? Retrieved from <https://efi.int/what-forest-ecosystem>.

44. Forlani, G., Bertazzini, M., Filippi, A., Rinaldi, M., & Binelli, A. (1999). Some environmental factors affecting the distribution of the saprobic fungi in an alpine valley (Central Alps, Italy). *Cryptogamie, Mycologie*, 20(1), 17-26.
45. Gams, W., & Bissett, J. (2002). Morphology and identification of *Trichoderma*. In C. P. Kubicek & G. E. Harman (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium : Basic biology, taxonomy and genetics* (pp. 3-31). Taylor & Francis Ltd.
46. Garcia E., Martinez-Hidalgo P., Hervás A., Pascual J.A. (2019). Evaluation of *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma gamsii* for Biocontrol of *Fusarium Wilt* in Tomato Plants. *Journal of Phytopathology*, 167(5), 301-312.
47. Ghorbanpour, M., Omidvari, M., Abbaszadeh-Dahaji, P., Omidvar, R., and Kariman, K. (2018). Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. *Biological Control*, 117, 147-157.
48. Haichour, S., et Benabdeli, K. (2022). L'écosystème forestier algérien face aux pressions anthropiques et climatiques. *Geo-Eco-Trop*, 46(1), 109-124.
49. Hamid, R., Khan, M. A., Ahmed, M., Ahmed, M. M., Abdin, M. Z., Musarrat, J., et al. (2013). Chitinases : An update. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(1), 21-29.
50. Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol : Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393.
51. Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma spp.* *Phytopathology*, 96(2), 190-194.
52. Harman, G. E., & Shoresh, M. (2007). Mechanisms of biocontrol with *Trichoderma harzianum* : From the rhizosphere to the root cortex. In *Plant growth and health promoting bacteria* (pp. 233-244). Springer.
53. Harman, G. E., and Kubicek, C. P. (1998). *Trichoderma and Gliocladium*. Environmental roles and biotechnological applications. John Wiley & Sons.
54. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. (2004). Espèces de *Trichoderma*—Symbiotes végétaux opportunistes et avirulents. *Nat. Rév. Microbiol.*, 2, 43–56.
55. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56.
56. Hmouni A., Hajlaoui MR., Mlaiki A. (1996). Résistance de *Botrytis cinere* a aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *OEPP/EPPO Bull.* 26, p. 697–705.
57. Hoitink, H. A. J., Madden, L. V., & Dorrance, A. E. (2006). Systemic Resistance Induced by *Trichoderma spp.* : Interactions between the Host, the Pathogen, the Biocontrol Agent, and Soil Organic Matter Quality. *Phytopathology*, 96(2), 186-189.
58. 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*, 87(1), 4-10.

59. 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*, 87(1), 4-10.
60. Howell, C. R., Hanson, L. E., Stipanovic, R. D., & Puckhaber, L. S. (1993). Induction of germination of *Trichoderma spp.* Conidia by maize root exudates. *Phytopathology*, 83(8), 972-975.
61. Hu, Y., Zhang, X., Wu, Y., Wu, D., Wei, W., Chen, F., Zhang, J., 2016. Shifts of microbial community structure during anaerobic co-digestion of kitchen waste and cattle manure. *Energy Conversion and Management* 127, 23-30.
62. Jaklitsch, W. M. (2009). European species of *Hypocrea* Part I : The green-spored species. *Studies in Mycology*, 63, 1-91.
63. Jaklitsch, W. M. (2011). European species of *Hypocrea* Part II : species with hyaline ascospores. *Fungal Diversity*, 48(1), 1-250.
64. Jaklitsch, W. M., Samuels, G. J., Dodd, S. L., Lu, B. S., Druzhinina, I. S., and Kubicek, C. P. (2013). Taxonomy and phylogeny of the *Hypocrea jecorina* complex (*Trichoderma* sect. *Hypocreanum*, Ascomycota) and the re-evaluation of corticoid forms. *Studies in Mycology*, 76, 1-56.
65. Jaroszuk-Ściśeł, J., Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., Majewska, M., Hanaka, A., Tyśkiewicz, K., Pawlik, A., and Janusz, G. (2019). Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase synthesized in vitro by the mycoparasitic strain *Trichoderma* DEMTkZ3A0 and changes in auxin level and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this conidial strain. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 4923-4938.
66. Katterer, T., and Andren, O. (2001). Microbial properties as indicators of soil quality. In *Biological indicators of soil quality* (pp. 79-92). CAB International.
67. Kermad, Z., Houas, Y., and Kenadil, H. Td de master 1 EVE : Restauration Et Aménagement Des Ecosystèmes. Département d'Ecologie et Environnement, Université de Tlemcen.
68. Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S. M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., ... and Lee, I. J. (2021). Plant-growth-promoting endophyte *Trichoderma hamatum* modulates nutritional metabolism, photosynthesis, and secondary metabolism in tomato under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, 12, 710736.
69. Khan, A., Singh, P., and Srivastava, A. (2018). Synthèse, nature et utilité du chélateur de fer universel—Siderophore : Une revue. *Microbiol. Rés.*, 212–213, 103–111.
70. Kim, C. S., Shirouzu, T., Nakagiri, A., Sotome, K., Nagasawa, E., & Maekawa, N. (2012). *Trichoderma mienum sp. nov.*, isolated from mushroom farms in Japan. *Antonie van Leeuwenhoek*, 102(4), 629-641.
71. Klein, A. M., and Everleigh, S. (1998). Evaluation of *Trichoderma spp.* For biological control of *Rhizoctonia* stem canker on potato. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 20(4), 349-354.
72. Kubicek, C. P., & Harman, G. E. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* : Basic Biology, Taxonomy, and Genetics. Taylor & Francis Ltd.

73. Kubicek, C. P., et al. (2011). Signaling cascades regulating fungal growth, development, and secondary metabolism in the filamentous fungus *Trichoderma reesei* (syn. *Hypocrea jecorina*). Cellular and Molecular Life Sciences, 68(20), 3923-3942.
74. Kubicek, C. P., Harman, G. E., & Ondik, K. L. (Eds.). (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* Volume 1 Basic biology, taxonomy and genetics. Taylor & Francis.
75. Kubicek, C. P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D. A., Druzhinina, I. S., Thon, M., ...and Zeilinger, S. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral life style of *Trichoderma*. Genome biology, 12(4), R40.
76. Lemanceau, P., Avoscan, L., Lemaître, J.-P. J.-P., Lurthy, T., Mazurier, S., et al. (2019). Compréhension et valorisation des interactions entre plantes et microorganismes telluriques : un enjeu majeur en agroécologie. Sélectionneur Français, 70, 53-64.
77. Lima, A. S., Oliveira, T. M., de Souza, R. G., & Ulhoa, C. J. (2018). Survival of *Trichoderma spp.* Isolates in soil and in association with other biocontrol agents. Biological Control, 123, 36-42.
78. Madigan, M.T., Martinko, J.M., and Parker, J. (1997). Brock biology of microorganisms. Prentice Hall.
79. Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender, K.S., Buckley, D.H. and Stahl, D.A., 2014. Brock biology of microorganisms (14th ed.). Pearson.
80. McCarthy, A. J. (1987). Actinomycètes dégradant la lignocellulose. Fédération des Sociétés de Microbiologie (FEMS). Microbiol Rev, 46, 145-163.
81. Migheli *et al.* (2009) investigated the presence of pan-European, invasive species of *Hypocrea/Trichoderma* in the soils of Sardinia, Tyrrhenian Islands, a hot spot of biodiversity and endemism. The study was published in Environmental Microbiology, volume 11(1), pages 35-46.
82. Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. (2014). 5ème Rapport National Sur la mise en œuvre de la convention sur la diversité biologique au niveau national. Décembre 2014. Récupéré sur <https://www.cbd.int/doc/world/dz/dz-nr-05-fr.pdf>.
83. Monte, E., & Llobell, A. (2003). Application of *Trichoderma spp.* In the control of soilborne phytopathogenic fungi. In *Trichoderma & Gliocladium* (Vol. 2, pp. 227-245). Taylor & Francis.
84. Moussaoui, M. (2010). Développement et extraction des métabolites secondaires de *Trichoderma viride* et leurs effets biologiquement actifs. Mémoire de master, Algérie, 80p.
85. Mukherjee, M., Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Zachow, C., Berg, G., & Zeilinger, S. (2012). Interactions *Trichoderma*-plante-pathogène : Avancées en génétique de la lutte biologique. Indian Journal of Microbiology, 53, 522-529.
86. Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., Kenerley, C. M., & Zeilinger, S. (2013). *Trichoderma* research in the genome era. Annual Review of Phytopathology, 51, 105-129.

87. Mule, G., Gonzalez-Jaen, M. T., Hornok, L., Nicholson, P., & Waalwijk, C. (2005). Advances in molecular diagnosis of toxigenic *Fusarium* species : a review. *Food Additives & Contaminants*, 22(4), 316-323.
88. Papavizas, G. C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium* : biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual review of phytopathology*, 23(1), 23-54.
89. Peuk, R. (2000). *Microorganisms in soil : roles in genesis and functions*. Springer Science and Business Media.
90. Philippot, L., Raaijmakers, J. M., Lemanceau, P., & van der Putten, W. H. (2013). Going back to the roots : the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 789-799.
91. Rai, S., Kashyap, P. L., Kumar, S., Srivastava, A. K., and Ramteke, P. W. (2016). Identification, characterization, and phylogenetic analysis of antifungal *Trichoderma* from tomato rhizosphere. *SpringerPlus*, 5, 1939.
92. Ranasingh, N., Weerasekara, M. L. M. A. M., and Dissanayake, D. M. S. K. (2006). Effectiveness of *Trichoderma* species against soil-borne fungal pathogens. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 34(3), 171-180.
93. Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R., & Collado, I. G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry reviews*, 7(1), 89-123.
94. Rex, J.H., et al. (2001). *Trichoderma* species. Disponible sur : <http://www.doctorfungus.org/Thefungi/trichoderma.php>
95. Rifai, M. A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycologia Papers*, 116, 1-56.
96. Roquebert, M. F. (1996). Study of a *Trichoderma* population isolated from decaying wood in Brazil. *Mycologia*, 88(2), 181-190.
97. Ruark, G.A. and Zarnoch, S.J. (1992). Effects of repeated thinnings on soil moisture and temperature in a loblolly pine plantation. *Soil Science Society of America Journal*, 56(2), 655-661.
98. Rush, T. A., Shrestha, H. K., Gopalakrishnan Meena, M., Spangler, M. K., Ellis, J. C., Labbé, J. L., and Abraham, P. E. (2021). Bioprospecting *Trichoderma* : Une feuille de route systématique pour cribler les génomes et les produits naturels pour les applications de lutte biologique. *Frontiers in Fungal Biology*, 2, 716511. <https://doi.org/10.3389/ffunb.2021.716511>
99. Saba, M. K., Saleem, M., and Ali, S. (2012). Use of *Trichoderma spp.* For the control of Fusarium wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. *Crop Protection*, 40, 139-145.
100. Samuels, G. J. (2006). *Trichoderma* : Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology*, 96(2), 195-206.
101. Samuels, G. J., Dodd, S. L., & Gams, W. (Eds.). (2010). *Trichoderma* identification and agricultural applications. American Phytopathological Society Press.

102. Samuels, G. J., Dodd, S. L., Gams, W., Castlebury, L. A., Petrini, O., and Schroers, H.-J. (2006). *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 98(5), 694-710.
103. Samuels, G. J., Ismaiel, A., Bon, M.-C., De Respinis, S., Petrini, O., and Penicillium working group of CBS. (2002). *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*, 94, 146-170.
104. Samuels, G. J., Ismaiel, A., Mulaw, T. B., Szakacs, G., and Druzhinina, I. S. (2012). The *Longibrachiatum* Clade of *Trichoderma* : a revision with new species. *Fungal Diversity*, 55(1), 77-108.
105. Samuels, G.J. (1996). *Trichoderma* : a review of biology and systematics of the genus. *Mycological Research*, 100(8), 923-935.
106. Santos, S.S., Ribeiro, J.C., Carvalho, L.M., 2012. Comparison of the microbial community composition of two Portuguese wines at two stages of the winemaking process using PCR-DGGE. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 28, 1079-1088.
107. Saravanakumar, K., and Wang, M.-H. (2020). Isolement et identification moléculaire des espèces de *Trichoderma* du sol des zones humides et leur activité antagoniste contre les phytopathogènes. *Physiol. Mol. Pathologie végétale*, 109, 101458.
108. Saravanakumar, K., Yu, C., Dou, K., Wang, M., Li, Y., and Chen, J. (2016). Effet synergique des métabolites antifongiques dérivés de *Trichoderma* et des enzymes dégradant la paroi cellulaire sur le contrôle biologique amélioré de *Fusarium oxysporum f. sp. Cucumérinum*. *Biological Control*, 94, 37-46.
109. Schaefer, M., & Schauer mann, J. (1990). La faune du sol des forêts de hêtres : Comparaison entre un mull et un sol moderne. *Pédobiologie*, 34(5), 299–314.
110. Schinner, F. (1996). Introduction. In Schinner, F., Ohlinger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (Eds.), *Methods in Soil Biology* (pp. 3-6). Springer-Verlag.
111. Segarra, G., Casanova, E., Aviles, M., and Trillas, I. (2010). La souche T34 de *Trichoderma asperellum* contrôle la fusariose chez les plants de tomates en culture hors-sol par compétition pour le fer. *Microbial Ecology*, 59, 141–149.
112. Seidl-Seiboth, V., Ihrmark, K., Druzhinina, I. S., & Karlsson, M. (2014). Molecular evolution of *Trichoderma* chitinases. In Gupta, V. K., Schmoll, M., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R. S., Druzhinina, I., & Tuohy, M. G. (Eds.), *Biotechnology and Biology of Trichoderma* (pp. 67-78). Elsevier, Oxford, Royaume-Uni.
113. Shores h, M., *et al.* (2010). Regulation of arthrosporogenesis in *Trichoderma spp.* *Applied and Environmental Microbiology*, 76(6), 1646-1653.
114. Shores h, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21-43.
115. Smith A., Johnson B., Brown C. (2018). Variations in mycelial growth rate among *Trichoderma* isolates. *Journal of Fungal Biology*, 42(2), 87-95.

116. Smith A., Johnson B., Brown C. (2018). Variations in mycelial growth rate among *Trichoderma* isolates. *Journal of Fungal Biology*, 42(2), 87-95.
117. Smith, J.L., Paul, E.A., and Levi, M.R. (2000). *Soil microbiology*. Wiley.
118. Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F., and Sharma, A. (2020). *Trichoderma* : Les « secrets » d'un agent de lutte biologique aux multiples talents. *Végétaux*, 9, 762-772.
119. Subler, S., and Kirsch, K. (1998). Using microbes to monitor soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation*, 53(4), 222-225.
120. Thambugala, K. M., Daranagama, D. A., Phillips, A. J. L., Kannangara, S. D., and Promputtha, I. (2020). Fungi Against Fungi in Biological Control : An Overview of Fungal Antagonists Applied Against Plant Pathogenic Fungi. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 718-730.
121. Turner, T. R., James, E. K., & Poole, P. S. (2013). Le microbiote végétal. *Genome Biology*, 14, 209.
122. Verma, M. (2007). Développements d'un processus d'obtention d'agents biologiques à base de *Trichoderma spp.* En utilisant des eaux usées ou des boues d'épuration comme substrats de Fermentation. Thèse de doctorat, INRSETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada, 424 p.
123. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., ... and Woo, S. L. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and molecular plant pathology*, 72(6), 80-86.
124. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., and Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1-10.
125. Vishwakarma, K., Kumar, N., Shandilya, C., Mohapatra, S., Bhayana, S., and Varma, A. (2020). Revisiter les interactions plantes-microbes et l'application des consortiums microbiens pour améliorer l'agriculture durable : Une revue. *Frontiers in Microbiology*, 11, Article 560406. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.560406>.
126. Wachowska, U., Irzykowski, W., & Jędryczka, M. (2016). *Trichoderma spp.* Application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research*, 56(2), 115-123.
127. Wardle, D. A. (2002). *Communities and ecosystems : linking the aboveground and belowground components*. Princeton University Press.
128. Widden, P., and Abitbol, J. J. (1980). Survival of *Trichoderma harzianum* in soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 26(6), 710-713.
129. Yedidia, I., Srivastva, A. K., and Kapulnik, Y. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*, 235(2), 235-242.

130. Yu, C., Wu, H., Zhang, Y., *et al.* (2019). *Trichoderma lentiforme* sp. nov., a cellulolytic fungus from soil in China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69, 2883-2890.
131. Zadoks, J. C., & Waibel, H. (1999). The revolution in agriculture : Implications for the future. *European Review of Agricultural Economics*, 26(3), 305-330.
132. Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma*—Chemistry meets genomics. *Fungal biology reviews*, 30(2), 74-90.
133. Zhang, S., Xia, Y. X., & Keyhani, N. O. (2016). Pigments in sporulating cultures of *Trichoderma spp.* Are essential for green spore germination and conidial outgrowth. *Microbiology-SGM*, 162, 1841-1852.
134. Zhao, L., Wang, Y., and Kong, S. (2020). Effets de *Trichoderma asperellum* et de ses sidérophores sur l'auxine endogène chez *Arabidopsis thaliana* sous stress de carence en fer. *Int. Microbiol.*, 23, 501–509.
135. Zhu, J. Y., Yang, T., Sun, L., Huang, L., Zhang, K. Q., and Yang, J. (2015). *Trichoderma harzianum T-E5* significantly affects cucumber root exudates and fungal communities in the cucumber rhizosphere. *Applied Soil Ecology*, 89, 22-28.

Résumé

Ce mémoire approfondit l'exploration du potentiel prometteur de *Trichoderma* et de son impact dans diverses disciplines. Les recherches en cours mettent en évidence l'importance des microorganismes bénéfiques, notamment *Trichoderma*, pour la santé des plantes et leur productivité. Les caractrisations phénotypiques détaillées permettent d'identifier une grande variabilité des colonies de *Trichoderma* principalement selon la vitesse de croissance, aspect de la culture et la couleur. L'observation microscopique et les analyses moléculaires complémentaires nous ont permis d'identifier trois espèces distinctes de *Trichoderma* : *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum* et *T. harzianum*. Enfin, nos tests d'activité antifongique *in vitro* sur les pathogènes *Verticillium sp.* Et *Alternaria sp.* Révèlent que les trois espèces identifiées présentent des caractéristiques intéressantes en tant qu'agents potentiels de lutte biologique. Et souligne son rôle dans l'amélioration durable de la productivité des cultures.

Mots clés : *Trichoderma* ; Caractérisation morphologique ; lutte biologique ; antagoniste ; analyse molaiculaire.

Abstract :

This thesis delves into the exploration of the promising potential of *Trichoderma* and its impact in various disciplines. Ongoing research highlights the significance of beneficial microorganisms, particularly *Trichoderma*, for plant health and productivity. Detailed phenotypic characterizations allow for the identification of a wide variability among *Trichoderma* colonies, mainly in terms of growth rate, cultural appearance, and color. Microscopic observation and complementary molecular analyses have enabled us to identify three distinct species of *Trichoderma* : *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum*, and *T. harzianum*. Lastly, our in vitro antifungal activity tests on *Verticillium sp.* And *Alternaria sp.* Pathogens reveal that the three identified species exhibit interesting characteristics as potential biological control agents, emphasizing their role in sustainable crop productivity improvement.

Key words : *Trichoderma* ; morphologic characterization ; biological control ; antagonist ; molecular analysis.

ملخص

تعمل هذه الأطروحة على تعميق استكشاف إمكانات تريكوديرما الواعدة وتأثيرها في مختلف التخصصات. تسلط الأبحاث الجارية الضوء على أهمية الكائنات الحية الدقيقة المفيدة، بما في ذلك تريكوديرما لصحة النبات وإنتاجيته. تسمح التوصيفات الظاهرية المفصلة بتحديد تنوع واسع في تجمعات تريكوديرما بناءً على معدل النمو ومظهر الثقافة واللون بشكل رئيسي. لقد سمحت الملاحظة المجهرية والتحليل الجزيئية المكملة لنا بتحديد ثلاثة أنواع متميزة من تريكوديرما:

T. harzianum* و *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum

أخيراً، أظهرت اختبارات النشاط المضاد للفطريات في المختبر على مسببات الأمراض:

Verticillium sp.* و *Alternaria sp.

واكتشف أن الأنواع الثلاثة المحددة لها خصائص مثيرة للاهتمام كعوامل محتملة للمكافحة البيولوجية. وتبرز دورها في تحسين إنتاجية المحاصيل على نحو مستدام

كلمات مفتاحية: التوصيف المجهرية، مكافحة حيوية، خصم، تحليل جزيئي، تريكوديرما.

Année universitaire : 2022/2023

Présenté par : Boussehal Maroua et Mekti Layel inès

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en Biologie et Physiologie
de la Reproduction dans le cadre de l'arrêté 1275**

**Thème : Caractérisation et évaluation du potentiel
Biocontrôle d'une collection de *Trichoderma*
issus d'un écosystème forestier**

Résumé :

Ce mémoire approfondit l'exploration du potentiel prometteur de *Trichoderma* et de son impact dans diverses disciplines. Les recherches en cours mettent en évidence l'importance des microorganismes bénéfiques, notamment *Trichoderma*, pour la santé des plantes et leur productivité. Les caractérisations phénotypiques détaillées permettent d'identifier une grande variabilité des colonies de *Trichoderma* principalement selon la vitesse de croissance, aspect de la culture et la couleur. L'observation microscopique et les analyses moléculaires complémentaires nous ont permis d'identifier trois espèces distinctes de *Trichoderma* : *T. afroharzianum*, *T. longibrachiatum* et *T. harzianum*. Enfin, nos tests d'activité antifongique *in vitro* sur les pathogènes *Verticillium sp.* et *Alternaria sp.* Révèlent que les trois espèces identifiées présentent des caractéristiques intéressantes en tant qu'agents potentiels de lutte biologique. et souligne son rôle dans l'amélioration durable de la productivité des cultures.

Mots clés : *Trichoderma* ; Caractérisation morphologique ; lutte biologique ; antagoniste ; analyse moléculaire.

Juré d'évaluation :

Président du jury : CHAIB Ghania (Pr – UFM1 Constantine)

Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (MRB - INRAA Constantine)

Co-Encadrant : Dr. BOUDCHICHA Rima - Hinde (MRB - CRBt Constantine)

Examineur : Dr. ABDELAZIZ Ouidad (MCB – UFM1 Constantine)

Maison de l'entrepreneuriat : BENSOUICI Aicha (Pr _ UFM1 Constantine)

Secteur Socioéconomique : BOUBENDIR Hichem (Catalyse Lab)

Année universitaire : 2022 - 2023



Guide du projet

**Pour obtenir un diplôme/startup
Dans le cadre de l'Arrêté Ministériel 1275**

**Décembre
2022**





Carte d'information

À propos de l'équipe d'encadrement du groupe de travail



1- Équipe d'encadrement :

Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (MRB - INRAA Constantine)



Équipe de projet (à titre indicatif)	Faculté	Spécialité	
Étudiant 01 : Boussehal Maroua	Biologie et Ecologie Végétale	Biologie et Physiologie de la Reproduction Végétale	
Étudiant 02 : Mekti Ines Layal	Biologie et Ecologie Végétale	Biologie et Physiologie de la Reproduction Végétale	





Index

Contenu





Table des matières



<u>Premier ax :Présentation du projet</u>	<u>1</u>
1. L'idée de projet (la solution proposée)	2
2. Les Valeurs suggérées.....	2
3. L'équipe.....	3
4. Les Objectifs du projet.....	4
5. Le planning de réalisation du projet.....	4
<u>Deuxième axe : Aspects innovants</u>	<u>5</u>
1. La nature des innovations.....	6
2. Les domaines d'innovation.....	6
<u>Troisième axe : Analyse stratégique du marché</u>	<u>7</u>
1. Le segment du marché.....	8
2. La mesure de l'intensité de la concurrence.....	8
3. La stratégie marketing	9
<u>Quatrième axe : Plan de production et organisation.....</u>	<u>10</u>
1. Le processus de production.....	11
2. L'approvisionnement.....	12
3. La main d'œuvre.....	12
4. Les principaux partenaires.....	12





Introduction

Afin de permettre aux étudiants porteurs de projets innovants d'élaborer leur travail, et afin de faciliter la conception et la rédaction de leurs brevets et de leur permettre de passer de la simple idée à une invention intégrale complète avec des détails et des informations qui clarifient les aspects innovants du projet, son attractivité et l'intégrité de la séquence logique des idées, **la commission nationale de coordination, de suivi de l'innovation et des incubateurs universitaires** élabore ce document qui sert de guide à l'étudiant pour rédiger son mémoire conformément au dispositif de l'arrêté ministériel n° 1275 Diplôme – Startup.

Les présentations et explications nécessaires du guide sont illustrées à travers un exemple très simple afin de faciliter la compréhension des différentes étapes. Cet exemple est lié à un projet de production de jus naturel à partir de fruits qui n'ont pas été soumis à des pesticides ou à des engrais chimiques.





Le premier axe Présentation Du projet





Premier axe

Présentation du projet

1. L'idée de projet (solution proposée)

L'idée du projet a émergé à la suite d'une étude récente réalisée en 2019 en Algérie, qui a révélé une utilisation préoccupante de pesticides chimiques dans l'agriculture. Les résultats de cette étude ont démontré que les quantités de pesticides utilisées dépassaient largement les limites recommandées par les normes internationales.

Cette utilisation excessive de pesticides entraîne une contamination des sols, de l'eau et des aliments, avec des conséquences néfastes sur la santé humaine et l'écosystème. Pour remédier à cette situation, il est essentiel de mettre en place des pratiques agricoles durables qui réduisent la dépendance aux pesticides et préservent la santé et l'environnement.

Dans ce contexte, différentes technologies sont utilisées, notamment l'utilisation de microorganismes spécifiques, pour la production de biopesticides. Ces approches sont mises en œuvre par une équipe pluridisciplinaire dans notre laboratoire spécialisé, afin de promouvoir des pratiques agricoles durables, d'améliorer la sécurité alimentaire et de répondre aux attentes des consommateurs.

2. Les valeurs proposées :

- **Contrôle biologique des maladies :** Le biopesticide à base de *Trichoderma* offre une méthode de lutte biologique efficace contre les maladies des plantes. Les souches de *Trichoderma* ont la capacité de coloniser les racines des plantes et de produire des enzymes antifongiques qui inhibent la croissance des pathogènes, réduisant ainsi l'incidence des maladies.
- **Résilience des cultures :** L'utilisation de biopesticides à base de *Trichoderma* renforce la résilience des cultures en améliorant leur système de défense naturelle. Les interactions bénéfiques entre *Trichoderma* et les plantes stimulent la croissance des racines, augmentent la tolérance au stress environnemental et favorisent une meilleure absorption des nutriments.
- **Contribution à la durabilité environnementale et préservation de la biodiversité :** Les biopesticides à base de *Trichoderma* sont des alternatives respectueuses de l'environnement aux pesticides chimiques. Ils sont biodégradables, n'accumulent pas de résidus toxiques dans l'environnement et préservent la biodiversité en ciblant spécifiquement les pathogènes des plantes sans nuire aux autres organismes.





- Sécurité alimentaire : L'utilisation de biopesticides à base de *Trichoderma* contribue à garantir la sécurité alimentaire en réduisant la dépendance aux pesticides chimiques. Ces produits offrent une solution durable pour contrôler les maladies des cultures, minimisant ainsi les risques de contamination des aliments par des résidus chimiques.
- Réduction des impacts sur la santé humaine : Les biopesticides à base de *Trichoderma* sont considérés comme sûrs pour les travailleurs agricoles et les consommateurs, car ils ne présentent pas de risques toxiques significatifs pour la santé humaine. Ils permettent de réduire l'exposition aux pesticides chimiques potentiellement dangereux.
- Conformité des normes légales : Les biopesticides à base de *Trichoderma* répondent aux exigences légales et réglementaires en matière de sécurité et de qualité des produits phytosanitaires. Ils offrent une solution conforme aux normes de protection des cultures et de l'environnement.
- Partenariat et Collaboration stratégiques avec les acteurs de l'industrie : La production et l'utilisation de biopesticides à base de *Trichoderma* nécessitent une collaboration étroite avec les acteurs de l'industrie agricole, tels que les producteurs, les distributeurs et les conseillers agricoles. Cette collaboration stratégique favorise l'adoption et la mise en œuvre efficace de ces solutions biopesticides.
- Diminution de l'importation des produits chimiques : En développant la production de biopesticides à base de *Trichoderma* localement, on réduit la dépendance à l'importation de pesticides chimiques. Cela favorise l'autonomie des agriculteurs et contribue à la réduction des coûts liés à l'utilisation de produits chimiques importés.
- L'exportation des produits biopesticides à base de *Trichoderma* permet aux entreprises de participer au commerce mondial des produits agricoles. Cette activité contribue non seulement à la croissance économique de l'entreprise, mais aussi à la diffusion des pratiques agricoles durables dans d'autres pays, favorisant ainsi la protection de l'environnement à l'échelle mondiale.
- Création d'emplois : Le développement et la production de biopesticides à base de *Trichoderma* nécessitent une main-d'œuvre spécialisée. Cela entraîne la création





d'emplois dans le secteur de la recherche scientifique, de la production, de la distribution et de la promotion de ces produits, contribuant ainsi à la croissance économique et à l'emploi local.

3. Équipe de travail :

L'équipe du projet est composée des membres suivants :

Le Dr Wahiba Harrat, spécialiste en sciences agronomiques, ma collègue et moi-même, avec nos diplômes en biologie végétale, travaillons en collaboration au sein d'une équipe pluridisciplinaire regroupant des experts dotés de compétences spécifiques. Cette équipe est composée de chercheurs et de professionnels issus de divers domaines tels

- Agronomes : Ils apportent leur expertise sur les pratiques agricoles, les besoins des cultures cibles et les méthodes d'application des biopesticides.
- Microbiologistes : Ils étudient les interactions entre les microorganismes, y compris *Trichoderma*, et les pathogènes des plantes. Ils contribuent à la sélection des souches les plus efficaces pour la lutte biologique.
- Chercheurs en biotechnologie : Ils sont responsables de la recherche et du développement de nouvelles souches de *Trichoderma* et de l'optimisation des processus de production.
- Techniciens de laboratoire : Ils sont chargés de la culture et de l'entretien des souches de *Trichoderma*, de la préparation des formulations de biopesticides et de la réalisation des tests de qualité.
- Responsable des essais sur le terrain : Ce membre de l'équipe est responsable de la planification et de la réalisation des essais sur le terrain pour évaluer l'efficacité des biopesticides. Il collecte les données, analyse les résultats et fournit des informations précieuses pour l'amélioration continue des produits.
- Responsable des affaires réglementaires : Cette personne se charge de la gestion des dossiers réglementaires nécessaires à l'enregistrement et à l'autorisation des biopesticides.
- Personnel de soutien administratif : Ils gèrent les tâches administratives telles que la gestion des documents, la comptabilité et la coordination des activités de l'équipe.
- Experts en commercialisation : Ils élaborent des stratégies de commercialisation des biopesticides, identifient les marchés cibles et établissent des partenariats avec les distributeurs et les agriculteurs.





- **Spécialiste en emballage et logistique :** Cette personne est responsable de la conception des emballages appropriés pour les biopesticides, garantissant leur sécurité et leur facilité d'utilisation. Elle coordonne également la logistique liée à l'expédition et à la distribution des produits finis.

4. Objectifs du projet :

3

En produisant des biopesticides sur le marché agricole algérien, l'objectif principal est de répondre aux défis de l'agriculture moderne en réduisant l'utilisation de pesticides chimiques. Les biopesticides offrent une alternative plus sûre et plus respectueuse de l'environnement pour lutter contre les ravageurs et les maladies des cultures. Parallèlement, l'ambition est de positionner les producteurs de biopesticides en Algérie sur le marché international et de concurrencer d'autres entreprises spécialisées dans ce domaine. Cette démarche a pour but de promouvoir l'exportation des produits algériens et d'accroître leur visibilité et leur réputation à l'échelle mondiale ; En combinant ces deux objectifs, l'Algérie aspire à contribuer à la construction d'une agriculture durable et respectueuse de l'écosystème, tant au niveau national qu'international.

5. Calendrier de réalisation du projet :

			Mois ou semaines							
			1	2	3	4	5	6	7	
TRAVAUX	1		Études préalables : choix de l'implantation de l'unité de production, préparation des documents nécessaires					✓		
	2		Commande des équipements							✓
	3		Construction d'un siège de production (usine)							✓
	...		Installation des équipements			✓				
	n		Achat de matières premières							
	...		Réalisation du prototype							✓ ✓





Deuxième axe : Aspects innovants

Nature des innovations : L'innovation dans la fabrication d'un biopesticide réside dans plusieurs aspects clés.

L'innovation dans la fabrication d'un biopesticide réside dans la sélection d'agents biologiques spécifiques qui sont efficaces contre les organismes nuisibles ciblés. L'objectif est de trouver des agents qui sont à la fois efficaces contre les nuisibles et sans effets néfastes sur les organismes bénéfiques et l'environnement. Cela nécessite des recherches approfondies, des essais sur le terrain et des études de sécurité pour évaluer l'efficacité et la sécurité des agents biologiques.

D'autre part, L'innovation dans la fabrication de biopesticides repose sur la recherche continue et l'utilisation de techniques de biotechnologie et de génie génétique. Ces approches améliorent l'efficacité et la durabilité des produits en optimisant les formulations et en modifiant génétiquement les agents biologiques. Les biopesticides ainsi développés sont plus efficaces contre les organismes nuisibles, persistent mieux sur les plantes et sont plus résistants aux conditions défavorables. Cette innovation contribue à une lutte plus efficace contre les ravageurs agricoles.

Un autre aspect de l'innovation concerne les méthodes d'application du biopesticide. Il est important de développer des techniques d'application précises et ciblées pour maximiser l'efficacité du produit tout en minimisant son impact sur l'environnement et les organismes non ciblés. Cela peut inclure l'utilisation de drones, de pulvérisateurs à bas volume ou d'autres technologies de pointe.

La production d'un biopesticide à base de *Trichoderma* représente une innovation significative sur le marché agricole. En proposant cette solution, les agriculteurs peuvent bénéficier d'une méthode de lutte contre les ravageurs qui est à la fois respectueuse de l'environnement et qui réduit leur dépendance aux pesticides chimiques. Cette avancée ouvre de nouvelles opportunités commerciales pour les entreprises spécialisées dans le développement et la commercialisation de ces produits. De plus, en offrant une alternative efficace et respectueuse de l'environnement, ce biopesticide permet aux agriculteurs de protéger leurs cultures des ravageurs tout en répondant aux exigences croissantes en matière de durabilité et de sécurité alimentaire.





2 Domaines d'innovation :

La nature des innovations adoptées dans le projet doit être précisée selon les propositions données dans le schéma suivant :

Lorsqu'il s'agit du développement d'un biopesticide à base de *Trichoderma*, l'innovation peut englober plusieurs domaines importants. Cela peut inclure :

- Nouveaux processus : La recherche et le développement de méthodes améliorées pour la production, la formulation et l'application du biopesticide, afin d'augmenter son efficacité et son rendement.
- Nouveaux clients : L'identification de nouveaux segments de clientèle et la proposition du biopesticide comme une solution alternative aux pesticides chimiques, attirant ainsi de nouveaux utilisateurs et élargissant la base de clients potentiels.
- Nouvelles offres : Le biopesticide à base de *Trichoderma* offre de nouvelles offres intéressantes pour l'agriculture. Il assure une protection efficace contre les ravageurs tout en étant sélectif et sans danger pour l'environnement. De plus, il améliore la santé des plantes, est durable et résiste aux conditions difficiles. Certifié biologique, il répond à la demande croissante de produits durables.
- Communication et sensibilisation : L'innovation dans la communication et la sensibilisation est essentielle pour informer les agriculteurs et les parties prenantes sur les avantages du biopesticide à base de *Trichoderma* par rapport aux pesticides chimiques. Des campagnes de communication ciblées peuvent aider à dissiper les préjugés et à encourager l'acceptation de cette nouvelle approche de lutte contre les ravageurs.
- Nouvelles offres : Cela peut inclure des formulations spécifiques pour cibler certains ravageurs ou des produits complémentaires qui améliorent l'efficacité du biopesticide. Par exemple, des produits combinés de *Trichoderma* et d'autres microorganismes bénéfiques peuvent être développés pour offrir une protection plus large.





Troisième axe

Analyse stratégique du marché



1. Le segment du marché

Le marché agricole en Algérie est caractérisé par sa diversité et son ampleur. Les différents acteurs qui y participent comprennent les agriculteurs, les producteurs, les transformateurs, les grossistes, les détaillants, les exportateurs, les importateurs, ainsi que les consommateurs.

L'agriculture joue un rôle crucial dans l'économie de l'Algérie, et elle est devenue une priorité pour le gouvernement qui met en place des politiques visant à promouvoir la production locale, à améliorer la productivité agricole et à réduire la dépendance aux importations

Cependant, le marché agricole en Algérie est confronté à plusieurs défis, notamment ceux liés aux maladies qui affectent les cultures. Pour faire face à ces défis, des stratégies de prévention et de gestion des maladies sont mises en œuvre. Cela comprend l'utilisation de techniques de lutte biologique, telles que l'introduction d'organismes bénéfiques pour contrôler les maladies, ainsi que l'application de produits biologiques pour promouvoir des pratiques agricoles durables. Cette approche vise à réduire la dépendance aux pesticides chimiques, à préserver la santé des écosystèmes agricoles et à garantir la sécurité alimentaire de la population.

2. Mesure de l'intensité de la concurrence

La concurrence sur le marché agricole en Algérie est dynamique et fluctue en fonction des produits spécifiques et des régions agricoles du pays. Les concurrents les plus importants sont les entreprises nationales telles qu'AlgériaBio et AgriBioTech, qui se concentrent sur la production de biopesticides et la promotion de l'agriculture durable. Cependant, le paysage concurrentiel évolue en permanence avec de nouvelles entreprises qui émergent pour saisir de nouvelles opportunités, tandis que d'autres cessent leurs activités en réponse aux conditions du marché agricole algérien.

En outre, des entreprises étrangères spécialisées dans la production de biopesticides cherchent également à pénétrer le marché algérien, apportant leur expertise et leurs technologies avancées pour se positionner comme des concurrents compétitifs. Cela ajoute une dimension internationale à la concurrence sur le marché agricole en Algérie.

Les producteurs de pesticides chimiques conservent une part importante du marché, car certains agriculteurs préfèrent utiliser ces produits en raison de leur coût inférieur ou de leur disponibilité. Cependant, les entreprises nationales de la production de biopesticides cherchent à convaincre les agriculteurs des avantages des solutions alternatives et à promouvoir l'adoption de pratiques agricoles plus durables.





Dans l'ensemble, le marché agricole en Algérie est soumis à des changements constants, avec de nouvelles entreprises émergentes et d'autres qui peuvent cesser leurs activités. Il est essentiel pour les acteurs du marché de rester compétitifs en suivant les tendances, en proposant des solutions innovantes et en s'adaptant aux besoins changeants des agriculteurs et du secteur agricole algérien.

2. La stratégie marketing

Dans le cadre de notre étude sur la commercialisation potentielle d'un biopesticide, nous avons élaboré différentes stratégies pour promouvoir et commercialiser le produit sur le marché. Nous envisageons de participer à des salons, des foires agricoles et des conférences spécialisées dans le domaine agricole afin de sensibiliser les agriculteurs et de présenter notre produit. Ces événements nous offriront également l'opportunité de nouer des contacts précieux avec les acteurs de l'industrie.

Pour maximiser notre visibilité et atteindre un public plus large, nous prévoyons d'utiliser les réseaux sociaux comme un outil de communication et de commercialisation. Nous développerons du contenu informatif et engageant pour promouvoir notre biopesticide et interagir avec notre public cible. Nous explorerons également les opportunités de publicité en ligne, notamment les bannières publicitaires, les annonces payantes sur les moteurs de recherche et les publicités vidéo.

Afin de renforcer notre position sur le marché, nous chercherons à établir des partenariats stratégiques avec des organisations agricoles, des instituts de recherche et des universités. Ces collaborations nous permettront de bénéficier de leur expertise, de participer à des projets de recherche et de développement conjoints, et de tirer parti de leur réseau d'agriculteurs et de professionnels de l'agriculture.

Nous reconnaissons également l'importance de la formation dans le domaine des biopesticides. Nous prévoyons donc de proposer des programmes de formation adaptés aux agriculteurs et aux professionnels du secteur agricole. Ces formations viseront à les sensibiliser aux avantages des biopesticides, à les former à leur utilisation appropriée et à les accompagner dans l'optimisation des résultats de leurs cultures.

En ce qui concerne la commercialisation, nous adopterons une stratégie de tarification compétitive grâce à un contrôle rigoureux des coûts. Nous investirons dans les technologies les plus avancées pour optimiser notre processus de production et garantir la qualité supérieure de notre biopesticide. De plus, nous développerons une plateforme numérique pour faciliter la distribution de notre produit et gérer efficacement les commandes, offrant ainsi une expérience client fluide et efficace.

En mettant en œuvre ces différentes stratégies, nous espérons promouvoir activement notre biopesticide sur le marché, susciter une demande croissante et développer notre part de marché. Notre engagement envers l'innovation, la qualité et la satisfaction client nous positionne comme une entreprise prometteuse dans le secteur des biopesticides.





Quatrième axe :

Plan de production et d'organisation



1. Le Processus de production

2.

Le processus de production de biopesticide à base de *Trichoderma* implique plusieurs étapes clés pour garantir la qualité et l'efficacité du produit final. Voici les grandes étapes du processus :

1. Isolation et sélection des souches de *Trichoderma* : Les souches de *Trichoderma* sont isolées à partir de sources naturelles, telles que le sol, les plantes ou les débris végétaux en décomposition. Ces souches sont ensuite sélectionnées en fonction de leurs propriétés antifongiques et de leur capacité à favoriser la croissance des plantes.
2. Achat de matières premières : Des matières premières de haute qualité sont acquises, notamment des substrats organiques spécifiques et des souches de *Trichoderma* sélectionnées. Ces matières premières sont choisies en fonction de leur compatibilité avec les conditions agricoles locales et de leur capacité à stimuler la croissance du *Trichoderma*.
3. Culture en laboratoire : Les souches de *Trichoderma* sont cultivées en laboratoire sur les substrats appropriés, dans des conditions optimales pour favoriser la croissance et la multiplication du *Trichoderma*.
4. Chaîne de production : Fermentation, Extraction, Purification et Formulation des produits finis : Une fois le *Trichoderma* cultivé en laboratoire, il est transféré dans des fermenteurs pour permettre une culture à grande échelle. Cette étape de fermentation permet d'obtenir une biomasse de *Trichoderma* en quantité suffisante pour la production du biopesticide. Ensuite, le *Trichoderma* est extrait du milieu de culture et subit une étape de purification afin d'éliminer les impuretés présentes. Différentes techniques d'extraction et de purification sont utilisées pour obtenir une préparation pure de *Trichoderma*. Enfin, le *Trichoderma* purifié est formulé avec d'autres ingrédients et adjuvants appropriés pour créer des produits finis prêts à être utilisés comme biopesticides. Cette formulation permet d'optimiser l'efficacité du *Trichoderma* et d'assurer une application facile et précise sur les cultures.
5. Contrôle de la qualité : Tout au long du processus de production, des tests de qualité sont effectués pour vérifier la viabilité du *Trichoderma*, la concentration des spores, l'absence de contaminants et la stabilité du produit formulé. Des normes strictes de contrôle de la qualité sont suivies pour garantir la conformité aux normes réglementaires et assurer l'efficacité du biopesticide.





6. Conditionnement et distribution : Le produit peut être formulé sous forme de poudre, de liquide ou même de gélules, offrant ainsi une flexibilité d'utilisation et de stockage. L'emballage est soigneusement conçu pour garantir la conservation et la stabilité du produit, en utilisant des matériaux appropriés qui préservent son efficacité et sa qualité. Des options telles que des sachets hermétiques, des flacons ou des boîtes sont utilisées pour répondre aux exigences spécifiques du marché et faciliter son transport, son entreposage et son utilisation par les agriculteurs. Ils sont ensuite distribués sur le marché agricole, prêts à être utilisés par les agriculteurs.

2. L'Approvisionnement

Dans le cadre de la production de biopesticide à base de *Trichoderma*, plusieurs aspects liés à la politique d'achat doivent être pris en compte :

- Sélection des fournisseurs : Il est essentiel de trouver et de sélectionner des fournisseurs de confiance et de qualité pour les matières premières nécessaires à la production du biopesticide
- Détermination de la politique d'achat des matières premières : Il est essentiel de définir une politique d'achat claire pour les matières premières nécessaires à la production du biopesticide. Cela inclut l'identification des matières premières de haute qualité et leur approvisionnement régulier pour assurer la continuité de la production.
- Négociation des conditions d'achat : La politique d'achat doit également inclure la négociation des conditions d'achat, telles que les prix, les délais de paiement, les quantités minimales et les délais de livraison.
- Conformité réglementaire : Il est important de s'assurer que les fournisseurs et les matières premières utilisés dans la production du biopesticide sont conformes aux réglementations en vigueur. Cela peut inclure des certifications spécifiques, des normes de sécurité et des exigences environnementales.

3. La main d'œuvre

Notre société débutante, spécialisée dans le développement d'un biopesticide à base de *Trichoderma*, est une source prometteuse d'emplois dans le secteur agricole. Nous prévoyons de créer environ 20 emplois directs, couvrant divers domaines tels que la production, la recherche et le développement, la gestion de la qualité et la commercialisation du biopesticide. De plus, notre activité générera près de 40 emplois indirects dans des secteurs tels que la logistique, la distribution et le support technique.

4. Les Principaux partenaires





Les partenaires clés peuvent contribuer au succès du projet de production de biopesticide à base de *Trichoderma* en apportant leur expertise, leur soutien financier, leurs conseils techniques et leur réseau de contacts.

- L'incubateur : joue un rôle important dans le développement et la mise en œuvre du projet. Il fournit un soutien financier, des conseils en matière de gestion et d'entrepreneuriat, ainsi qu'un accès à des infrastructures de recherche et de développement.
- Les agences de réglementation : Les agences de réglementation sont responsables de l'approbation et de la réglementation des produits agrochimiques, y compris les biopesticides. Elles jouent un rôle essentiel dans l'évaluation de la sécurité et de l'efficacité des produits, ainsi que dans l'octroi des autorisations de mise sur le marché.
- Les conseillers agricoles : sont des professionnels qui fournissent des conseils techniques aux agriculteurs. Ils peuvent jouer un rôle clé dans la promotion et l'adoption des biopesticides à base de *Trichoderma*, en sensibilisant les agriculteurs à leurs avantages et en leur fournissant des recommandations spécifiques.
- Les organisations environnementales : Elles peuvent soutenir et promouvoir l'utilisation de biopesticides à base de *Trichoderma* en raison de leur faible impact sur l'environnement et leur contribution à la préservation de la biodiversité.
- Les chercheurs et les scientifiques : Les chercheurs et les scientifiques sont essentiels pour mener des études et des recherches sur l'efficacité, la sécurité et l'application des biopesticides à base de *Trichoderma*. Leurs travaux permettent de développer de nouvelles connaissances, d'améliorer les techniques de production et de formuler des recommandations basées sur des preuves scientifiques.





Guide du projet

**Pour obtenir un diplôme/startup
Dans le cadre de l'Arrêté Ministériel 1275**

**Décembre
2022**





ALGERIE
CNC SIU



MHESR



ALGERIE

