



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique Et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : الميكروبيولوجيا

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Évaluation *in vitro* du potentiel antagoniste de *Trichoderma* spp. Contre *Botrytis cinerea* : une approche de biocontrôle appliquée à la pourriture grise de la fève (*Vicia faba*)

Présenté par : Boulacheb Chahinez

Le : 22 / 06 /2025

Bouziane Manel

Zaamouchi Douaa

Jury d'évaluation :

**Présidente :** Dr BENSERRADJ Wafa (M.C.A - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Encadrant :** Dr BOUANAKA Hamza (M.C.B - U Constantine 1 Frères Mentouri).

**Co-encadrante :** Dr HARRAT Wahiba (M.R.B- INRA de Constantine).

**Examinatrice :** Dr ZAAMOUCI Ahlem (M.C.B - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire

2024 - 2025



# *Remerciement*

*Avant tout, nous rendons grâce à Allah, Le Très-Haut, Le Tout-Puissant, pour Sa miséricorde infinie et Ses bienfaits innombrables. C'est par Sa volonté et Sa lumière que nous avons trouvé la force, la patience et la persévérance pour mener à bien ce travail.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à nos parents chers, pour leur amour, leur patience et leur soutien indéfectible tout au long de notre parcours.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur Bouanaka Hamza, notre directeur de mémoire, pour la qualité de son encadrement, son engagement, ses conseils et ses orientations tout au long de ce travail.*

*Nous remercions également Madame Harrat Wahiba, notre co-encadrante, ainsi que l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA – Constantine), pour leur accueil chaleureux et leur collaboration bienveillante.*

*Nous exprimons aussi notre gratitude aux membres du jury pour le temps qu'ils ont accordé à l'évaluation de notre mémoire, ainsi que pour leurs remarques pertinentes et enrichissantes.*

*Et en toute simplicité, un mot de remerciement à nos enseignants du primaire au secondaire, en reconnaissance de leurs efforts dans l'enseignement et l'orientation.*

*Enfin, une pensée douce mais sincère pour nous-mêmes — pour avoir tenu bon, malgré les doutes et les nuits blanches. Parfois, le courage réside simplement dans le fait de continuer.*



# إهداء

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات، وبفضله يُدرك الحلم بعد طول السعي، والحمد لله الذي بنوره اهتدينا، وبفضله  
انجزنا وبكرمه تحقق الأمل بعد السعي والصبر، فلك الحمد والشكر يا رب، ملء السماوات والأرض.

إلى نفسي إلى روعي التي تعبت وصبرت

أهديك هذا العمل اعترافاً بجهدك وصبرك وأملك، أهديك ثمرة تعبٍ طويل، آمنتِ رغم كل شيء... فكان الوصول أجمل مما  
تمنيتِ

أهدي تخرجي ونجاحي إلى والدي الغاليين

إلى أبي العزيز... خطاك الصامته كانت ترسم لي الطريق، وقلبك الهادي كان درعاً لكل خوفي، شكراً لأنك دائماً سند لا يلين  
إلى أمي الحبيبة... يا نبع الحنان ورفيقة الروح، أنتِ الدفء الذي لا يشيخ والدعوة التي تمشي أمامي حتى دون أن أعلم،  
كل حرف في هذه المذكرة يحمل دعاء كنت ترددينه لي بصمت.

شكراً لكما وجزاكما الله عني كل خير، وبارك الله لي فيكما دائماً.

إلى أخي الوحيد... شكراً لوجودك الدائم ولسندك الصامت الذي كان يعني لي الكثير.

إلى رفيقات الدرب، شريكات الجهد والتجربة كنتن خير العون في رحلة البحث وأثراً جميلاً لا ينسى، شكراً لأرواحكن  
النقية وتعاونكن الذي صنع الفارق.

شكراً إلى كل من كان سبباً في أن أصل إلى هذه اللحظة... لكم جميعاً أهدي هذا العمل بكل حب وامتنان.

الطالبة شهيناز بولعشب



# إهداء

الحمد لله حتى يبلغ الحمد منتهاه، تحقق الحلم بعد صبر وسعي، فلك يا الله الحمد والثناء كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك، حمداً يليق بجلالك وعزتك

انتهت الرحلة... ولم تكن سهلة وليس من المفترض ان تكون كذلك... ومهما طالت ستمضي بحلوها ومرها وها انا الان بعون الله تعالى اتمم هذا العمل

اهدي تخرجي الى من رباني وكافح من أجلي... الى من احمل اسمه بكل افتخار الى من امن بي وكان الناصح الدائم لي والدي العزيز

الى قدوتي الاولى ومعنى الحب والتفاني... الى بسمه الحياة وسر الوجود الى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي... امي الغالية

إلى إختوتي، رفاق الحياة والقلب، على محبتهم، وروحهم المرحه، ودعمهم الثمين، حتى في لحظات الصمت

إلى عائلتي بأكملها، على دعمهم، وتشجيعهم، وحضورهم الذي كان دائماً مصدر طمأنينة لي طوال مسيرتي

إلى زميلاتي في هذا الطريق، اللواتي شاركت معهن ليالي السهر، ولحظات الضحك، وأوقات التوتر، وكذلك لحظات النجاح الكبيرة. شكراً لكن على هذه المغامرة الإنسانية والأكاديمية الرائعة التي عشناها معاً

أهدي هذا البحث إليكم جميعاً، أنتم من دعمتموني، ووقفتم بجانبي، وأحببتموني دون شروط. بدونكم، لما كان أي من هذا ممكناً

الطالبة منال بوزيان



# إهداء

ماسلكنا البدايات الا بتيسيره ، و ما بلغنا النهايات الا بتوفيقه ، و ما حققنا الغايات الا بفضلته ، فالحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

اهدي تخرجي الى

نفسى الطموحة ، كم جاهدنا للوصول الى هذه اللحظة

والذي الذي غادر سريعا قبل هذا اليوم ، لقد اجتزت مرحلة الجامعة و بتفوق و فخر كما اردت لي ، كم تمنيت ان تحمل بين يديك شهادة تخرجي

امي العزيزة لولا دعائك لما كنت اقف اليوم هنا ، الداعم الاول في كل خطوة

اخوتي "يونس" ، "يحي" و "زكرياء" الضلع الثابت و السند الذي لايميل

الى عائلتي اللذين تمنوا رؤيتي في هذا المكان

الى زميلتي في الانجاز منال و شهيناز

ها انا اليوم اكملت مسيرتي الدراسية بفضلته تعالى فالحمد لله شكرا و حبا و امتنانا على البدء و الختام ، و آخر دعواهم ان الحمد لله رب العالمين

الطالبة دعاء زعموشي



# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction générale..... 2

Synthèse bibliographique ..... 1

## Chapitre 1 : La fève (*Vicia faba*)

1. Introduction ..... 6

2. Origine et Distribution géographiques..... 6

3. Description de la plante ..... 6

5. Rôle agronomique et intérêt écologique de *Vicia faba* L dans les systèmes de culture.. 8

6. Les maladies fongiques affectant la fève ..... 9

6.1. Les taches chocolat ..... 9

6.2. L'ascochytose ..... 10

6.3. La rouille *Uromyces fabae* ..... 11

## Chapitre 2 : *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise

1. Introduction à *Botrytis cinerea* ..... 14

1.1. Présentation..... 14

1.2. Position systématique de *Botrytis cinerea* ..... 15

1.3. Impact économique de *Botrytis cinerea* ..... 16

2. Cycle de vie et modes d'infection ..... 17

3. Facteurs favorisant le développement de *Botrytis cinerea* ..... 19

3.1. Conditions environnementales ..... 19

3.2. Besoins nutritifs ..... 19

3.3. État de la plante ..... 19

4. Symptômes et dommages causés par *Botrytis cinerea* ..... 20

4.1. Les symptômes généraux ..... 20

4.2. Symptômes spécifiques sur la fève ..... 20

5. Stratégies de lutte contre <i>Botrytis cinerea</i> .....	22
5.1. Lutte chimique .....	22
5.2. Mesures prophylactiques .....	22
5.3. Lutte biologique .....	23
5.3.1. Utilisation de micro-organismes .....	23
5.3.2. Utilisation de substances organiques et minérales .....	23
5.3.3. Utilisation d'extraits de plantes .....	23

### Chapitre 3 : *Trichoderma*, potentiel en lutte biologique

1. Introduction à <i>Trichoderma</i> .....	25
2. Taxinomie de <i>Trichoderma</i> .....	26
3. <i>Trichoderma</i> comme agent antagoniste potentiel .....	27
4. Application <i>Trichoderma</i> dans la lutte contre les maladies fongiques des plantes.....	28
5. Résistance au stockage et technologie de traitement des produits à base de <i>Trichoderma</i> .....	29
6. Mécanisme du microbiome endophyte induit par <i>Trichoderma</i> qui stimule de manière synergique la réponse immunitaire des plantes.....	30
6.1. Rôle compétitif de <i>Trichoderma</i> .....	30
6.2. Mycoparasitisme à <i>Trichoderma</i> .....	31
6.3. Effet antibiose de <i>Trichoderma</i> .....	32
6.4. Résistance systémique induite de <i>Trichoderma</i> .....	32
6.5. Stimulation de la croissance des plantes .....	33

### Chapitre 4 : Facteurs influençant l'efficacité de *Trichoderma* en lutte biologique contre *Botrytis cinerea*

1. L'efficacité de <i>Trichoderma</i> en lutte biologique contre <i>Botrytis cinerea</i> .....	35
1.1. Les conditions environnementales influençant <i>Trichoderma</i> .....	35
1.1.1. Température : Un Facteur Clé pour la Croissance .....	35
1.1.2. PH : Une Large Gamme de Tolérance .....	35
1.2. Les interactions avec d'autres microorganismes du sol .....	36
1.3. Les méthodes d'application de <i>Trichoderma</i> .....	37
1.3.1. Protection des plaies de taille .....	37
1.3.2. Incorporation au sol : optimisation de l'efficacité .....	37
1.4. Les études empiriques et résultats récents .....	38

### Matériels et méthodes

1. Choix du milieu de culture .....	41
-------------------------------------	----

1.1. Protocole de préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar)(voir l'annexe).	41
2. Matériel biologique .....	41
3. Autre matériel utilisé .....	41
4. Méthodes expérimentales .....	42
4.1. Réactivation des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	42
4.2. Évaluation de la pureté des isolats .....	42
4.3. Test d'antagonisme in vitro .....	43
4.3.1. Confrontation <i>Trichoderma</i> contre <i>Botrytis cinerea</i> .....	43
4.3.2. Témoin .....	44
4.4. Mesure de l'inhibition de la croissance mycélienne.....	44
4.5. Identification morphologique des souches .....	44
4.5.1. Préparation des lames.....	44
4.5.2. Observation microscopique.....	45
5. Analyse statistique.....	45

## Résultats et Discussion

Résultats .....	47
1. Caractérisation des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. Et <i>Botrytis cinerea</i> .....	47
1.1. Observation macroscopique des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	47
1.2. Observation microscopique des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. Et <i>Botrytis cinerea</i> ..	50
2. Confrontation <i>in vitro</i> entre <i>Trichoderma</i> spp. Et <i>Botrytis cinerea</i> .....	54
2.1. Dispositif expérimental.....	54
2.2. Évaluation de l'effet antagoniste .....	56
2.3. Mesure des zones d'inhibition .....	57
2.4. Analyse statistique et représentation graphique.....	58
Discussion .....	60
Conclusion .....	63
Annexe .....	64
Références bibliographiques .....	65

## Liste des abréviations

B : *Botrytis*

T : *Trichoderma*

Ph : Potentiel hydrogène.

INRAA : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie.

PDA : Potato Dextrose Agar.

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b> Les graines de la fève .....	6
<b>Figure 2 :</b> La plante de la fève ( <i>Vicia faba</i> ) .....	7
<b>Figure 3:</b> Symptômes de botrytis sur le feuillage de la féverole .....	10
<b>Figure 4 :</b> les symptômes de la maladie de L'ascochyose .....	11
<b>Figure 5 :</b> les symptômes de la maladie La rouille <i>Uromyces fabae</i> .....	12
<b>Figure 6:</b> Présentation de structures morphologiques de <i>B. cinerea</i> . ....	15
<b>Figure 7:</b> Photos d'infections causées par <i>B. cinerea</i> sur plusieurs hôtes.....	17
<b>Figure 8 :</b> Cycle de vie de <i>Botrytis cinerea</i> .....	18
<b>Figure 9 :</b> Symptomatologie de <i>Botrytis cinerea</i> . ....	21
<b>Figure 10 :</b> Exemple sur un aspect microscopique de <i>Trichoderma</i> spp. ....	26
<b>Figure 11 :</b> Diagramme schématisant le mécanisme d'action de <i>Trichoderma</i> dans le contrôle des maladies fongiques des plantes .....	30
<b>Figure 12 :</b> Test de confrontation direct <i>in vitro</i> sur milieu PDA .....	43
<b>Figure 13 :</b> Photographies des cultures macroscopiques des 40 isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu PDA en boîtes de pétri, illustrant la diversité morphologique des colonies (couleur, texture, bordures, zonations et exsudats) et leur regroupement en 10 catégories pour l'étude de confrontation avec <i>Botrytis cinerea</i> . .....	51
<b>Figure 14 :</b> photographies des observations microscopiques des souches [T1, T14, T20, T27( ×40)], [T23 (×40), T23 (×100)], [T30, T31, T36, T38(×40) ]de <i>Trichoderma</i> spp .....	53
<b>Figure 15 :</b> photographies des observations microscopiques de <i>Botrytis cinerea</i> (×100, ×40) .....	55
<b>Figure 16 :</b> Photographies des boîtes de pétri montrant la confrontation <i>in vitro</i> entre les isolats de <i>Trichoderma</i> spp. (regroupés en 10 catégories) et <i>Botrytis cinerea</i> sur milieu PDA, mettant en évidence les effets antagonistes tels que l'inhibition de croissance, le mycoparasitisme et les zones de contact. .....	56
<b>Figure 17:</b> un histogramme comparant les zones d'inhibition entre les différents groupes....	59
<b>Figure 18 :</b> le diagramme circulaire montrant la répartition des pourcentages d'inhibition. ..	59

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Mesures des zones d'inhibition (en cm) et pourcentage d'inhibition de <i>Botrytis cinerea</i> par différentes souches de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu PDA.....	588
--	-----

# Résumé

## Résumé

Ce mémoire porte sur l'étude de la lutte biologique *in vitro* de *Trichoderma* spp. Contre le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, avec un focus particulier sur la fève (*Vicia faba*). L'objectif principal est d'évaluer le potentiel des isolats de *Trichoderma* comme agents de biocontrôle face à la pourriture grise, une maladie causée par *B. cinerea*, en étudiant leur capacité à inhiber la croissance mycélienne du pathogène. Dans un premier temps, 40 isolats de *Trichoderma* spp. ont été sélectionnés et réactivés à partir de collections conservées. Chaque isolat a été évalué par la méthode de confrontation directe sur milieu PDA pour déterminer son activité antagoniste contre *B. cinerea*. Les résultats ont montré que plusieurs isolats de *Trichoderma*, notamment l'isolat T30, ont un effet inhibiteur significatif sur la croissance de *B. cinerea*, avec un pourcentage d'inhibition allant jusqu'à 79,31 %. Ce travail a également permis d'identifier la morphologie des souches de *Trichoderma* et d'évaluer leur pureté, en éliminant les isolats contaminés. Les résultats de cette étude montrent que *Trichoderma* spp. possède un fort potentiel en tant qu'agent de lutte biologique contre *Botrytis cinerea*, et pourraient constituer une alternative écologique aux traitements chimiques dans la gestion des maladies fongiques des cultures. Une analyse statistique des données a permis d'établir que les isolats les plus efficaces sont capables d'inhiber considérablement la croissance du pathogène, validant ainsi leur potentiel pour des applications futures en biocontrôle, notamment en agriculture durable. En conclusion, cette étude met en évidence l'importance de *Trichoderma* spp. dans la lutte biologique et suggère que son utilisation pourrait offrir des solutions viables pour la gestion des maladies fongiques comme la pourriture grise sur les fèves, contribuant à la réduction de l'utilisation des fongicides chimiques et à la promotion de pratiques agricoles plus durables.

Les mots clés : *Trichoderma* spp. ; *Botrytis cinerea* ; Lutte biologique ; *Vicia faba* ; Pourriture grise ; Biocontrôle.

## Résumé

This study investigates the *in vitro* biological control of *Botrytis cinerea*, a phytopathogenic fungus, using *Trichoderma* spp. With a particular focus on faba bean (*Vicia faba*). The main objective is to evaluate the potential of *Trichoderma* isolates as biocontrol agents against gray mold, a disease caused by *B. cinerea*, by studying their ability to inhibit the mycelial growth of the pathogen. Initially, 40 *Trichoderma* spp. Isolates were selected and reactivated from preserved collections. Each isolate was evaluated for its antagonistic activity against *B. cinerea* using the direct confrontation method on PDA medium. The results showed that several *Trichoderma* isolates, notably isolate T30, exhibited a significant inhibitory effect on the growth of *B. cinerea*, with a percentage of inhibition reaching up to 79.31%. This work also allowed for the identification of the morphology of the *Trichoderma* strains and the evaluation of their purity, eliminating contaminated isolates. The results of this study demonstrate that *Trichoderma* spp. Possesses strong potential as a biological control agent against *Botrytis cinerea* and could represent an ecological alternative to chemical treatments in the management of fungal diseases in crops. A statistical analysis of the data established that the most effective isolates are capable of significantly inhibiting the growth of the pathogen, thus validating their potential for future applications in biocontrol, particularly in sustainable agriculture. In conclusion, this study highlights the importance of *Trichoderma* spp. In biological control and suggests that its use could offer viable solutions for the management of fungal diseases such as gray mold on faba beans, contributing to the reduction of chemical fungicide use and the promotion of more sustainable agricultural practices.

Keywords: *Trichoderma* spp ; *Botrytis cinerea* ; Biological control; *Vicia faba*; ; Biocontrols ; Gray mold .

تتناول هذه الدراسة مكافحة البيولوجية في المختبر لفطر *Botrytis cinerea* الممرض للنبات باستخدام *Trichoderma spp.* مع التركيز بشكل خاص على الفول (*Vicia faba*) الهدف الرئيسي هو تقييم إمكانات عزلات *Trichoderma* كعوامل مكافحة بيولوجية ضد العفن الرمادي، وهو مرض يسببه *B. cinerea*، من خلال دراسة قدرتها على تثبيط النمو الفطري للممرض. في البداية، تم اختيار وتنشيط 40 عزلة من *Trichoderma spp.* من مجموعات محفوظة. تم تقييم كل عزلة بطريقة المواجهة المباشرة على وسط PDA لتحديد نشاطها المضاد ضد *B. cinerea*. أظهرت النتائج أن العديد من عزلات *Trichoderma*، ولا سيما العزلة T30، أظهرت تأثيرًا مثبطًا كبيرًا على نمو *B. cinerea*، حيث بلغت نسبة التثبيط ما يصل إلى 79.31%. سمح هذا العمل أيضًا بتحديد مورفولوجيا سلالات *Trichoderma* وتقييم نقاوتها، والقضاء على العزلات الملوثة. تُظهر نتائج هذه الدراسة أن *Trichoderma spp.* تمتلك إمكانات قوية كعامل مكافحة بيولوجية ضد *Botrytis cinerea* ويمكن أن تمثل بديلاً بيئيًا للمعاملات الكيميائية في إدارة الأمراض الفطرية في المحاصيل. أثبت تحليل إحصائي للبيانات أن العزلات الأكثر فعالية قادرة على تثبيط نمو الممرض بشكل كبير، مما يؤكد إمكاناتها للتطبيقات المستقبلية في مكافحة البيولوجية، وخاصة في الزراعة المستدامة. في الختام، تسلط هذه الدراسة الضوء على أهمية *Trichoderma spp.* في مكافحة البيولوجية وتشير إلى أن استخدامها يمكن أن يقدم حلولاً قابلة للتطبيق لإدارة الأمراض الفطرية مثل العفن الرمادي على الفول، مما يساهم في الحد من استخدام مبيدات الفطريات الكيميائية وتعزيز الممارسات الزراعية الأكثر استدامة.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma spp.* ; *Botrytis cinerea* ; مكافحة الحيوية ; *Vicia faba* ; التحكم البيولوجي ; العفن الرمادي .

# Introduction général

### Introduction générale

Les maladies fongiques, telles que la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea*, représentent une menace majeure pour l'agriculture mondiale, affectant diverses cultures, notamment les légumes, les fruits et les fleurs. Parmi ces cultures, *Vicia faba*, communément appelée fève, est une légumineuse largement cultivée pour sa valeur nutritionnelle et agronomique. Elle joue un rôle clé dans l'agriculture durable grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique et à améliorer la fertilité des sols (Jensen *et al*, 2010). Toutefois, cette culture est particulièrement vulnérable à *B. cinerea*, qui peut provoquer d'importantes pertes de rendement, notamment en conditions humides (Tivoli *et al*, 2006). La contamination peut toucher toutes les parties aériennes de la plante, y compris les fleurs, les gousses et les graines, compromettant ainsi la qualité et la quantité de la production.

*Botrytis cinerea* est l'un des agents pathogènes les plus étudiés en phytopathologie en raison de son impact économique considérable et de sa capacité à se développer dans des conditions environnementales variées. Ce champignon est particulièrement problématique en raison de sa résistance aux traitements chimiques conventionnels (Elad *et al*, 2016). Bien que les fongicides soient couramment utilisés pour contrôler la maladie, leur usage excessif entraîne des effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine, tout en favorisant l'émergence de souches résistantes (Bashi *et al*, 2019). Face à ces limites, la recherche d'alternatives durables, telles que le biocontrôle, devient une priorité.

Dans ce contexte, l'utilisation d'agents de biocontrôle, notamment *Trichoderma* spp. Représente une stratégie prometteuse pour la protection de la fève contre *B. cinerea*. *Trichoderma* spp est un genre de champignons saprophytes connus pour leurs capacités de biocontrôle contre de nombreux agents pathogènes fongiques (Harman *et al*, 2004). Ces champignons agissent par divers mécanismes, notamment la compétition pour les nutriments, la production de métabolites antifongiques et l'induction des mécanismes de défense des plantes (Brotman *et al*, 2013). De plus, ils produisent des enzymes hydrolytiques, telles que la cellulase et la chitinase, qui dégradent les parois cellulaires des pathogènes (Benítez *et al*, 2004). Bien que plusieurs études aient démontré l'efficacité de *Trichoderma* contre *B. cinerea* en conditions de terrain, les mécanismes d'interaction entre ces deux champignons en conditions contrôlées (*in vitro*) restent encore peu étudiés et nécessitent des investigations approfondies.

## Introduction générale

Ainsi, cette étude vise à tester différentes souches de *Trichoderma* afin d'évaluer leur capacité à inhiber la croissance de *B. cinerea*. L'objectif ultime est d'identifier la souche de *Trichoderma* la plus efficace pouvant constituer une alternative viable et durable aux traitements chimiques dans la gestion des maladies fongiques.

Pour atteindre cet objectif, ce mémoire est structuré en trois parties principales. La première partie propose une revue de la littérature sur la fève, *B. cinerea* et *Trichoderma*, en mettant en évidence les mécanismes de biocontrôle ainsi que les conditions environnementales influençant leur interaction. La deuxième partie détaille la méthodologie expérimentale, en précisant les conditions de culture, les souches de *Trichoderma* utilisées et les techniques employées pour mesurer l'inhibition de la croissance de *B. cinerea*. Enfin, la troisième partie présente les résultats obtenus, suivis d'une discussion sur leurs implications pour la lutte biologique contre *B. cinerea* et les perspectives d'application en agriculture.

# **Synthèse bibliographique**

# Chapitre 1 : La fève (*Vicia faba*)

### 1. Introduction

La fève, *Vicia faba* L, est une légumineuse annuelle cultivée depuis l'Antiquité. Cette plante herbacée, qui peut atteindre plus d'un mètre de hauteur, produit des gousses contenant les fèves (Pitrat et Foury, 2003). La fève est une légumineuse aux multiples atouts : elle constitue une source protéique essentielle pour l'alimentation humaine et animale, et sa capacité à fixer l'azote atmosphérique réduit le besoin d'engrais azotés. Ces avantages en font une culture prisée des agriculteurs et une tête d'assolement intéressante dans les rotations culturales. De plus, sa culture ancestrale dans diverses régions a permis le développement d'une grande diversité génétique au sein des variétés locales (Thalji et Shalaldehy, 2006).



**Figure 1 :** Les graines de la fève

(<https://www.gettyimages.fr/detail/photo/pile-of-broad-beans-image-libre-de-droits/182883838>)

### 2. Origine et Distribution géographiques

Selon Guen et Due (1996), la fève (*Vicia faba* L) a probablement été domestiquée au Proche et Moyen-Orient. De là, elle s'est répandue en plusieurs vagues. La première et la plus importante a eu lieu autour du bassin méditerranéen, d'où elle a ensuite gagné l'Europe du Sud et de l'Ouest, notamment l'Espagne, l'Italie et la France, via les conquêtes et les échanges commerciaux. Simultanément, une autre migration s'est dirigée vers l'Est, atteignant l'Inde et l'Afghanistan, ainsi que vers le Sud, en particulier l'Éthiopie. Ces régions ont vu l'émergence d'une diversification secondaire de l'espèce.

### 3. Description de la plante

La fève (*Vicia faba* L), décrite pour la première fois par Linné en 1753, est une plante dicotylédone herbacée originaire d'Asie ou du Moyen-Orient. Chaux et Foury (1994) la décrivent comme une plante robuste, grimpante, avec une tige simple, dressée, creuse et

quadrangulaire, atteignant généralement entre 0,80 et 1,20 m de hauteur. Duc (1997) et Brink et Belay (2006) précisent que la tige présente une croissance indéterminée et peut développer des rameaux à la base. Les feuilles, alternées et composées-pennées, sont constituées de 2 à 4 paires de folioles ovales, mucronées, de couleur vert glauque ou grisâtre, avec des stipules dentées bien visibles, comme le soulignent Chaux et Foury (1994). Les fleurs, disposées en racème, sont blanches avec un point noir sur les ailes, zygomorphes et hermaphrodites, à pollinisation entomophile, leur floraison étant influencée par la photopériode et la température (Evans, 1959). Les fruits sont des gousses charnues, caractéristiques des Fabacées, pouvant atteindre 10 à 20 cm de long et contenant 4 à 9 graines (Duc, 1997). Le système racinaire est composé d'une racine pivotante et de racines secondaires portant des nodosités abritant la bactérie *Rhizobium leguminosarum*, fixatrice d'azote atmosphérique. Enfin, les graines, charnues et de couleur variable selon la maturité, possèdent un hile clair ou noir, parfois entouré de taches marron (Duc, 1997 ; Chaux et Foury, 1994).



**Figure 2** : La plante de la fève (*Vicia faba*)

([https://media.gettyimages.com/id/1942917025/fr/vectoriel/ornamental-and-flowering-plants-plant-kingdom-victorian-botanical-illustration-circa-1853.jpg?s=612x612&w=0&k=20&c=y8E2Vfw-6m-](https://media.gettyimages.com/id/1942917025/fr/vectoriel/ornamental-and-flowering-plants-plant-kingdom-victorian-botanical-illustration-circa-1853.jpg?s=612x612&w=0&k=20&c=y8E2Vfw-6m-P7qvvq7EYA68KblSRfGSDxOHNSwb77MY=)

[P7qvvq7EYA68KblSRfGSDxOHNSwb77MY=](https://media.gettyimages.com/id/1942917025/fr/vectoriel/ornamental-and-flowering-plants-plant-kingdom-victorian-botanical-illustration-circa-1853.jpg?s=612x612&w=0&k=20&c=y8E2Vfw-6m-P7qvvq7EYA68KblSRfGSDxOHNSwb77MY=))

#### 4. Position systématique de la fève

La fève (*Vicia faba* L), une plante herbacée dicotylédone originaire d'Asie ou du Moyen-Orient, a été décrite par Linné en 1753. Sa classification botanique, selon le groupe Angiosperm Phylogeny (2009), est la suivante :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Sous –famille	Faboideae
Tribu	Vicieae
Genre	<i>Vicia</i>
Espèce	<i>Vicia faba</i> L

#### 5. Rôle agronomique et intérêt écologique de *Vicia faba* L dans les systèmes de culture

Comme toutes les légumineuses, *Vicia faba* L (fève ou fèverole) assure sa nutrition azotée par deux voies complémentaires : l'absorption de l'azote minéral présent dans le sol et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique grâce à son association avec des bactéries du genre *Rhizobium*. Cette capacité de fixation biologique permet de réduire significativement l'utilisation des engrais azotés, dont l'impact environnemental et économique est préoccupant en raison de leur coût élevé et de leurs effets néfastes sur la santé humaine et l'écosystème (Nouar, 2007).

Sur le plan agronomique, *Vicia faba* L joue un rôle essentiel dans l'amélioration de la fertilité des sols. En effet, son introduction dans les rotations culturales contribue à l'enrichissement du sol en éléments nutritifs, favorisant ainsi le développement des cultures suivantes, en particulier les céréales telles que le blé (Khaldi *et al*, 2002). Son système racinaire profond et dense améliore la structure du sol en facilitant son aération et en limitant les risques de compactage et d'érosion (Hamadache, 2003). Par ailleurs, les résidus de récolte de la fève constituent une source précieuse de matière organique, renforçant la capacité du sol à stocker les nutriments et à préserver sa fertilité sur le long terme.

D'un point de vue technique, *Vicia faba* L se distingue par son indifférence à la nature du précédent cultural, ce qui la positionne généralement en fin de rotation (Papvc, 2009). Toutefois, afin d'optimiser ses bénéfices agronomiques et de minimiser les risques phytosanitaires, il est recommandé de respecter un intervalle de trois à quatre ans avant de réintroduire cette culture sur une même parcelle. Son utilisation est particulièrement avantageuse après des cultures à faibles restitutions et reliquats azotés et avant des espèces exigeantes en azote, telles que les céréales.

Selon les études menées par Hamadache (2003) et Rachef *et al*, (2005), *Vicia faba* L permet un apport annuel estimé entre 20 et 40 kg d'azote par hectare, contribuant ainsi à une gestion plus durable des ressources azotées. Son intégration dans les systèmes agricoles apparaît donc comme une stratégie efficace pour améliorer la productivité des cultures tout en réduisant l'empreinte écologique des pratiques agricoles.

### 6. Les maladies fongiques affectant la fève

Les fèves sont des plantes légumineuses qui se cultivent plutôt simplement au potager. Elles sont malgré tout sensibles à quelques maladies qui peuvent nuire au rendement et à la qualité des graines. Découvrons quelles sont ces différentes maladies :

#### 6.1. Les taches chocolat

La maladie des taches chocolat est l'une des infections fongiques les plus graves affectant la fève, causée par *Botrytis cinerea* et *Botrytis fabae*. Les premiers symptômes apparaissent sous forme de taches brunes foncées à noires sur les feuilles, qui s'élargissent rapidement et entraînent une défoliation complète de la plante. Dans les cas les plus sévères, cette maladie peut provoquer la mort du plant en seulement 48 heures après l'apparition des symptômes, ce qui entraîne des pertes considérables de rendement (Stoddard *et al*, 2010). La propagation du champignon est favorisée par des conditions humides et fraîches, rendant cette maladie particulièrement problématique dans les climats tempérés et humides.



**Figure 3:** Symptômes de botrytis sur le feuillage de la féverole

<https://images.app.goo.gl/J5ACp8VF8NLwLxgA6>

## 6.2. L'ascochytose

Également connue sous le nom d'anthracnose, l'ascochytose est une maladie fongique fréquente chez la féverole, en particulier pour les variétés semées en hiver. Elle est causée par le champignon *Ascochyta fabae*, qui affecte divers organes de la plante, notamment les feuilles, les tiges et les gousses. Les premiers symptômes apparaissent sous forme de taches brunâtres à noires, souvent entourées d'un halo plus clair. À mesure que l'infection progresse, ces lésions s'étendent et affaiblissent la plante, pouvant entraîner une défoliation et une réduction significative du rendement.

Dans les cas les plus sévères, les gousses infectées se fissurent sous l'effet de la nécrose, exposant ainsi les graines à l'infection. Ces dernières développent alors des taches sombres qui compromettent leur qualité et leur pouvoir germinatif. La maladie est favorisée par des conditions climatiques humides et des températures modérées, ce qui facilite la dissémination du champignon par la pluie et le vent. Ainsi, l'ascochytose constitue un enjeu majeur pour la culture de la féverole, nécessitant une surveillance rigoureuse et l'adoption de stratégies de lutte adaptées pour limiter son impact Bouznad, Z. (2001).



**Figure 4 :** les symptômes de la maladie de L'ascochyrose

<https://images.app.goo.gl/C4RodApieYm8xbkn7>

### 6.3. La rouille *Uromyces fabae*

D'après Sillero *et al.* (2010), la rouille de la fève est causée par le champignon *Uromyces viciae-fabae*. Cette maladie fongique se manifeste par l'apparition de pustules poudreuses de couleur brun-orangé à brun foncé sur les feuilles, les tiges et parfois même sur les gousses. Ces pustules sont en réalité des amas de spores qui, sous l'effet du vent et de l'humidité, se propagent rapidement d'une plante à l'autre, favorisant ainsi la progression de l'infection dans la culture.

L'attaque du champignon survient généralement en fin de saison, au moment du remplissage des gousses, et entraîne des pertes modérées en termes de rendement. Toutefois, lorsque l'infection se déclare précocement, elle peut être beaucoup plus dévastatrice, réduisant l'efficacité de la photosynthèse et affaiblissant considérablement les plants. Selon Stoddard *et al.* (2010), une infection précoce peut causer des pertes de rendement dépassant 70 %, ce qui représente une menace majeure pour la production de fèves. Les conditions climatiques humides et tempérées, associées à la présence de vent, favorisent la dissémination des spores et accélèrent la progression de la maladie, rendant la rouille particulièrement difficile à maîtriser sans une stratégie de gestion efficace.



**Figure 5 :** les symptômes de la maladie de La rouille *Uromyces fabae* (Terres Inovia 2024).

# Chapitre 2 : *Botrytis cinerea*, agent de la pourriture grise

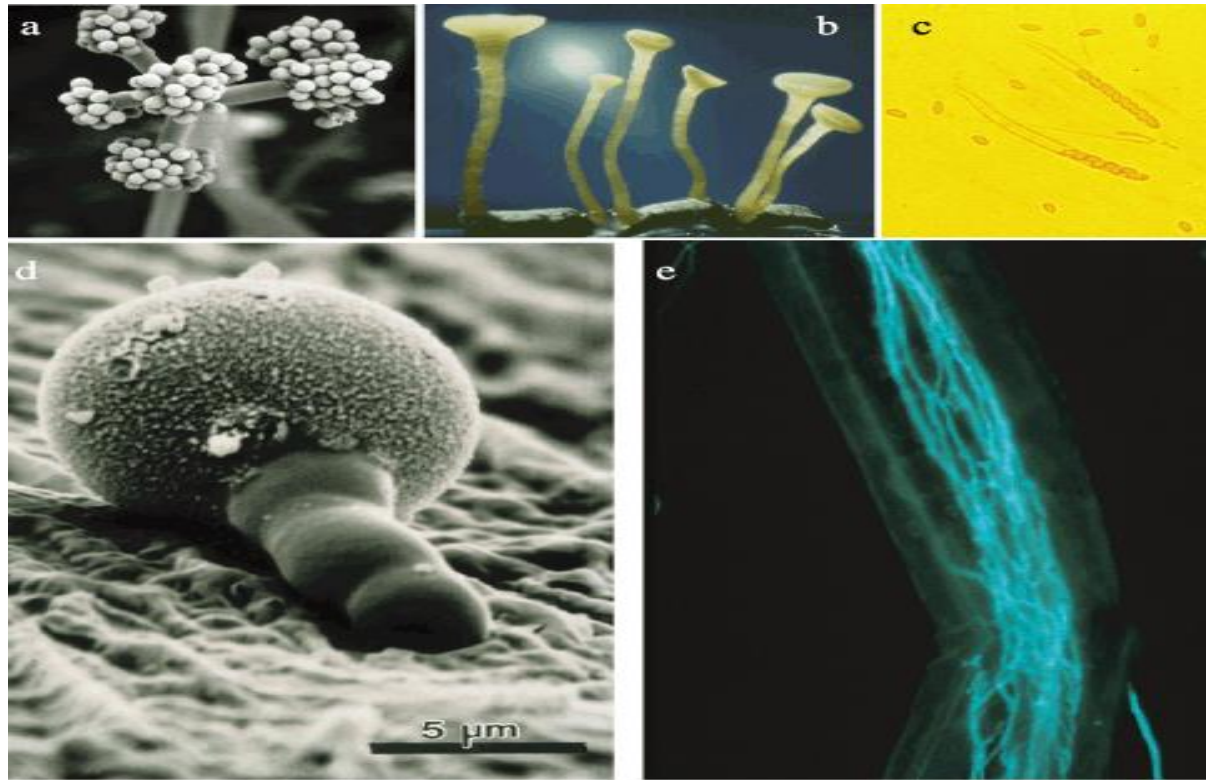
## 1. Introduction à *Botrytis cinerea*

### 1.1. Présentation

Le champignon *Botrytis cinerea* Pers. (forme asexuée de *Botrytis fuckeliana* (de Bary) Whetzel.) est un agent pathogène très commun, responsable de la pourriture grise chez de nombreuses plantes. Cette maladie affecte un large éventail de cultures, incluant les fruits (raisin, fraise, etc.), les légumes (tomate, laitue, etc.) et les plantes ornementales (tournesol, rose, etc.) (Kim et Xiao, 2011 ; Leroux *et al*, 2002 ; Veloukas *et al*, 2011 ; Yin *et al*, 2011).

La pourriture grise peut causer des dégâts importants, allant de la destruction partielle à la perte totale de la plante ou de la récolte, avec des conséquences économiques significatives avant et après la récolte (Fernandez-Ortuno *et al*, 2012). Ce champignon nécrotrophe, qui se nourrit de matière organique morte, est présent dans de nombreux environnements. Il possède une grande capacité d'adaptation et une diversité génétique élevée, ce qui lui permet de survivre et de se développer dans diverses conditions (De Miccolis Angelini *et al*, 2010 ; Kretschmer et Hahn, 2008 ; Martinez *et al*, 2005). Cette adaptabilité pourrait être un facteur clé dans le développement de sa résistance aux fongicides. Son cycle de vie court et sa reproduction rapide contribuent également à cette capacité d'adaptation (Brent et Hollomon, 2007 ; Yin *et al*, 2011).

*Botrytis cinerea* peut exister sous différentes formes : sclérotes (forme de conservation), mycélium (forme végétative), macroconidies et microconidies (spores asexuées) et ascospores (spores sexuées).



**Figure 6:** Présentation de structures morphologiques de *B. cinerea*

Les photographies suivantes présentent un conidiophore (A), des apothécies (B), un coussin d'infection (C) et une conidie en germination (D). La photographie (E) représente la pénétration de la cuticule végétale par un appressorium et tube germinatif. D'après Williamson *et al.* (2007). <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>

## 1.2. Position systématique de *Botrytis cinerea*

Le champignon responsable de la pourriture grise, *Botrytis cinerea*, est principalement connu et observé sous sa forme asexuée. C'est sous cette forme que le champignon provoque la maladie sur de nombreuses plantes. La reproduction asexuée de *B. cinerea* produit une grande quantité de spores, qui sont facilement transportées par le vent et d'autres moyens, assurant ainsi la propagation de la maladie.

Cependant, *Botrytis cinerea* possède également une forme sexuée, appelée *Botryotinia fuckeliana*. Cette forme joue un rôle important dans la survie du champignon, notamment en lui permettant de se conserver sous forme de sclérotes, qui sont des structures résistantes aux conditions défavorables.

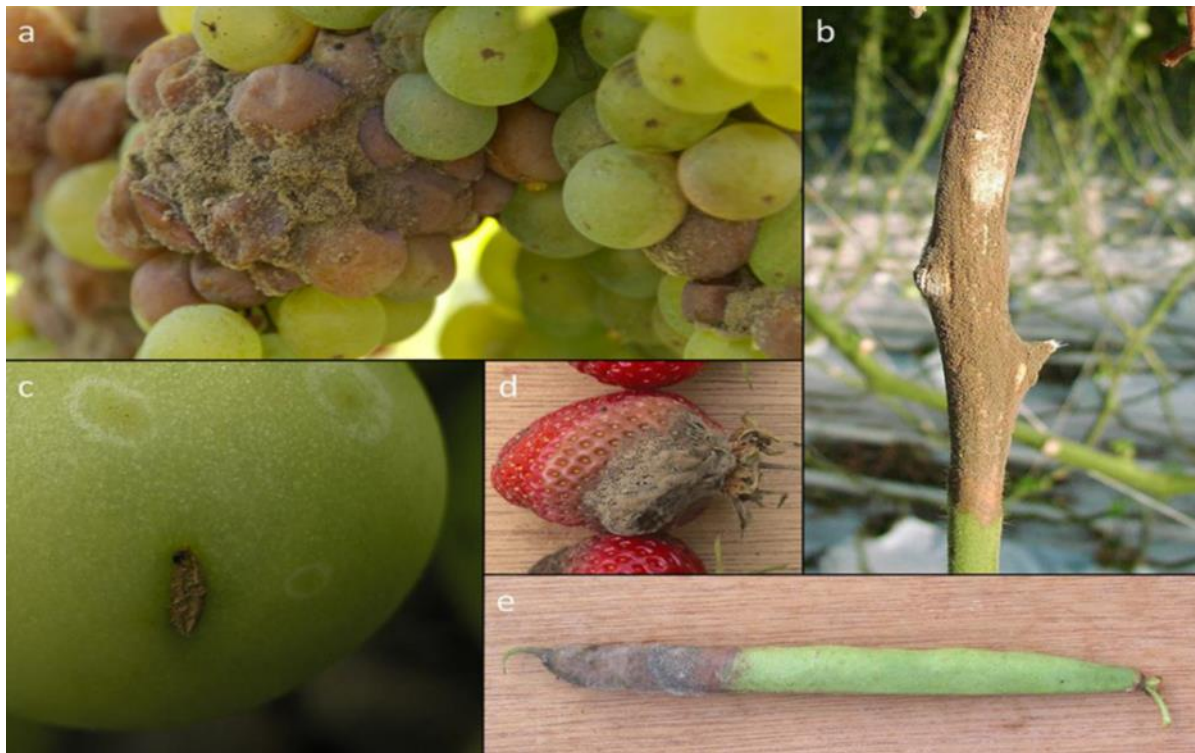
La classification plus détaillée de ce champignon ci-dessous (Wijayawardene *et al.*, 2024).

<b>Rang taxonomique</b>	<b>Nom taxonomique actuel</b>
Règne	Fungi
Division	Ascomycota
Sous-division	Pezizomycotina
Classe	Leotiomycetes
Ordre	Helotiales
Famille	Sclerotiniaceae
Genre (anamorphe)	<i>Botrytis</i>
Genre (téléomorphe)	<i>Botryotinia</i>
Espèce (anamorphe)	<i>Botrytis cinerea</i>
Espèce (téléomorphe)	<i>Botryotinia fuckeliana</i>

### **1.3. Impact économique de *Botrytis cinerea***

*Botrytis cinerea* cause le plus de dégâts sur les plantes dont les tissus sont déjà mûrs ou en train de vieillir. Ce champignon peut attaquer les plantes à tous les stades de leur croissance, depuis les jeunes pousses jusqu'à la récolte des produits. Il est important de noter que des pertes importantes peuvent survenir même après la récolte de cultures qui paraissaient saines, car le champignon peut rester en sommeil pendant un certain temps avant de provoquer la pourriture des tissus (Williamson *et al*, 2007).

Il est très difficile d'évaluer avec précision les pertes économiques causées par *B. cinerea* en raison de la grande variété de plantes qu'il peut infecter. Les coûts sont difficiles à déterminer car les dommages se produisent à différents moments de la production et de la vente. Il n'y a pas de chiffres fiables disponibles sur les pertes causées par ce champignon pendant la culture. Cependant, on estime qu'en moyenne, le coût de la lutte chimique contre *Botrytis* (pour toutes les cultures et dans tous les pays) est d'environ 40 € par hectare. En 2001, les produits chimiques spécifiquement conçus pour combattre *Botrytis*, appelés "Botryticides" Représentaient 10% du marché mondial des fongicides, avec un chiffre d'affaires de 540 millions d'euros (Steiger, 2007).



**Figure 7:** Photos d'infections causées par *B. cinerea* sur plusieurs hôtes.

Images adaptées depuis Wikimedia commons. *Symptômes causés par B. cinerea* sur (a) grappe de raisins de *Vitis vinifera*, (b) tige et (c) baie de *Solanum lycopersicum*, (d) fruit de *Fragaria x ananassa* et (e) gousse de *Phaseolus vulgaris*.

## 2. Cycle de vie et modes d'infection

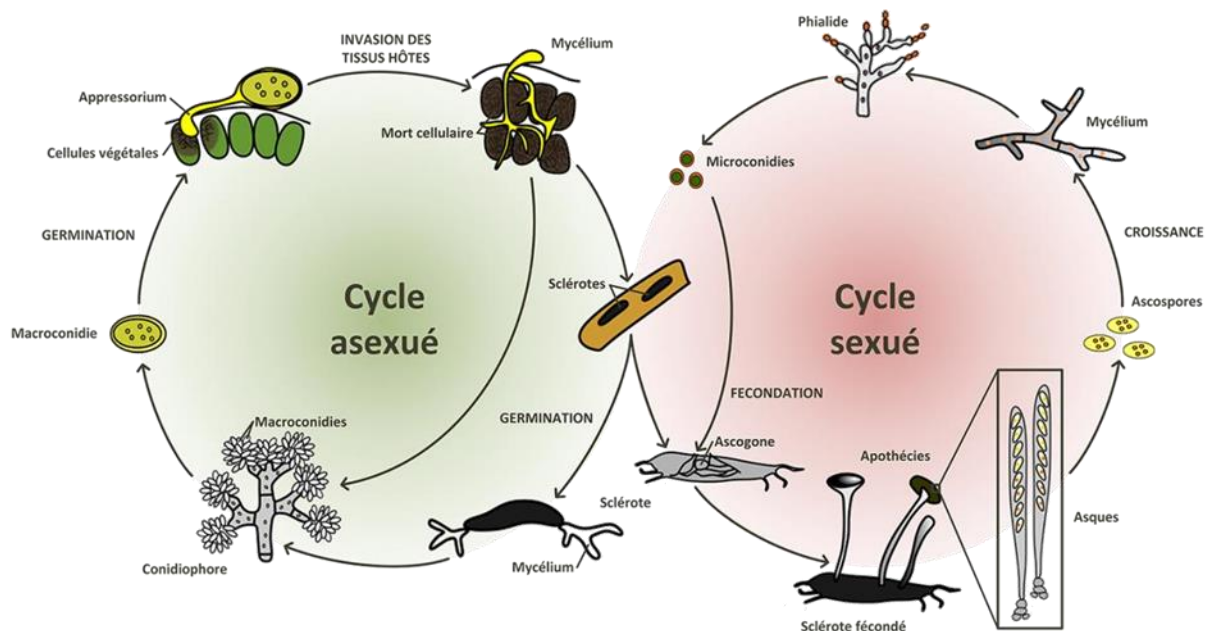
Le champignon pathogène *Botrytis cinerea* a un cycle de vie complexe. Il se reproduit de manière asexuée grâce à des spores appelées macroconidies. Ces spores germent sur les plantes, pénètrent dans leurs tissus et forment des filaments (hyphes) qui se développent en un réseau (mycélium). Le mycélium produit ensuite de nouvelles macroconidies, qui peuvent être dispersées par le vent ou la pluie pour infecter d'autres plantes (**Figure 8**).

Dans certaines conditions (froid et obscurité), le champignon peut former des structures de survie résistantes, les sclérotes. Ces sclérotes permettent au champignon de survivre pendant l'hiver et de produire du mycélium lorsque les conditions redeviennent favorables.

*B. cinerea* peut également se reproduire de manière sexuée, bien que cela soit moins fréquent dans la nature. Les sclérotes peuvent produire des organes femelles (ascogones) et le mycélium des organes mâles (microconidies). La fécondation a lieu lorsqu'une microconidie rencontre un ascogone de type sexuel compatible (Faretra *et al*, 1988).

Après fécondation, une structure appelée asque se forme et contient des spores sexuées (ascospores). Ces ascospores sont libérées et peuvent germer pour former du mycélium capable d'infecter de nouvelles plantes (**Figure 8**).

La reproduction sexuée est rare dans la nature, mais elle est importante car elle permet la création de nouveaux génotypes de *B. cinerea* (Walker *et al*, 2015). Cette diversité génétique est essentielle pour l'adaptation du champignon à son environnement. En laboratoire, les scientifiques peuvent contrôler la reproduction sexuée de *B. cinerea* (Faretra and Antonacci, 1987).



**Figure 8 :** Cycle de vie de *Botrytis cinerea*

D'après Fillinger et Elad, 2015 (images adaptées depuis Wikipédia). Le cycle asexué est représenté sur la partie gauche du graphique, tandis que le cycle sexué occupe la partie droite.

### 3. Facteurs favorisant le développement de *Botrytis cinerea*

Le développement de *Botrytis cinerea*, est un processus complexe influencé par divers facteurs, notamment les conditions environnementales, la disponibilité des nutriments et l'état de la plante hôte.

#### 3.1. Conditions environnementales

La température et l'humidité sont des facteurs clés pour la germination des spores (conidies), la formation des structures d'infection (appressoria) et la croissance du tube germinatif (Shiraishi *et al*, 1970a). La température optimale pour la germination se situe généralement entre 20 et 30°C, mais elle peut être inhibée en dessous de 5°C et au-dessus de 35°C. Une humidité élevée (environ 90%) est généralement nécessaire pour une germination optimale (Jarvis, 1977). La lumière, qu'elle soit présente ou non, ne semble pas avoir d'impact majeur sur la germination (Nicot *et al*, 1996), mais la qualité de la lumière, notamment les UV, peut influencer la sporulation (West *et al*, 2000).

#### 3.2. Besoins nutritifs

Les conidies de *B. cinerea* ont des réserves énergétiques limitées et dépendent de sources de nutriments externes pour leur développement (Yoder & Whalen, 1975). La présence de sucres tels que le glucose et le fructose favorise la germination et la croissance (Clark et Lorbeer, 1977 ; Shiraishi *et al*, 1970b). L'eau seule ne suffit pas pour une croissance continue (Clark et Lorbeer, 1977). L'ajout de nutriments, en particulier de sucres, peut augmenter la capacité du champignon à provoquer des infections (Clark et Lorbeer, 1977).

#### 3.3. État de la plante

*B. cinerea* est souvent considéré comme un pathogène de faiblesse, car il affecte plus facilement les plantes affaiblies ou stressées. Les pratiques agricoles, telles que la fertilisation, peuvent influencer la sensibilité de la plante. Un excès d'azote, par exemple, peut rendre la plante plus vulnérable aux infections (Pitchay *et al*, 2007). Le champignon pénètre souvent dans la plante par des blessures ou des ouvertures naturelles (Holz *et al*, 2007). Les jeunes tissus et les fruits immatures peuvent présenter une certaine résistance grâce à la présence de composés antifongiques ou à un manque de sucres (Prusky et Lichter, 2007). Certaines substances, comme les proanthocyanidines et les anthocyanes, peuvent jouer un rôle protecteur en limitant l'activité des enzymes du champignon (Jersch *et al*, 1989 ; Van Baarlen

*et al*, 2007). Par exemple, l'exposition à la lumière fluorescente blanche peut augmenter la teneur en anthocyanes et retarder le développement de la moisissure grise sur plusieurs plantes (fève, fraise, tomate ...).

### 4. Symptômes et dommages causés par *Botrytis cinerea*

#### 4.1. Les symptômes généraux

La pourriture grise, causée par le champignon *Botrytis cinerea*, se manifeste par des symptômes variés en raison de sa large gamme d'hôtes. Sur les feuilles et les fruits, on observe typiquement des taches brunes suivies d'un feutrage grisâtre, qui sont en fait les spores du champignon (Williamson *et al*, 2007).

Il est intéressant de noter que dans certaines conditions, la pourriture causée par *B. cinerea* peut être bénéfique, donnant lieu à la "pourriture noble" utilisée dans la production de vins blancs liquoreux.

Cependant, la pourriture grise est surtout connue pour les problèmes qu'elle cause dans l'agriculture, et différentes méthodes de lutte existent pour la gérer.

#### 4.2. Symptômes spécifiques sur la fève

Sur la fève, la maladie, également appelée "taches chocolat", peut être causée par *B. cinerea* et *B. fabae*. Les dégâts causés par *B. fabae* sont généralement plus importants (lésions étendues), tandis que *B. cinerea* provoque des lésions plus petites, suggérant une certaine résistance de la fève (Hargreaves *et al*, 1977).

En conditions favorables, les taches s'agrandissent et deviennent nécrotiques (10 à 15 mm de diamètre), c'est la phase agressive de l'infection (Maufras, 1985). Sur les tiges, des stries longitudinales chocolat évoluent en nécroses. Sur les gousses, de petites taches deviennent une pourriture brune, pouvant dessécher la gousse.

En hiver et au printemps, sur les feuilles du bas, de petites taches brun-rougeâtres (1 à 2 mm) apparaissent, évoluant en taches marron (3 à 5 mm). Cette infection "non agressive" se développe par conditions défavorables (Maufras, 1985).



**Figure 9 :** Symptomatologie de *Botrytis cinerea*.

A : Chancre sec sur tige et collet. B : Attaque sur une inflorescence de tomate. C : Nécrose sur feuille de tomate. D : Attaque sur une plaie d'ébourgeonnage. E : Infection sur fruit de tomate. F : Taches fantômes sur tomate (Blancard et *al*, 2009). G : Attaque sur fruit de fraise (CANNA Canada, s.d.). H : Sclérotés de *B. cinerea* sur les sarments de vigne en hiver. I : attaque sur courgette (Blancard, 2013). J : nécrose sur feuille de vigne. K : pourriture sur fruit de courgette (Blancard, 2013). L : Mycélium sporulant sur grappe de raisin. M : taches chocolat sur fève. N : pourriture de La pomme (Giraud, 2020). O : Mycélium sporulant sur fleurs de rosier. P : pourriture grise sur Courgette (Blancard, 2013).

## 5. Stratégies de lutte contre *Botrytis cinerea*

*Botrytis cinerea* est un champignon pathogène qui peut causer des dégâts considérables dans diverses cultures, allant jusqu'à la perte totale (Williamson *et al*, 2007). Pour contrer ce champignon, différentes stratégies de lutte sont employées : la lutte chimique, les mesures prophylactiques et la lutte biologique.

Le coût combiné de ces méthodes de lutte est substantiel, dépassant souvent le milliard d'euros annuellement (Dean *et al*, 2012), ce qui met en évidence l'impact économique significatif de ce champignon.

### 5.1. Lutte chimique

La lutte chimique, basée sur l'utilisation de fongicides, est une approche courante pour gérer les maladies fongiques (Leroux, 2003). Divers produits chimiques ont été utilisés au fil du temps, mais le développement de résistances chez le champignon (Couderchet, 2003) complique cette méthode à long terme.

### 5.2. Mesures prophylactiques

Les mesures prophylactiques, qui visent à prévenir l'apparition et la propagation de la maladie, sont cruciales pour limiter les dommages causés par *B. cinerea*. Elles comprennent :

Aération des cultures : une aération adéquate réduit l'humidité, un facteur favorable au développement du champignon (Baptista *et al*, 2011).

Irrigation : il est préférable d'irriguer le matin pour permettre aux plantes de sécher rapidement.

Taille des plantes : une taille régulière et soignée diminue les risques d'infection (Decognet *et al*, 2010).

Élimination des débris végétaux : les débris végétaux peuvent abriter le champignon et favoriser sa dissémination.

Fertilisation : une fertilisation équilibrée renforce la résistance des plantes (Pitchay *et al*, 2007 ; Abro, 2013).

### 5.3. Lutte biologique

La lutte biologique utilise des organismes vivants ou des substances naturelles pour contrôler les populations de *B. cinerea* (Nicot *et al*, 2016). Différentes approches sont possibles :

#### 5.3.1. Utilisation de micro-organismes

En agriculture biologique, des micro-organismes tels que des bactéries (*Bacillus subtilis*, *Pseudomonas syringae*) ou des champignons (*Aureobasidium pullulans*, *Clonostachys rosea*, *Trichoderma* spp.) sont employés pour contrôler le développement de *Botrytis cinerea*, un champignon pathogène, pendant la culture ou après la récolte. L'actinomycète *Streptomyces griseoviridis* est également utilisé (Nicot *et al*, 2016). Ces micro-organismes exercent leur action de différentes manières :

Compétition : Ils rivalisent avec *B. cinerea* pour l'accès aux ressources (espace, nutriments).

Hyperparasitisme: Ils parasitent *B. cinerea* en sécrétant des substances antifongiques (enzymes, lipopeptides) qui détruisent les cellules du champignon.

Induction de résistance : Ils stimulent les mécanismes de défense de la plante, la rendant plus résistante à l'infection.

L'efficacité de ces agents de biocontrôle peut varier en fonction de leur stabilité dans le temps, influencée par les conditions environnementales (température, humidité) (Zhang *et al*, 2007), du stade de l'infection et des plantes affectées (Nicot *et al*, 2016).

#### 5.3.2. Utilisation de substances organiques et minérales

Des huiles minérales ou végétales peuvent être utilisées pour freiner la croissance du champignon.

#### 5.3.3. Utilisation d'extraits de plantes

Certains extraits de plantes possèdent des propriétés antifongiques ou renforcent les défenses des plantes.

# Chapitre 3 : *Trichoderma*, potentiel en lutte biologique

### 1. Introduction à *Trichoderma*

*Trichoderma* est un champignon saprotrophe cosmopolite, ce qui signifie qu'il se nourrit de matière organique en décomposition et qu'on le trouve dans le monde entier. Sa capacité à prospérer dans des environnements variés, allant des sols forestiers aux racines et feuilles des plantes, en fait un organisme extrêmement adaptable. Il est présent dans tous les types de sols, y compris les zones salées, agricoles et même désertiques.

Sa croissance rapide et sa capacité à utiliser une large gamme de substrats complexes lui ont valu d'être classé comme un champignon du sol. De plus, il possède une tolérance remarquable aux produits chimiques toxiques, ce qui lui permet de survivre dans des conditions difficiles.

Il est particulièrement abondant dans le bois en décomposition, où il joue un rôle essentiel grâce à ses interactions hétérotrophes, notamment en tant qu'endophyte opportuniste (Howell 2003).

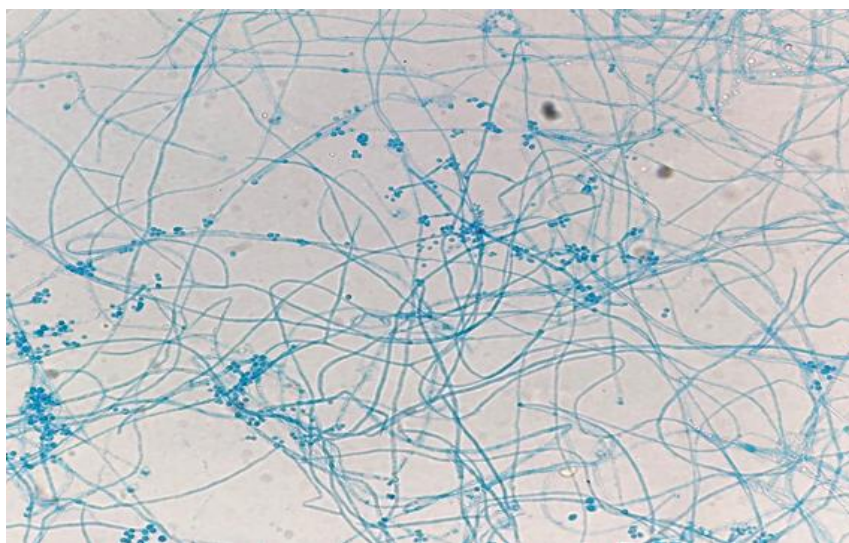
*Trichoderma* ne se contente pas de prospérer dans divers environnements ; il s'avère être un agent de bio-contrôle efficace contre les phytopathogènes, ces organismes qui causent des maladies chez les plantes (Sharma *et al*, 2019). Cette capacité en fait un outil précieux pour l'agriculture durable, car il offre une alternative naturelle et respectueuse de l'environnement aux pesticides chimiques.

D'après Bissett *et al*, (2015), parmi les 260 espèces identifiées, environ 35 ont été particulièrement remarquées pour leur importance économique, en raison de leur capacité à produire diverses enzymes ou de leur utilisation comme agents de bio-contrôle (Bouanaka *et al*. 2021).

L'intérêt mondial pour la recherche sur le champignon *Trichoderma* s'est considérablement accru en raison de ses applications prometteuses dans les domaines de l'agriculture et de la biotechnologie (Verma *et al*, 2017). Le champignon *Trichoderma* est souvent associé aux plantes, où il peut vivre en tant qu'épiphyte ou endophyte. Les épiphytes sont des micro-organismes qui colonisent la surface des parties aériennes des plantes. Leur relation avec la plante peut être variable, allant du bénéfique au neutre, voire au nuisible (Yadav *et al*, 2020).

Bien que le *Trichoderma* soit principalement connu pour son rôle d'épiphyte, certaines études suggèrent qu'il peut également vivre à l'intérieur des tissus végétaux en tant

qu'endophyte. Cependant, les preuves scientifiques soutenant cette dernière affirmation restent encore limitées à ce jour.



**Figure 10** : Exemple sur un aspect microscopique de *Trichoderma* spp. (Muangnak, J. 2021).

## 2. Taxinomie de *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma* a été décrit pour la première fois par Persoon en 1794. Sa classification a été considérée comme contradictoire et douteuse jusqu'à ce que Rifai propose une classification réalisable en 1969, regroupant les espèces en neuf groupes. Le genre *Trichoderma* appartient à Deuteromycotina, Hyphomycetes, Phialosporae, Hyphales et Dematiaceae. Dennis et Webster (1971) ont placé ce genre comme *Hypocrea* Fr. dans les Hypocreales, Ascomycotina par la téléomorphe. Des études morphologiques détaillées ont été produites par Bissett (1991).

L'histoire de la classification du genre *Trichoderma* est un parcours fascinant à travers les méandres de la taxonomie fongique. Pendant près de deux siècles, une dualité a persisté, opposant *Trichoderma*, la forme asexuée (anamorphe), à *Hypocrea*, la forme sexuée (téléomorphe), alors qu'il s'agissait souvent des deux faces d'une même espèce. Cependant, la taxonomie de *Trichoderma* a connu un développement plus rapide et plus approfondi que celle d'*Hypocrea*. Cette situation a perduré jusqu'en 2013, lorsque le Code international de nomenclature pour les algues, les champignons et les plantes a tranché en faveur d'un nom unique pour les champignons pleiomorphes, privilégiant *Trichoderma* en raison de son antériorité. Les premières tentatives de classification reposaient essentiellement sur des critères morphologiques, avec des contributions majeures de Rifai (1969) et Bissett (1984, 1991a, b, c, 1992). Toutefois, ces approches se sont avérées limitées face à la complexité et à

la variabilité des caractères morphologiques. L'avènement des techniques moléculaires, initié par Samuels (1996) et poursuivi par Hermosa *et al*, (2000), a marqué un tournant décisif, permettant une identification plus précise et une meilleure compréhension des relations phylogénétiques au sein du genre. En parallèle, d'autres approches complémentaires, telles que l'étude des métabolites secondaires, des caractéristiques physiologiques et des profils d'isoenzymes, ont enrichi la palette des outils taxonomiques. Ainsi, la taxonomie de *Trichoderma* a évolué d'une approche morphologique descriptive à une approche intégrative, combinant morphologie, biologie moléculaire et physiologie, pour une classification plus robuste et plus précise.

*Trichoderma* avait été divisé en cinq sections (Gams et Bissett, 2002), mais avec l'analyse phylogénétique moléculaire croissante, la nomenclature sectorielle de *Trichoderma* a été abandonnée au profit de la dénomination de clades phylogénétiques (Samuels, 2006 ; Kubicek *et al*, 2008).

L'avènement des techniques moléculaires et l'analyse phylogénétique de données de séquences d'ADN ont permis une meilleure résolution des entités taxonomiques (Zimand *et al*, 1994 ; Kuhlsw *et al*, 1997).

Taxonomie de *Trichoderma* (Adnan *et al*, 2019)

Domaine	Eucarya
Règne	Fungi
Embranchement (Division)	Ascomycota
Sous-embranchement (Sous-division)	Pezizomycotina
Classe	Sordariomycetes
Ordre	Hypocreales
Famille	Hypocreaceae
Genre	<i>Trichoderma</i>

### 3. *Trichoderma* comme agent antagoniste potentiel

*Trichoderma*, un champignon présent dans tous les sols du globe, est un symbiote opportuniste qui ne cause pas de maladie aux plantes (Samuels 2004). Grâce à leur interaction mutualiste endophyte avec les plantes, plusieurs espèces de *Trichoderma* sont activement

exploitées comme agents antagonistes pour combattre un large éventail de maladies fongiques végétales (Bongiorno *et al*, 2016).

Les espèces de *Trichoderma* possèdent une grande capacité d'adaptation, leur permettant de s'établir facilement dans tous les types de sols de la rhizosphère et d'y survivre pendant de longues périodes (Ellis 2013). La présence de *Trichoderma* dans un sol entraîne une réduction de la population des micro-organismes concurrents, ce qui lui confère un rôle prédominant en tant qu'agent de bio-contrôle local (Rasool Azarmi 2011).

#### 4. Application *Trichoderma* dans la lutte contre les maladies fongiques des plantes

Face aux difficultés et à la complexité du contrôle chimique de la pourriture grise, ainsi qu'à son impact économique et aux préoccupations environnementales croissantes, la recherche s'est orientée vers des alternatives biologiques. Malgré les efforts, la lutte biologique reste sous-exploitée et l'utilisation de biopesticides contre cette maladie est limitée (Nicot *et al*, 2011 ; Nicot et Bardin, 2012).

Bien qu'un large éventail de plantes et de microorganismes aient démontré une activité inhibitrice contre *Botrytis cinerea* en laboratoire et en serre, seuls quelques-uns ont maintenu cette performance sur le terrain, et encore moins ont atteint le stade de la commercialisation (Nicot *et al*, 2011).

*Trichoderma*, un champignon de lutte biologique d'une grande importance mondiale, représente une solution d'avenir pour la protection des plantes contre les maladies (Tyśkiewicz *et al*, 2022). Des études menées à travers le monde ont démontré le potentiel du *Trichoderma* dans la lutte contre les maladies des plantes. En particulier, *T. viride* et *T. harzianum* ont prouvé leur efficacité en inhibant la croissance de 29 espèces de champignons pathogènes appartenant à 18 genres différents, notamment *Botrytis*, *Fusarium* et *Rhizoctonia*. *Trichoderma* s'avère donc être un agent de biocontrôle polyvalent, efficace contre une large gamme de pathogènes tels que *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Pseudocercospora* spp. Et *Colletotrichum* spp. (Zhang Y. *et al*, 2022). L'utilisation du *Trichoderma* pour la protection des plantes offre un double avantage : elle combat efficacement les agents pathogènes tout en favorisant la croissance des cultures et réduit la dépendance aux pesticides chimiques, contribuant ainsi à la préservation de l'environnement.

## 5. Résistance au stockage et technologie de traitement des produits à base de *Trichoderma*

La viabilité commerciale des produits de biocontrôle à base de *Trichoderma* est étroitement liée à leur capacité à résister aux stress environnementaux et à maintenir leur stabilité lors de stockages prolongés, comme souligné par Alfiky et Weisskopf (2021). Pour y parvenir, des stratégies innovantes sont déployées. Deux approches principales se distinguent : l'optimisation des conditions de culture pour stimuler la production de chlamydospores résistantes, et l'intégration d'additifs chimiques tels que le cuivre et le tréhalose, reconnus pour leur pouvoir protecteur, comme indiqué par Monfil et Casas-Flores (2014). Parallèlement, des efforts considérables sont consacrés à l'amélioration des techniques de conservation, avec l'utilisation d'humectant comme la glycérine et le développement d'emballages sophistiqués, combinant séchage sous vide et matériaux de pointe. Des avancées significatives ont également été réalisées dans le traitement des préparations de *Trichoderma*, notamment avec la création d'un agent de conidies en poudre et l'invention d'une technologie brevetée stimulant la production de chlamydospores, comme innové par Chen *et al*, (2021). Ces innovations témoignent de la volonté de rendre les produits de biocontrôle à base de *Trichoderma* plus performants et plus accessibles, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives pour une agriculture durable. Le développement de la lutte biologique a entraîné une diversification des préparations commerciales à base de *Trichoderma* spp. On distingue principalement quatre types de formulations :

Poudres mouillables : Composées de conidies, de supports pulvérulents et d'humectants.

Granulés : Obtenus par mélange de conidies et de supports.

Mélanges composés : Associant poudres de spores et fongicides chimiques sur un support adapté.

Suspensions-émulsions : Conidies en suspension dans une lotion à base d'huiles végétales ou minérales et d'émulsifiants.

Sur le marché des agents de biocontrôle à base de *Trichoderma*, *T. harzianum* est l'espèce la plus répandue, suivie de *T. viride* et *T. koningii*. Parmi les produits commerciaux les plus utilisés, on trouve :

Trichodex (Makhteshim Chemical Works) : une préparation de *T. harzianum* T-39.

RootShield (Bioworks, États-Unis) : une préparation de *T. harzianum* T-22.

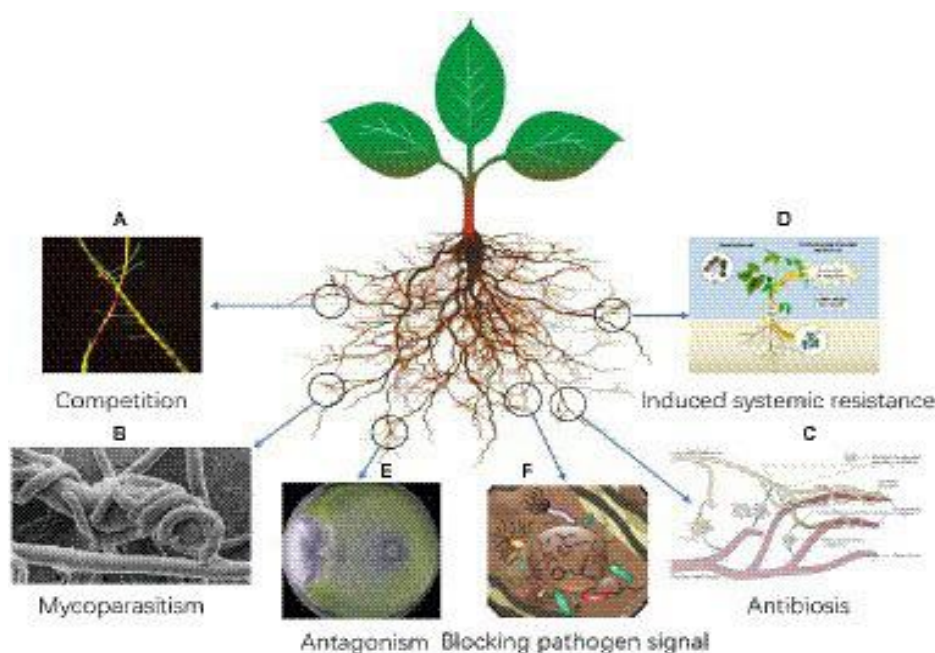
Binab TF (Binab Bio Innovation, Suède) : un mélange de *T. harzianum* et *T. polyspora*.

Sentinel (Novozymes, Danemark) : une préparation de *T. atroviride*.

Supervivit (Borregaard Bioplant, Danemark) : une préparation de *T. harzianum*.

## 6. Mécanisme du microbiome endophyte induit par *Trichoderma* qui stimule de manière synergique la réponse immunitaire des plantes

*Trichoderma*, un genre de champignons connu depuis près d'un siècle, présente un potentiel considérable en lutte biologique contre les maladies des plantes. Cette efficacité repose sur divers mécanismes, notamment le mycoparasitisme, l'antibiose et la compétition (Kubicek C. P., & Harman, G. E. 2002). En outre, *Trichoderma* peut induire une résistance systémique chez les plantes et favoriser leur croissance en optimisant l'assimilation des nutriments (Shoresh *et al.* 2010).



**Figure 11** : Diagramme schématique du mécanisme d'action de *Trichoderma* dans le contrôle des maladies fongiques des plantes (Tamizi *et al.*, 2022)

### 6.1. Rôle compétitif de *Trichoderma*

Grâce à leur croissance mycélienne rapide et à leur grande adaptabilité, les champignons *Trichoderma* sont d'excellents compétiteurs. Ils colonisent rapidement les racines des plantes, bloquant l'accès des pathogènes, et absorbent les nutriments nécessaires à la croissance de ces

derniers, les privant ainsi des ressources vitales (Guo *et al*, 2019 ; Bazghaleh *et al*, 2020 ; Halifu *et al*, 2020). La croissance du *Trichoderma*, nettement plus rapide que celle des champignons pathogènes, lui permet de les concurrencer efficacement et d'inhiber leur développement (Mohiddin *et al*, 2021). En 24 heures, *Trichoderma* s'installe dans le sol, adhère rapidement aux racines des plantes et forme un réseau protecteur d'hyphes, empêchant l'invasion par les pathogènes et éliminant ceux présents à proximité. Selon les travaux de Risoli *et al*, (2022), la croissance de *T. harzianum* est considérablement plus rapide que celle de *B. cinerea*, avec un taux 2,0 à 4,2 fois supérieur. Grâce à sa croissance et à sa reproduction rapide, *Trichoderma* entre en compétition avec le pathogène de la moisissure grise, *Botrytis cinerea*, pour l'eau, les nutriments, l'espace et l'oxygène, ce qui affaiblit et exclut ce dernier de son habitat (Herrera-Téllez *et al*, 2019).

#### 6.2. Mycoparasitisme à *Trichoderma*

Le mycoparasitisme est un mécanisme clé de la lutte biologique, où le champignon *Trichoderma* agit comme un parasite contre d'autres champignons pathogènes. *Trichoderma* est capable de cibler et de parasiter une large gamme de champignons pathogènes, incluant des genres tels que *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* et *Peronospora*. Ce processus de parasitisme implique plusieurs actions :

Invasion et dommages directs : *Trichoderma* attaque directement le mycélium (le réseau de filaments) des champignons pathogènes, causant des dommages et des blessures.

Altérations cellulaires : L'attaque de *Trichoderma* entraîne des modifications visibles dans les cellules des champignons pathogènes, telles que l'expansion, la déformation, le raccourcissement et l'arrondissement des cellules. Le protoplasme (le contenu vivant de la cellule) se rétrécit et la paroi cellulaire se rompt.

Destruction du mycélium : Dans le cas de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Trichoderma* envahit les hyphes (les filaments individuels) du champignon, s'y attache et s'enroule autour d'eux. Ce processus conduit à la désintégration complète des hyphes de *Sclerotinia sclerotiorum* (Shaw *et al*, 2016).

Des recherches récentes (Risoli *et al*, 2022) ont mis en évidence que le champignon *Trichoderma* peut induire la pourriture dans des conditions spécifiques, ce qui lui permet d'exercer une action mycoparasitaire efficace contre *Botrytis cinerea*. Plus précisément, une fois qu'il a pénétré les hyphes de *Botrytis cinerea*, *Trichoderma* se ramifie abondamment et

forme des structures reproductives, inhibant ainsi le développement des symptômes de la pourriture grise sur les raisins (Aswani *et al*, 2022). *Trichoderma* dégrade les parois cellulaires des champignons pathogènes via des chitinases, facilitant l'invasion. *T. harzianum* utilise ces enzymes pour l'autolyse et l'inhibition des pathogènes (Saravanakumar *et al*, 2017). *Trichoderma* hyperparasite *Fusarium graminearum* par contact et enroulement, entraînant sa destruction (Tian *et al*, 2018). *T. koningiopsis* attaque et désintègre *Sclerotinia sclerotiorum* (Shaw *et al*, 2016).

#### 6.3. Effet antibiose de *Trichoderma*

L'antibiose est un mécanisme clé par lequel *Trichoderma* contrôle les champignons phytopathogènes. Il s'agit de la capacité de *Trichoderma* à inhiber la croissance de ces pathogènes en sécrétant des substances antagonistes (El-Hasan *et al*, 2022). *Trichoderma* produit une large gamme de métabolites secondaires antimicrobiens, tels que la trichomycine, la gélatinomycine, la chlorotrichomycine et des peptides antibactériens (Maruyama *et al*, 2020). Ces composés agissent comme des agents antibactériens, favorisent la croissance des plantes et représentent une source précieuse pour le développement d'antibiotiques agricoles (Nawrocka *et al*, 2018). La plupart des souches de *Trichoderma* produisent des substances antimicrobiennes, notamment des pentabols, qui inhibent divers champignons phytopathogènes. Ces substances agissent en synergie avec les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire produites par *Trichoderma*, renforçant ainsi l'inhibition de la croissance des pathogènes (Tamizi *et al*, 2022).

#### 6.4. Résistance systémique induite de *Trichoderma*

*Trichoderma* joue un rôle crucial dans le renforcement des défenses des plantes. En plus d'inhiber directement les champignons pathogènes, il stimule les mécanismes d'autodéfense des plantes, induisant une résistance locale et systémique aux maladies. Cette résistance induite par *Trichoderma* repose sur deux mécanismes principaux :

Modulation des réponses de défense : *Trichoderma* régule les réponses immunitaires des plantes en modifiant l'expression des éliciteurs et des effecteurs, qui sont des molécules impliquées dans la signalisation de la défense.

Induction par des oligosaccharides : Les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire produites par *Trichoderma* libèrent des oligosaccharides, des sucres complexes qui agissent

comme des signaux d'alerte, déclenchant ainsi les mécanismes de défense des plantes (Gomes *et al*, 2015).

### **6.5. Stimulation de la croissance des plantes**

*Trichoderma* stimule la croissance des plantes en interagissant avec leurs racines, de manière similaire aux mycorhizes. La stimulation de la croissance des plantes par *Trichoderma* impliquent une colonisation des racines sans déclenchement de réponses de défense. *Trichoderma* interagit avec les racines des plantes, colonisant les tissus sans provoquer de défense, ce qui favorise la croissance (Yedidia *et al*, 1999 ; Harman *et al*, 2004).

Les effets de *Trichoderma* sur la croissance des plantes sont évidents : biomasse et productivité en hausse, résistance au stress améliorée, absorption des nutriments optimisée, et fonctions photosynthétiques et respiratoires renforcées par une modification de l'expression génétique (Shoresh *et al*, 2010).

# **Chapitre 4 : Facteurs influençant l'efficacité de *Trichoderma* en lutte biologique contre *Botrytis cinerea***

## 1. L'efficacité de *Trichoderma* en lutte biologique contre *Botrytis cinerea*

L'efficacité de *Trichoderma* en lutte biologique contre *Botrytis cinerea* est influencée par une combinaison de facteurs biotiques et abiotiques

### 1.1. Les conditions environnementales influençant *Trichoderma*

#### 1.1.1. Température : Un Facteur Clé pour la Croissance

Optimal et Tolérance : Comme indiqué, les souches de *Trichoderma* prospèrent à une température optimale de 29 °C. Cette préférence pour les températures modérées les classe comme des champignons mésophiles. Leur capacité à tolérer des températures allant jusqu'à 35 °C élargit leur potentiel d'application dans divers environnements.

Limites : Les températures extrêmes, en particulier 0 °C et 40 °C, inhibent considérablement la croissance du *Trichoderma* cette sensibilité souligne l'importance de contrôler la température dans les applications agricoles et industrielles. Bien que le *Trichoderma* puisse survivre à des températures proches de 10 °C, son développement est ralenti. De même, les températures supérieures à 35 °C peuvent endommager le mycélium.

Adaptabilité : La littérature scientifique, comme le soulignent Kubicek *et al.*, (2003), Zhang *et al.*, (2005), Mulaw *et al.*, (2010) et Skoneczny *et al.* (2015), met en évidence la remarquable capacité d'adaptation du *Trichoderma* à diverses conditions climatiques. Cette adaptabilité est cruciale pour son utilisation comme agent de biocontrôle dans différents environnements. Moussaoui (2010) et Srivastava *et al.*, (2014), ont classé *Trichoderma* comme un champignon filamenteux mésophile, ce qui confirme que leurs besoins en températures sont modérés.

#### 1.1.2. PH : Une Large Gamme de Tolérance

Optimal : *Trichoderma* présente une croissance optimale dans une gamme de pH légèrement acide, autour de 5. Cette préférence pour l'acidité est typique de nombreux champignons.

Tolérance : *Trichoderma* est capable de croître dans une large gamme de pH, allant de 1 à 9. Cette tolérance lui permet de s'adapter à divers environnements de sol et de substrat. Moussaoui (2010) ; Srivastava *et al.*, (2014) ; Steyart *et al.*, (2010) ; confirment que la gamme de pH de croissance se situe entre 1 et 9.

Importance : Le pH du sol joue un rôle crucial dans la disponibilité des nutriments et l'activité microbienne. La capacité du *Trichoderma* à tolérer une large gamme de pH lui

confère un avantage dans les applications agricoles, où le pH du sol peut varier considérablement.

L'optimum se situant entre 4,5 et 6,5, il est donc important de prendre en compte le pH du sol lors de l'utilisation de *Trichoderma*.

## **1.2. Les interactions avec d'autres microorganismes du sol**

Le genre *Trichoderma* est largement étudié pour son potentiel en tant qu'agent de biocontrôle, offrant une protection efficace contre les maladies parasitaires des plantes (Howell, 2003 ; Vinale *et al*, 2007). Ces champignons bénéfiques emploient une variété de mécanismes pour attaquer et neutraliser les agents pathogènes du sol, incluant le parasitisme, l'antibiose et la compétition. Ces mécanismes peuvent agir individuellement ou en synergie, et leur utilisation dépend de l'agent pathogène ciblé et des conditions environnementales (Suty, 2010). En résumé, *Trichoderma* représente une stratégie prometteuse pour la protection des cultures, grâce à sa capacité à interagir de manière complexe avec les autres microorganismes du sol.

Le mycoparasitisme, phénomène complexe observé chez les *Trichoderma*, représente un mécanisme de défense efficace contre les champignons phytopathogènes. Ce processus implique l'enroulement des filaments de *Trichoderma* autour de l'agent pathogène, suivi d'une série d'actions visant à le neutraliser. Ces actions peuvent inclure l'étranglement du pathogène, la pénétration de ses tissus, et/ou l'injection d'enzymes lytiques qui dégradent sa structure cellulaire. Ces interactions complexes aboutissent à la destruction du pathogène, contribuant ainsi à la protection des plantes contre les maladies fongiques. (Howell, 2003 ; Vinale *et al*, 2007 ; Suty, 2010).

L'antibiose : l'antagonisme par antibiose est un mode d'action très répandu chez les espèces de *Trichoderma* qui repose sur la production de métabolites secondaires de nature diverse, exerçant un effet inhibiteur voire létal sur l'agent pathogène (Vinale *et al*, 2007).

La compétition pour les ressources, notamment les nutriments et l'espace, constitue un mécanisme clé dans le contrôle biologique des agents phytopathogènes (Tronsmo et Hjeljord, 1998). Dans la rhizosphère, cette compétition est particulièrement intense, se manifestant par la colonisation de la surface racinaire (Sivan et Chet, 1989). *Trichoderma* se distingue parmi les microorganismes rhizosphériques les plus compétitifs, exploitant les nutriments libérés par

le système racinaire et colonisant activement les racines des plantes. La pénétration de *Trichoderma* dans les tissus racinaires est généralement limitée aux couches cellulaires superficielles (Yedidia *et al*, 1999, 2000 ; Metcalf *et al*, 2001). L'interaction entre la plante et *Trichoderma* déclenche la synthèse de phytoalexines, des molécules fongitoxiques (Howell, 2003 ; Shores *et al*, 2005). De plus, Yedidia *et al*. (2000) ont démontré que l'association de *Trichoderma* avec les racines réduit l'incidence des maladies racinaires en activant les mécanismes de défense des plantes.

### **1.3. Les méthodes d'application de *Trichoderma***

#### **1.3.1. Protection des plaies de taille**

Les différentes souches de *Trichoderma* démontrent une capacité remarquable à coloniser les plaies de taille du bois, jusqu'à 1-2 cm de diamètre, agissant ainsi comme une barrière protectrice contre la pénétration de champignons pathogènes responsables des maladies du bois (Eskalen *et al*, 2007 ; Van Niekerk *et al*, 2011b). Cette colonisation n'est toutefois pas uniforme et dépend de plusieurs facteurs :

État physiologique de la plante : Une plante vigoureuse présentera une meilleure capacité de réponse immunitaire et favorisera l'établissement de *Trichoderma* spp. Conditions météorologiques lors de la taille : L'humidité et la température influencent la survie et la croissance de *Trichoderma* spp. Ainsi que la dispersion des spores de champignons pathogènes.

Période de vulnérabilité et facteurs de risque : La période de taille coïncide souvent avec la libération des spores de champignons pathogènes, provenant de bois contaminés. Les plaies de taille restent réceptives aux infections pendant une période prolongée, pouvant atteindre 4 mois ou plus, selon le pathogène impliqué (Eskalen *et al*, 2007 ; Van Niekerk *et al*, 2011b). Cependant, le pic de vulnérabilité se situe généralement entre 2 et 8 semaines après la taille, période durant laquelle la plante est la plus susceptible de contracter une maladie du bois.

#### **1.3.2. Incorporation au sol : optimisation de l'efficacité**

L'efficacité de l'inoculation du sol avec *Trichoderma* est un aspect crucial pour maximiser son potentiel en tant qu'agent de biocontrôle. Voici une analyse plus détaillée :

Support nutritif : L'utilisation d'un support nutritif, tel que la tourbe, joue un rôle essentiel dans l'établissement initial de *Trichoderma* dans le sol. Ce support agit comme un réservoir de nutriments, fournissant à *Trichoderma* les ressources nécessaires pour se développer et se multiplier. En favorisant l'établissement initial, le support nutritif permet à *Trichoderma* de prendre de l'avance sur les autres micro-organismes du sol, réduisant ainsi la compétition pour les ressources.

Réduction de la compétition : un avantage concurrentiel Le sol est un environnement complexe et dynamique, peuplé d'une multitude de micro-organismes, dont certains peuvent être compétitifs ou même antagonistes envers *Trichoderma*. L'utilisation d'un support nutritif permet à *Trichoderma* de s'établir rapidement et de coloniser le sol avant que les autres micro-organismes ne puissent le faire. Cette colonisation précoce confère à *Trichoderma* un avantage concurrentiel, lui permettant de mieux lutter contre les agents pathogènes et de favoriser la croissance des plantes. (Davet *et al*, 1981).

#### **1.4. Les études empiriques et résultats récents**

D'après les expériences faites sur la tomate dans le Journal des Sciences Fondamentales et Appliquée, La pourriture grise, causée par *Botrytis cinerea*, constitue une maladie fongique majeure affectant les cultures de tomates en serre, entraînant d'importantes pertes économiques. L'utilisation excessive de fongicides chimiques pour la contrôler peut entraîner des problèmes de résistance et des conséquences environnementales néfastes. C'est pourquoi la recherche d'alternatives de lutte biologique devient essentielle. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est d'évaluer le potentiel de différentes souches de *Trichoderma* spp. En tant qu'agents de biocontrôle contre *Botrytis cinerea* sur les tomates.

Méthodologie :

Isolement des souches : Les souches de *Botrytis cinerea* ont été isolées à partir de plantes de tomates présentant des symptômes de pourriture grise dans des serres situées dans différentes régions d'Algérie. Cela permet d'avoir une vision de l'efficacité sur diverses souches du pathogène.

Onze souches de *Trichoderma* spp. Ont été sélectionnées pour leurs propriétés antagonistes potentielles.

Expériences *in vitro* (en laboratoire) : Des tests ont été réalisés en laboratoire pour évaluer l'activité antifongique de *Trichoderma* spp. Contre *Botrytis cinerea*.

Les paramètres étudiés incluaient :

L'inhibition de la sporulation (production de spores). L'inhibition de la germination des spores. L'inhibition de la production et de la germination des sclérotés (structures de survie du champignon). L'observation de modifications morphologiques (changements dans la structure du champignon).

Expériences *in vivo* (en conditions réelles) : Des essais ont été menés sur des plantes de tomates cultivées en serre pour évaluer l'efficacité de *Trichoderma* spp. Dans la protection contre la pourriture grise.

Les paramètres évalués comprenaient :

La réduction de la gravité de la maladie (évaluation des symptômes sur les plantes). L'inhibition de la sporulation de *Botrytis cinerea* sur les plantes. Comparaison avec un fongicide chimique : L'efficacité de *Trichoderma* spp. A été comparée à celle du fongicide chimique "PROLEX", couramment utilisé par les agriculteurs de la région. Cela permet de situer l'efficacité de la solution biologique par rapport à une solution chimique.

Résultats et Implications :

Efficacité de *Trichoderma* spp. : Les expériences ont démontré que *Trichoderma* spp. Possède une forte activité antifongique contre *Botrytis cinerea*, tant en laboratoire qu'en conditions réelles. Les souches T4, T11, T8 et T10 ont montré le plus grand potentiel, ce qui suggère qu'elles pourraient être utilisées comme agents de biocontrôle efficaces.

Lutte biologique : Ces résultats soutiennent l'utilisation de *Trichoderma* spp. Comme alternative viable aux fongicides chimiques pour la lutte contre la pourriture grise de la tomate. La lutte biologique présente l'avantage de réduire les risques pour la santé humaine et l'environnement. (D. Saddek et al. 2020)

# Matériels et méthodes

## Matériels et méthodes

Les travaux expérimentaux ont été réalisés dans le cadre de ce mémoire au niveau du laboratoire de l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA), station d'El Khroub, situé dans la wilaya de Constantine.

L'étude s'est déroulée sur une période allant du 3 février 2025 jusqu'au 24 février 2025.

### 1. Choix du milieu de culture

Le choix du milieu de culture repose sur sa capacité à assurer un développement optimal du pathogène. Dans le cadre de cette étude, le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été sélectionné, et sa préparation a été réalisée conformément aux protocoles standardisés.

#### 1.1. Protocole de préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (voir l'annexe)

### 2. Matériel biologique

- **Agent pathogène**

L'isolat de *Botrytis cinerea* utilisé dans cette étude a été prélevé sur des fèves présentant des symptômes de pourriture grise. L'échantillon provient de la collection du laboratoire INRAA de Constantine.

- **Agents antagonistes**

Dans le cadre de cette étude visant à identifier des agents de lutte biologique contre *Botrytis cinerea*, 40 isolats de *Trichoderma* spp. ont été évalués face à une souche de *B. cinerea*. Ces isolats proviennent d'un isolement effectué dans le cadre de travaux de thèse et font partie de la mycothèque du laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies Végétales. Ils ont été conservés dans des tubes Eppendorf contenant du glycérol à -20 °C ou -80 °C.

### 3. Autre matériel utilisé

- Boîtes de Pétri stériles
- Pipettes Pasteur stériles
- Béchers
- Lames et lamelles de microscope
- Flacons stériles

## Matériels et méthodes

- Bec Bunsen
- Autoclave pour la stérilisation des milieux et du matériel
- Incubateur réglé à 25 °C
- Balance électronique avec une précision adéquate
- Microscope optique pour les observations microscopiques
- Éthanol à 70 % pour la désinfection
- Bleu de méthylène pour les colorations microscopiques
- Scotch transparent
- Règles pour mesurer les zones d'inhibition

## 4. Méthodes expérimentales

### 4.1. Réactivation des isolats de *Trichoderma* spp.

Les 40 isolats de *Trichoderma* spp. Conservés dans des tubes Eppendorf ont été réactivés comme suit :

- Sous conditions stériles, verser le contenu de chaque tube Eppendorf contenant un disque de *Trichoderma* sur une boîte de Pétri contenant du PDA.
- Étaler uniformément l'inoculum sur la surface du milieu à l'aide d'une anse stérile.
- Incuber les boîtes à 25 °C pendant 7 jours pour permettre une croissance optimale.

### 4.2. Évaluation de la pureté des isolats

Après incubation, les caractéristiques macroscopiques des colonies de *Trichoderma* ont été observées à l'œil nu. Cette analyse permet de décrire plusieurs aspects visibles des colonies, notamment :

- La pigmentation
- L'opacité
- La forme
- La taille
- L'aspect de la surface

Cette observation macroscopique fournit des informations cruciales pour l'identification de *Trichoderma* et l'évaluation de son développement en milieu de culture. Les 40 isolats ont été

regroupés en 10 groupes en fonction des caractères macroscopiques observés. Les isolats contaminés par *Rhizopus* (5 isolats) et un isolat non identifié ont été éliminés.

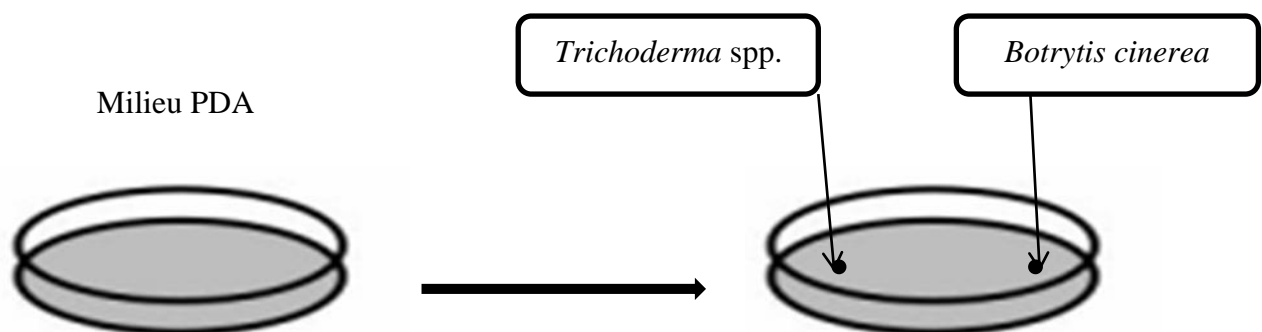
### 4.3. Test d'antagonisme in vitro

L'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. Contre *Botrytis cinerea* a été évalué par la méthode de confrontation directe en boîte de Pétri.

#### 4.3.1. Confrontation *Trichoderma* contre *Botrytis cinerea*

La méthode de confrontation *in vitro* entre *Trichoderma* et *Botrytis cinerea*, largement utilisée pour évaluer l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Botrytis cinerea* (Bogumił *et al* 2013) et mesurer l'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène.

- À partir de chaque groupe d'isolats, une seule souche a été sélectionnée pour l'essai.
- Un disque de *Trichoderma* spp. (5 mm de diamètre) a été prélevé et déposé à 1 cm du bord d'une boîte de Pétri contenant du PDA.
- Un disque de *Botrytis cinerea* (5 mm de diamètre) a été placé à 1 cm du bord opposé de la même boîte.
- Deux répétitions ont été effectuées pour chaque confrontation (2 boîtes par souche).



**Figure 12 :** Test de confrontation direct *in vitro* sur milieu PDA

#### 4.3.2. Témoin

- **Témoin *Trichoderma* seul** : Une boîte de Pétri contenant un disque de *Trichoderma* placé à 1 cm du bord (une seule boîte pour chaque isolat).
- **Témoin *Botrytis cinerea* seul** : Une boîte de Pétri contenant un disque de *Botrytis cinerea* placé à 1 cm du bord (deux boîtes).
- **Incubation** : Toutes les boîtes ont été incubées à 25 °C pendant 7 jours.

#### 4.4. Mesure de l'inhibition de la croissance mycélienne

Après incubation, l'effet antagoniste a été évalué en mesurant la zone d'inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea* dans les boîtes témoins et les boîtes de confrontation. La zone d'inhibition a été définie comme la distance mesurée entre :

- Le centre du disque de *Botrytis cinerea*
- La dernière zone d'inhibition visible.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (PI) a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$PI (\%) = (1 - Cn/Ct) \times 100$$

Où :

Cn = diamètre moyen de la colonie de *Botrytis cinerea* en présence de *Trichoderma*.

Ct = diamètre moyen de la colonie de *Botrytis cinerea* dans le témoin.

#### 4.5. Identification morphologique des souches

##### 4.5.1. Préparation des lames

1. Placer un morceau de ruban adhésif transparent (type scotch) sur la surface de la colonie fongique, en appuyant légèrement pour prélever des spores et des structures mycéliennes.
2. Poser délicatement le ruban sur une lame de microscope contenant une goutte de bleu de méthylène.

#### **4.5.2. Observation microscopique**

1. Examiner les lames au microscope optique avec des grossissements appropriés ( $\times 40$ ,  $\times 100$ ).
2. Noter les caractéristiques morphologiques, telles que la forme des conidies, la structure des conidiophores et la présence de phialides.

#### **5. Analyse statistique**

Les données obtenues ont été analysées à l'aide du logiciel Microsoft Excel pour évaluer l'effet des souches de *Trichoderma* spp. Sur *Botrytis cinerea*. Afin de mieux visualiser ces résultats, des histogrammes ont été réalisés pour illustrer les variations du pourcentage d'inhibition. Cette analyse statistique permet d'identifier les isolats de *Trichoderma* les plus efficaces et de confirmer leur potentiel dans le cadre de la lutte biologique.

## Résultats et Discussion

### Résultats

#### 1. Caractérisation des isolats de *Trichoderma* spp. Et *Botrytis cinerea*

##### 1.1. Observation macroscopique des isolats de *Trichoderma* spp.

L'observation macroscopique des 40 isolats de *Trichoderma* spp. Cultivés sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a permis de mettre en évidence une diversité morphologique significative, comme illustré dans la Figure 13, qui présente les photographies des cultures en boîtes de Pétri. Ces images permettent de visualiser la variabilité des caractéristiques macroscopiques des isolats, détaillées ci-dessous selon plusieurs critères distincts :

##### Couleur et aspect du mycélium

La majorité des isolats se caractérisent par une colonie de couleur verte, une teinte typique du genre *Trichoderma*, liée à la production de pigments associés aux conidies. Cependant, une variabilité notable a été observée : certains isolats présentent des nuances de vert foncé à vert olive, tandis que d'autres affichent des centres plus clairs, parfois jaunâtres. Une pigmentation jaunâtre à brunâtre du milieu de culture a également été détectée dans plusieurs cas, probablement due à la diffusion de métabolites secondaires, tels que des composés antifongiques ou des pigments extracellulaires (voir Figure13 pour des exemples visuels).

##### Texture et aspect de la surface des colonies

La surface des colonies varie de veloutée à poudreuse, une caractéristique fréquente chez *Trichoderma* spp, Reflétant la densité des conidies en surface. Certains isolats montrent une texture compacte et dense, suggérant une croissance plus lente ou une production élevée de mycélium, tandis que d'autres adoptent un aspect aérien et cotonneux, indicatif d'une croissance rapide et d'une sporulation abondante, comme observable sur les photographies de la Figure 13.

##### Bordure des colonies

Les bordures des colonies présentent également une hétérogénéité : certains isolats affichent des contours réguliers et bien définis, témoignant d'une croissance contrôlée, tandis que d'autres montrent des bordures irrégulières et diffuses, souvent associées à une expansion rapide du mycélium, un contraste clairement visible dans la **Figure 13**.

### Zonations et exsudats

Des zonations concentriques, sous forme de cercles de différentes teintes vertes, ont été observées chez quelques isolats, suggérant une alternance dans la production de conidies ou de métabolites au cours de la croissance. Par ailleurs, la présence d'exsudats, sous forme de gouttelettes à la surface du milieu, a été notée pour certains isolats, pouvant indiquer une activité métabolique intense ou la sécrétion de composés bioactifs. Ces phénomènes sont particulièrement bien illustrés dans les cultures photographiées (**Figure 13**).

### Apparition de structures reproductrices

Des zones ponctuées de points plus foncés sur certaines colonies pourraient correspondre à la formation de conidiophores portant des conidies, bien que cela nécessite une confirmation par observation microscopique. De plus, des régions blanches ou translucides ont été observées, potentiellement associées à un mycélium jeune ou à des zones en cours de différenciation vers des structures reproductrices, des caractéristiques visibles sur plusieurs isolats (Figure 13).

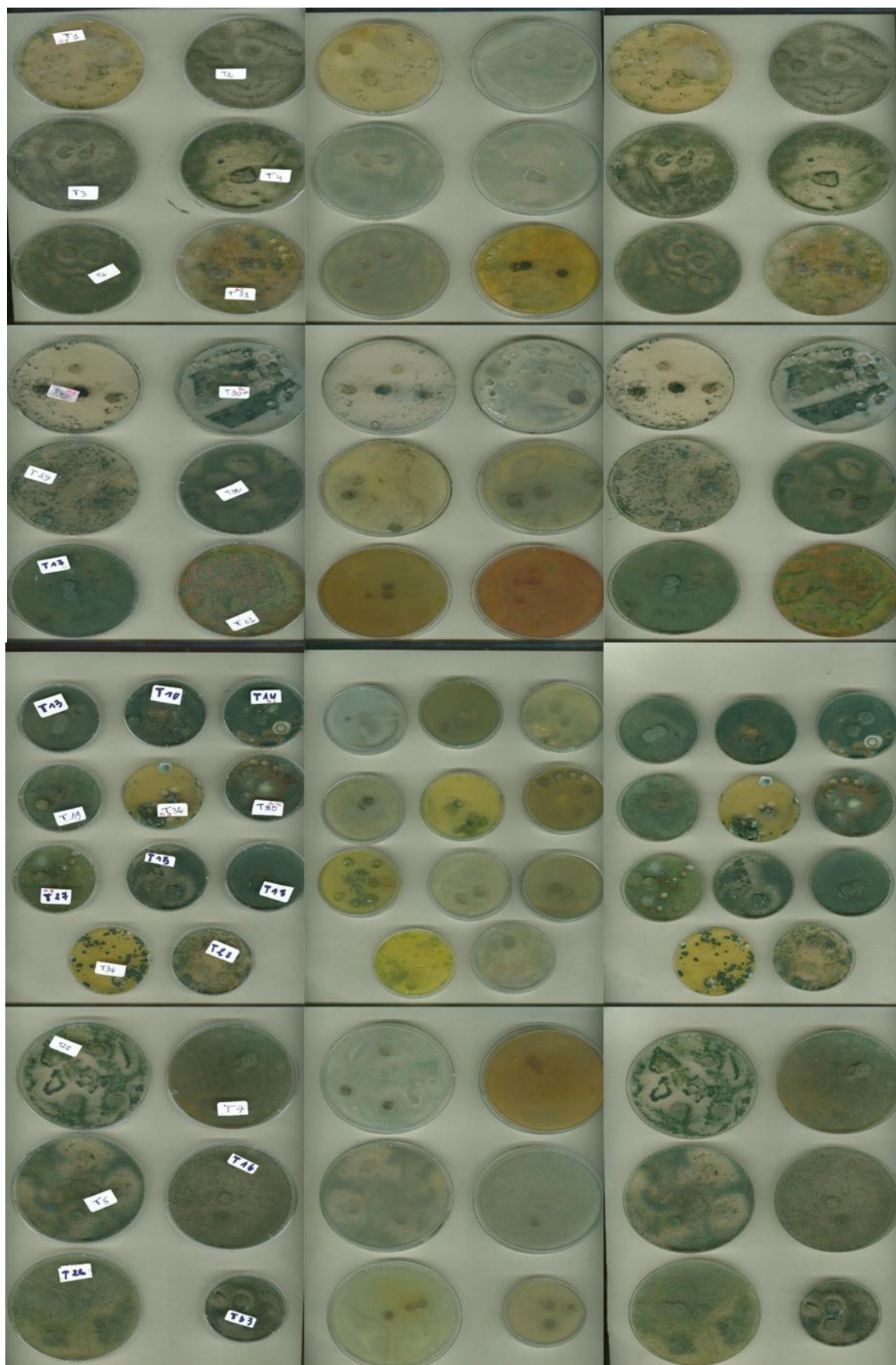
Sur cette base, les isolats ont été regroupés en 10 catégories en fonction de leurs caractéristiques morphologiques communes, ce qui a facilité leur sélection pour la confrontation avec *Botrytis cinerea*. Ce classement a permis d'identifier des groupes morphologiquement distincts, potentiellement liés à des différences fonctionnelles, comme leur capacité d'antagonisme ou leur vitesse de croissance.

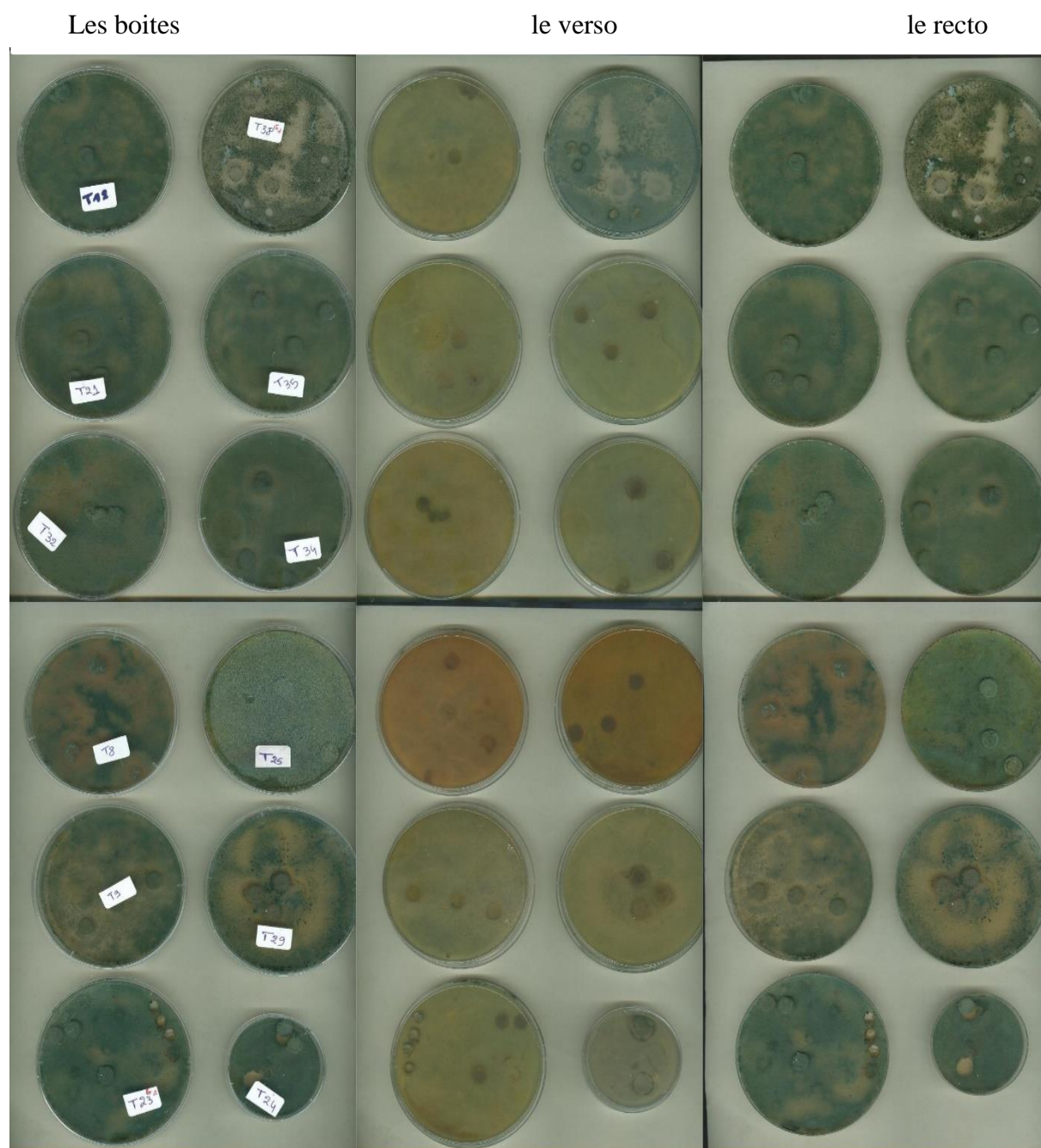
## Résultats

Les boîtes

le verso

le recto





**Figure 13 :** Photographies des cultures macroscopiques des 40 isolats de *Trichoderma* spp. Sur milieu PDA en boîtes de pétri, illustrant la diversité morphologique des colonies (couleur, texture, bordures, zonations et exsudats) et leur regroupement en 10 catégories pour l'étude de confrontation avec *Botrytis cinerea*.

### 1.2. Observation microscopique des isolats de *Trichoderma* spp. Et *Botrytis cinerea*

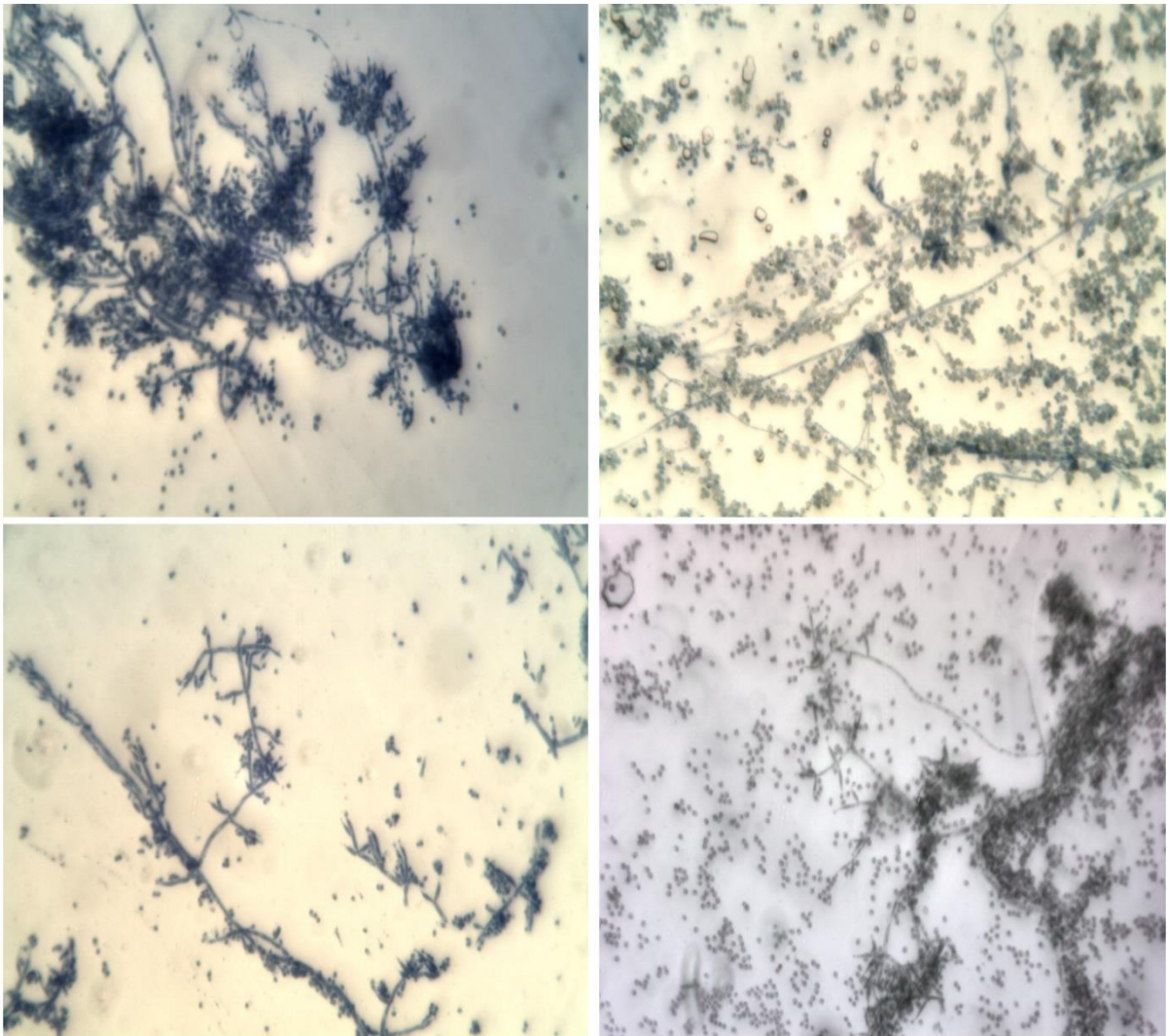
L'examen microscopique des isolats a permis de confirmer et de préciser les caractéristiques morphologiques observées à l'échelle macroscopique, en identifiant des structures spécifiques à chaque champignon.

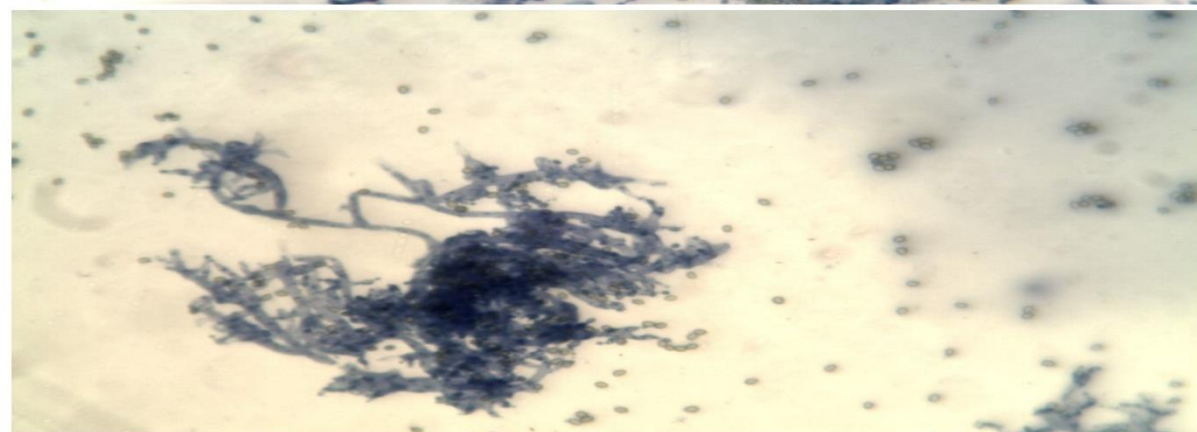
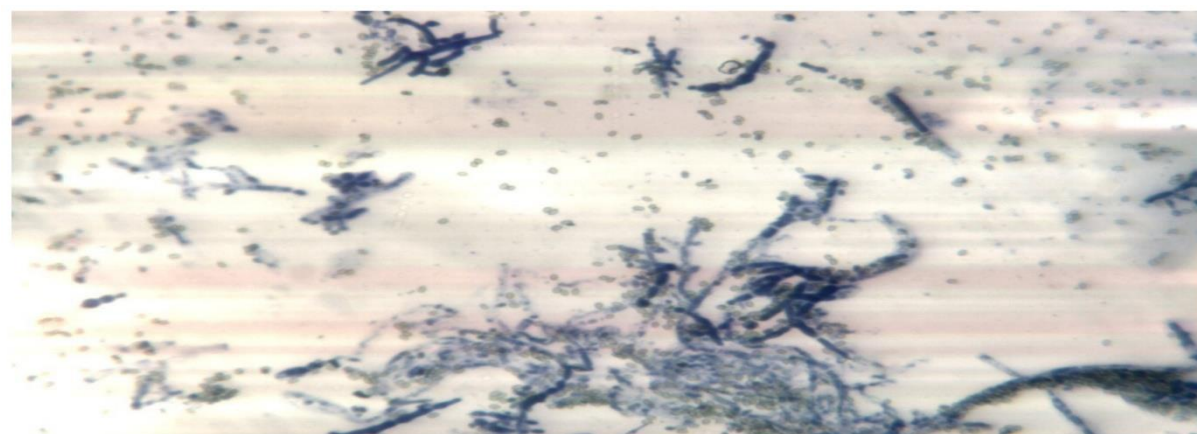
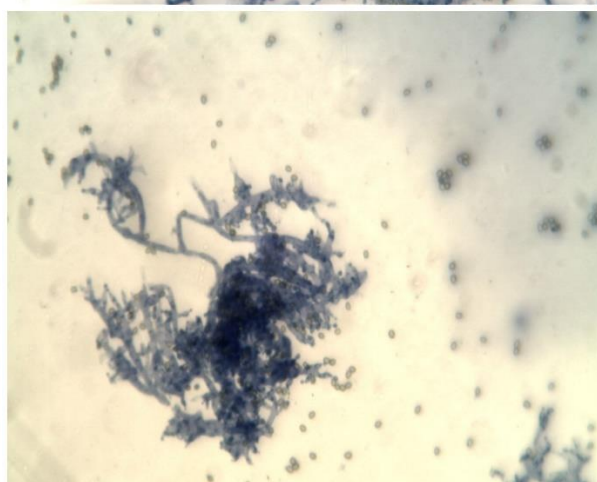
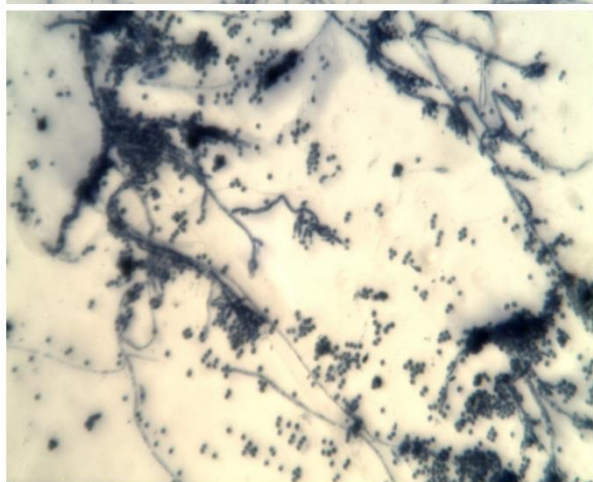
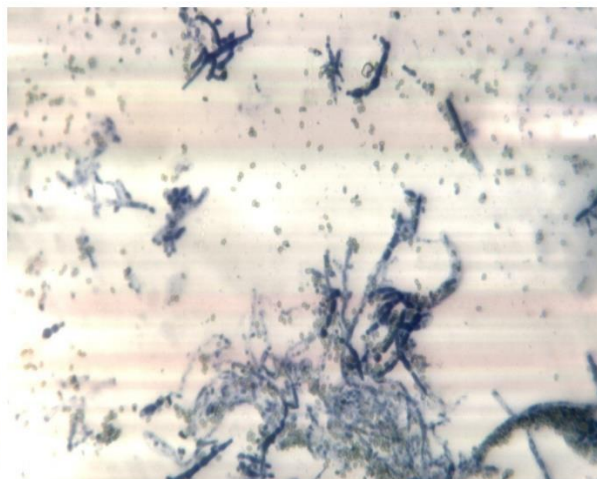
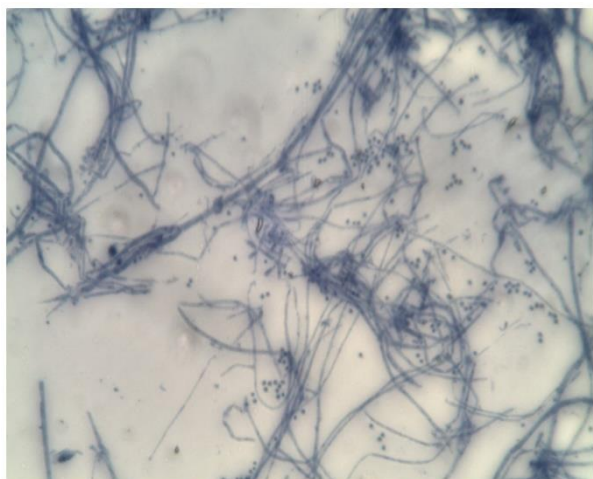
#### *Trichoderma* spp.

L'analyse microscopique des isolats de *Trichoderma* spp. a révélé les structures suivantes :

## Résultats

- **Conidiophores** : Ramifiés en verticilles, ces structures portent des phialides disposées en grappes, une organisation typique du genre *Trichoderma*. Cette ramification confère une apparence arborescente, facilitant la production massive de conidies.
- **Conidies** : De forme ovale à elliptique, les conidies sont généralement lisses et présentent une couleur verte sous lumière naturelle, cohérente avec les pigments observés macroscopiquement. Leur taille et leur forme varient légèrement entre les isolats, suggérant une diversité intraspécifique.
- **Chlamydospores** : Présentes dans certaines souches, ces structures de résistance, sphériques à épaisses parois, indiquent une capacité d'adaptation à des conditions environnementales défavorables. Leur détection dans seulement une partie des isolats souligne une hétérogénéité fonctionnelle au sein de la collection.





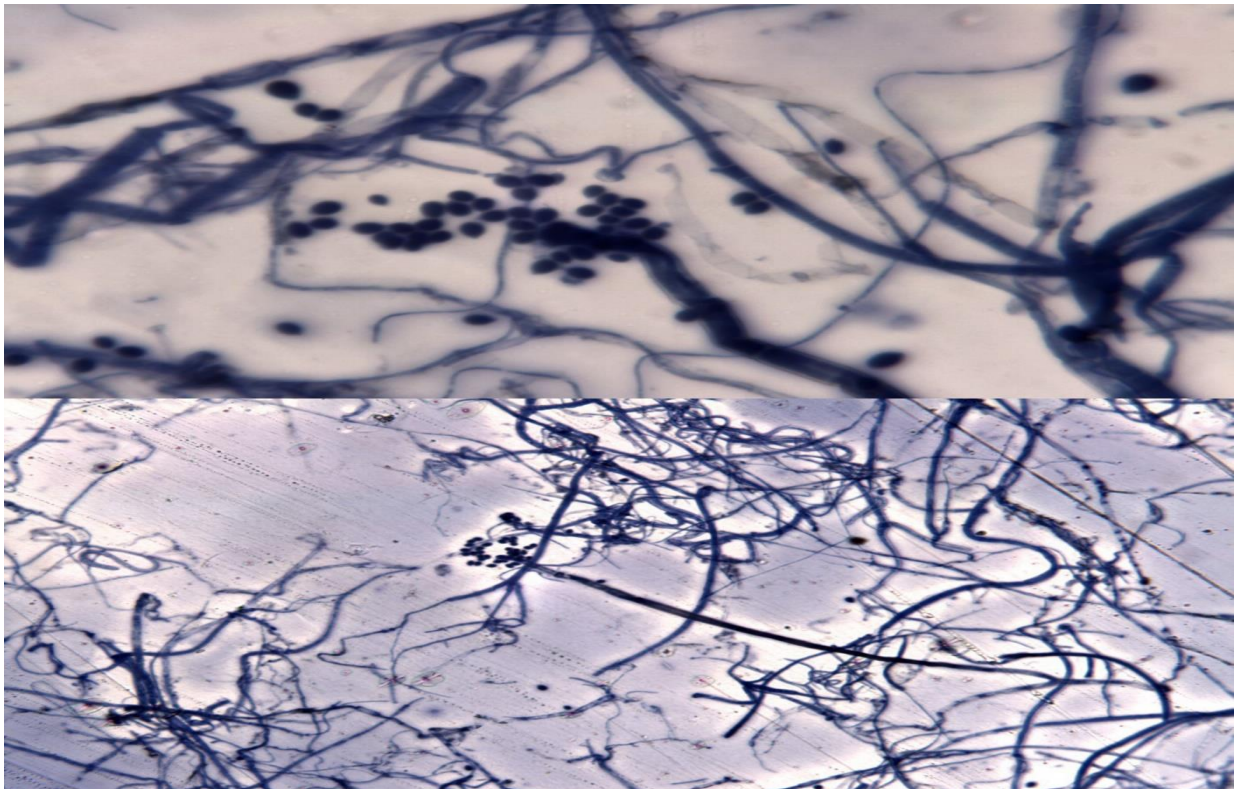
**Figure 14** : photographies des observations microscopiques des isolats [T1, T14, T20, T27, ( $\times 40$ )], [T23 ( $\times 40$ ), T23 ( $\times 100$ )], [T30, T31, T36, T38, ( $\times 40$ )] de *Trichoderma* spp.

### *Botrytis cinerea*

L'observation microscopique de *Botrytis cinerea* a révélé les caractéristiques suivantes :

- **Mycélium** : Septé et hyalin, le mycélium présente des cloisons transversales typiques des champignons ascomycètes, avec une apparence translucide sous lumière naturelle, reflétant son absence de pigmentation marquée.
- **Conidiophores** : Dressés et ramifiés, les conidiophores portent des conidies ovoïdes formant des chaînes ramifiées, une structure distinctive qui facilite la dissémination des spores. Ces conidiophores confèrent au champignon son aspect grisâtre caractéristique en culture.
- **Sporulation** : Une sporulation abondante a été observée sous lumière UV, suggérant une forte capacité de production de conidies dans des conditions spécifiques, un facteur clé de sa virulence en tant que phytopathogène.

Ces observations microscopiques ont confirmé l'identité des souches de *Trichoderma* spp. Et *Botrytis cinerea*, ainsi que leur viabilité pour les tests de confrontation. Les structures reproductrices actives et la diversité morphologique observées garantissent que les isolats sont fonctionnels et adaptés à l'évaluation de leurs interactions antagonistes.



**Figure 15** : photographies des observations microscopiques de *Botrytis cinerea* ( $\times 100$ ,  $\times 40$ )

### 2. Confrontation *in vitro* entre *Trichoderma* spp. Et *Botrytis cinerea*

#### 2.1. Dispositif expérimental

Pour évaluer les interactions antagonistes, chaque groupe des 10 catégories d'isolats de *Trichoderma* a été confronté à *Botrytis cinerea* sur des boîtes de pétri contenant du milieu PDA. Le dispositif expérimental consistait à déposer un disque de culture de *Trichoderma* spp. (Diamètre standardisé) à une extrémité de la boîte, tandis qu'un disque de *Botrytis cinerea* était placé à l'extrémité opposée. Cette disposition permettait d'observer la dynamique de croissance et les interactions entre les deux champignons dans un espace partagé. Les boîtes ont été incubées dans des conditions contrôlées (température et humidité constantes), et les résultats sont illustrés dans la Figure 16.

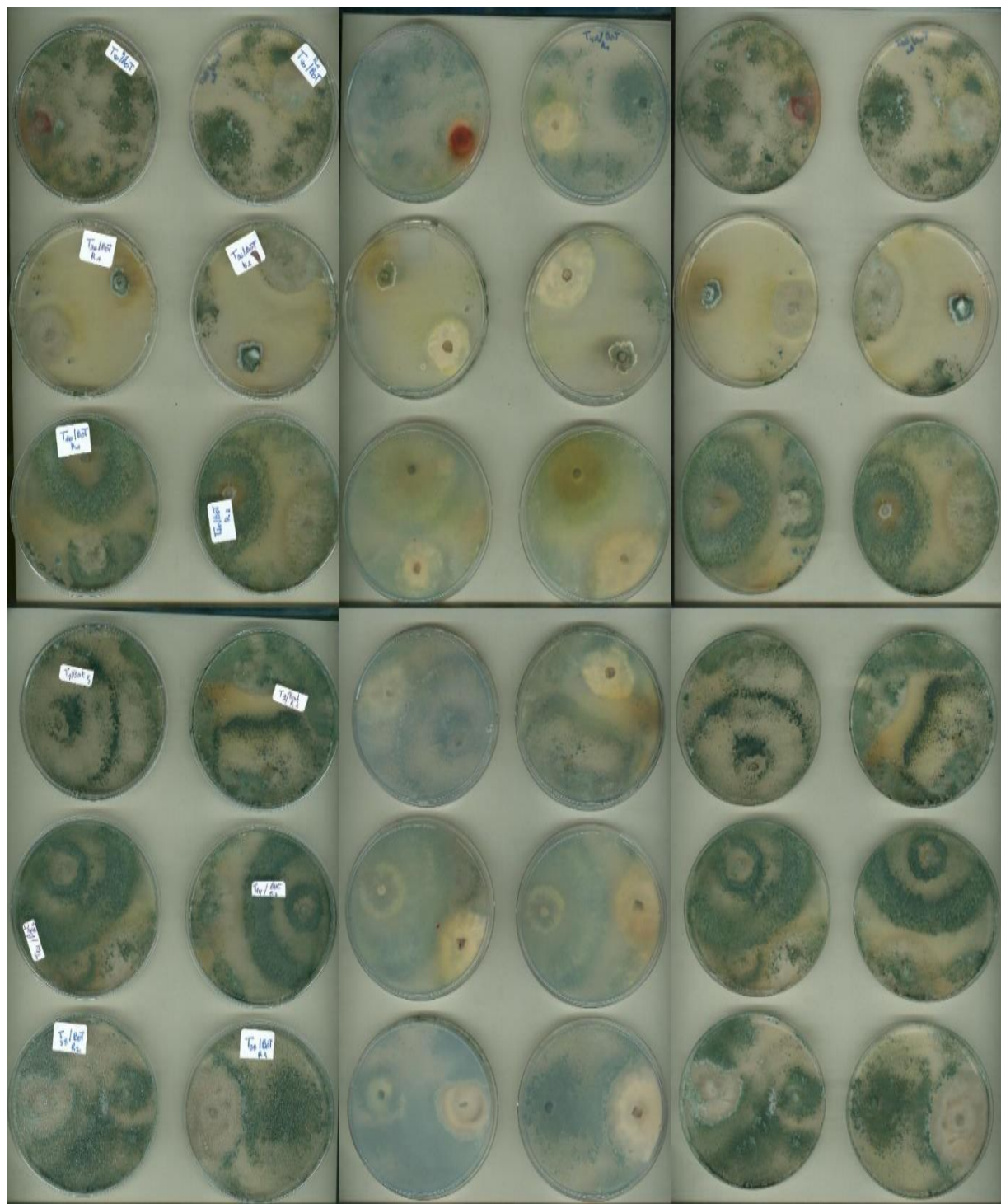
Les tests ont été réalisés en deux répétitions, et des témoins ont été mis en place pour chaque champignon afin d'évaluer leur croissance sans compétition.

## Résultats

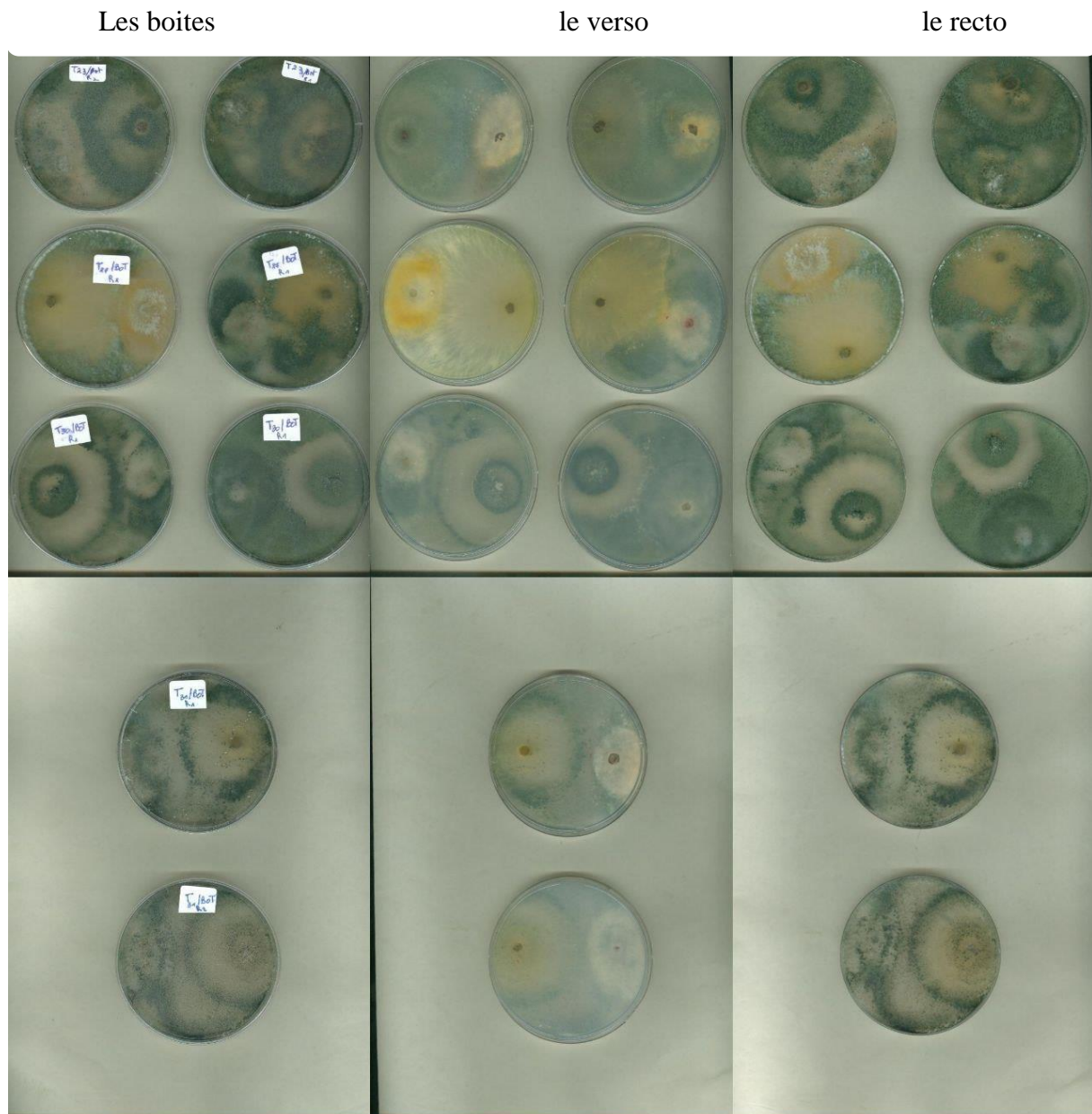
Les boîtes

le verso

le recto



## Résultats



**Figure 16 :** Photographies des boîtes de pétri montrant la confrontation *in vitro* entre les isolats de *Trichoderma* spp. (Regroupés en 10 catégories) et *Botrytis cinerea* sur milieu PDA, mettant en évidence les effets antagonistes tels que l'inhibition de croissance, le mycoparasitisme et les zones de contact.

### 2.2. Évaluation de l'effet antagoniste

L'analyse des confrontations a permis d'identifier plusieurs mécanismes d'antagonisme exercés par *Trichoderma* spp sur *Botrytis cinerea*, détaillés ci-dessous :

#### . Croissance relative des deux champignons

Dans la majorité des boîtes, *Trichoderma* spp. A dominé *Botrytis cinerea* en termes de croissance. Les isolats de *Trichoderma* ont formé des colonies denses, souvent verdâtres, qui ont progressivement envahi l'espace occupé par *Botrytis*. Cette supériorité reflète une vitesse

de croissance plus rapide et une capacité compétitive élevée de *Trichoderma*, observable sur les photographies de la Figure 16.

### **. Inhibition de la croissance de *Botrytis cinerea***

Une réduction significative du diamètre de la colonie de *Botrytis cinerea* a été constatée dans les boîtes où *Trichoderma* spp était présent, par rapport à des témoins sans confrontation. L'avancement du mycélium de *Botrytis* était soit stoppé, soit fortement limité, indiquant un effet compétitif marqué de *Trichoderma*. Cet effet pourrait être attribué à la compétition pour les nutriments ou à l'espace, un mécanisme clé dans les interactions fongiques.

### **. Dégradation et envahissement de *Botrytis* par *Trichoderma***

Dans certaines boîtes, *Trichoderma* spp. presque totalement recouvert *Botrytis cinerea*, un phénomène suggestif de mycoparasitisme. Des zones de lyse ou de décoloration du mycélium de *Botrytis* étaient visibles, probablement dues à la production d'enzymes hydrolytiques (telles que des chitinases ou des glucanases) par *Trichoderma*. Ces observations, illustrées dans la Figure 16, confirment la capacité de certains isolats à parasiter directement leur adversaire.

### **. Différenciation des zones de contact**

Deux types de zones de contact ont été observés :

- Dans certains cas, une zone d'inhibition nette séparait les deux champignons, suggérant la diffusion de métabolites antifongiques par *Trichoderma* spp. Cette barrière, visible comme un espace dépourvu de mycélium, indique une inhibition à distance.
- Dans d'autres cas, *Trichoderma* colonisait directement *Botrytis*, sans zone d'inhibition marquée, ce qui est caractéristique d'un antagonisme agressif par contact physique et parasitisme. Ces variations sont également documentées dans la Figure 16.

### **2.3. Mesure des zones d'inhibition**

Les zones d'inhibition ont été quantifiées en mesurant la distance (en cm) entre le centre du disque de *Botrytis cinerea* et la dernière zone visible de restriction mycélienne, correspondant à l'avancée maximale du mycélium de *Botrytis* en présence de *Trichoderma* spp. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque souche de *Trichoderma* confrontée à *Botrytis*, et le pourcentage d'inhibition a été calculé en comparant la meilleure répétition à la croissance du témoin (*Botrytis* seul, 5,8 cm). Les résultats sont présentés dans le Tableau 1 ci-dessous :

## Résultats

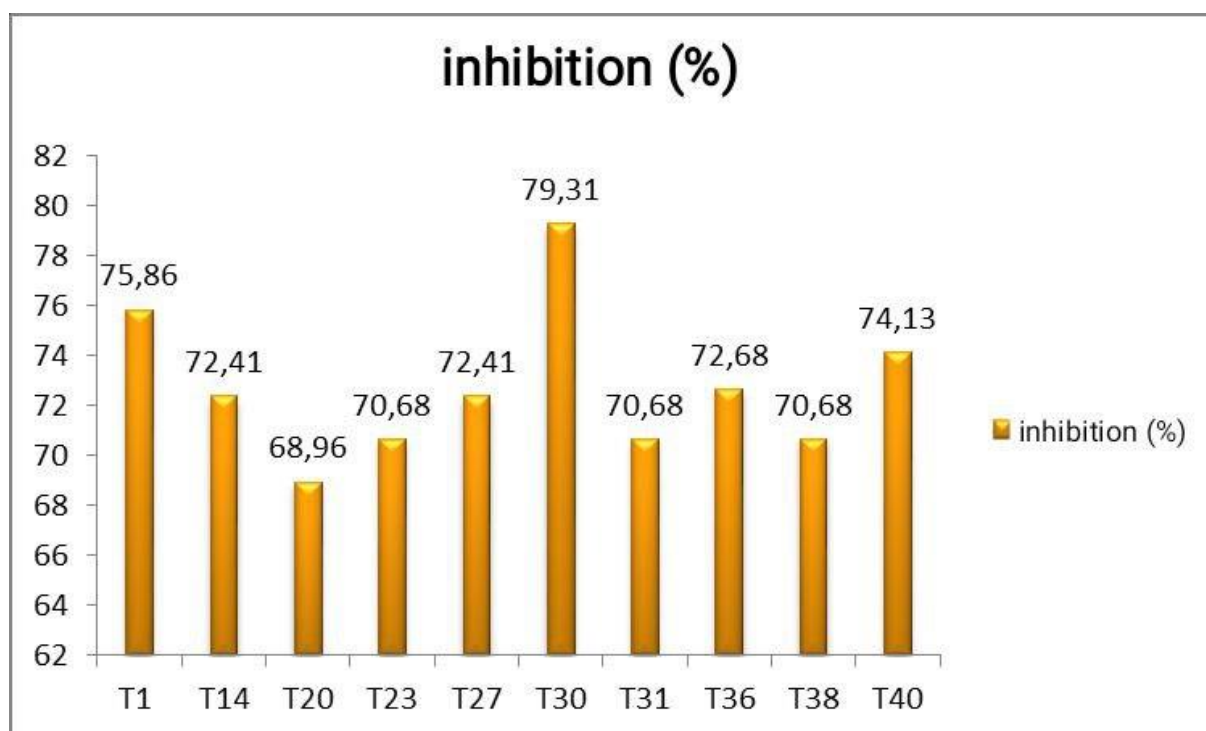
**Tableau 1:** Mesures des zones d'inhibition (en cm) et pourcentage d'inhibition de *Botrytis cinerea* par différents isolats de *Trichoderma* sur milieu PDA.

Isolat de confrontation	Répétition 1	Répétition 2	Le pourcentage d'inhibition de la meilleure répétition
T1/ <i>botrytis</i>	1,4	1,2	75,86
T14/ <i>botrytis</i>	1,6	1,6	72,41
T20/ <i>botrytis</i>	1,5	1,8	68,96
T27/ <i>botrytis</i>	1,3	1,6	72,41
T30/ <i>botrytis</i>	1,1	1,2	79,31
T23/ <i>botrytis</i>	0,7	1,7	70,68
T31/ <i>botrytis</i>	1,4	1,7	70,68
T36/ <i>botrytis</i>	1,4	1,6	72,41
T38/ <i>botrytis</i>	1,7	1,2	70,68
T40/ <i>botrytis</i>	1,5	0,9	74,13
Témoin <i>botrytis</i>	5,8	5,8	0

L'analyse des résultats a permis d'établir un classement des isolats selon leur pouvoir inhibiteur. L'isolat T30 s'est distingué par son efficacité maximale, affichant un pourcentage d'inhibition de 79,31 % contre *Botrytis cinerea*, correspondant à une zone d'inhibition moyenne de 1,15 cm. Les isolats T1 (75,86 %) et T40 (74,13 %) ont également montré une forte capacité antagoniste. À l'inverse, la souche T20, avec un pourcentage d'inhibition de 68,96 %, bien que notable, se situe parmi les moins performantes du groupe testé. Ces données quantitatives confirment les observations qualitatives de la section 2.2, notamment la présence de zones d'inhibition et la dominance de *Trichoderma*.

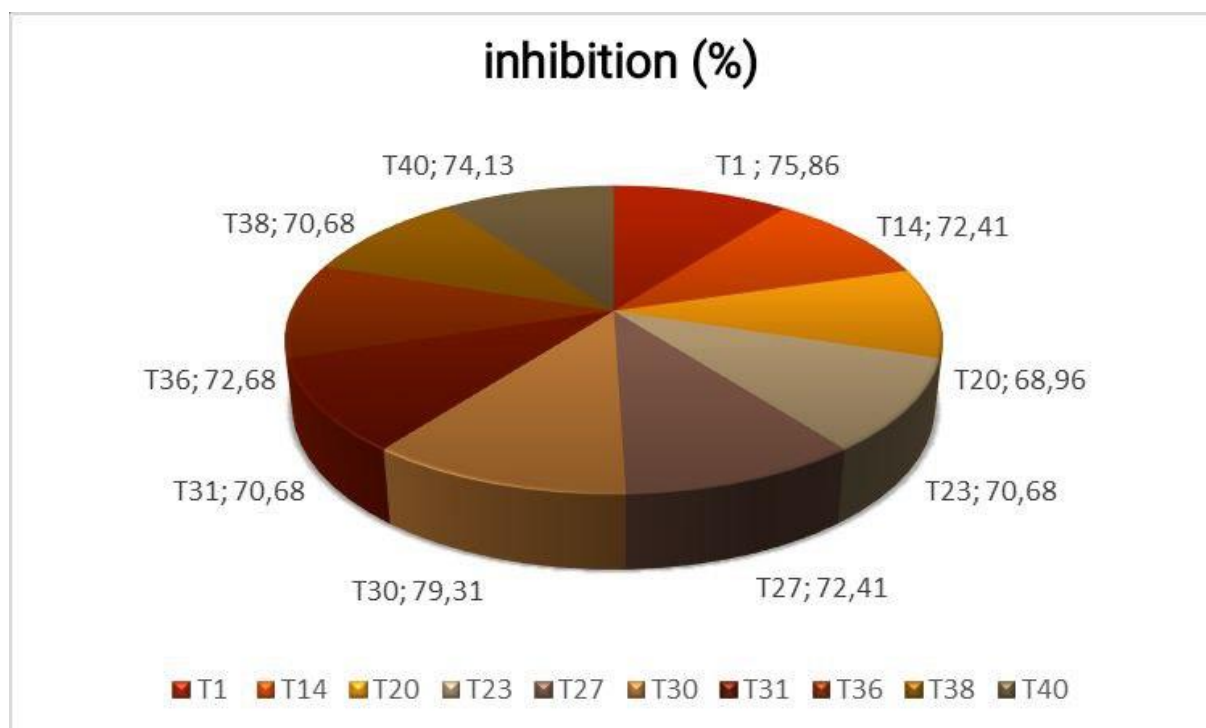
### 2.4. Analyse statistique et représentation graphique

Les données obtenues ont été analysées à l'aide d'Excel.



**Figure 17:** un histogramme comparant les zones d'inhibition entre les différents groupes

Un diagramme circulaire a également été élaboré pour illustrer la répartition des niveaux d'inhibition observés.



**Figure 18 :** le diagramme circulaire montrant la répartition des pourcentages d'inhibition.

### Discussion

L'étude menée sur l'antagonisme de *Trichoderma* spp. Vis-à-vis de *Botrytis cinerea* a permis de mettre en évidence le potentiel biocontrôlant de certaines souches fongiques isolées à partir de sols agricoles. Les résultats obtenus montrent que parmi les 40 souches évaluées, certaines, comme T30, ont présenté un effet inhibiteur très significatif, réduisant la croissance mycélienne de *B. cinerea* de manière marquée. Ce pouvoir antifongique est attribuable à plusieurs mécanismes d'action bien documentés dans la littérature, notamment le mycoparasitisme, l'antibiose et la compétition pour les nutriments et l'espace.

La diversité morphologique observée chez les différentes souches de *Trichoderma*, notamment les variations de couleur, de texture, de vitesse de croissance et de production d'exsudats, traduit une richesse génétique et métabolique importante. Ces différences phénotypiques reflètent probablement des adaptations écologiques distinctes et une production variable d'enzymes et de métabolites antifongiques. En effet, des études antérieures ont montré que certaines espèces du genre *Trichoderma*, telles que *T. harzianum*, *T. viride* ou *T. asperellum*, sont capables de produire une large gamme d'enzymes hydrolytiques, comme les chitinases et les glucanases, qui dégradent la paroi cellulaire des champignons pathogènes (Benítez *et al*, 2004 ; Harman *et al*, 2004).

Le mécanisme de mycoparasitisme, fréquemment rapporté chez *Trichoderma* spp, a été manifestement observé dans cette étude à travers la lyse du mycélium de *B. cinerea* lors des confrontations directes. De plus, la formation de zones claires autour des colonies de *Trichoderma* suggère la sécrétion de métabolites antifongiques diffusibles, susceptibles d'inhiber la croissance du pathogène avant même le contact physique. Ces observations sont en accord avec les résultats de Vinale *et al*. (2008), qui ont décrit la production de composés volatils et non volatils par certaines souches de *Trichoderma*, capables d'interférer avec le métabolisme des champignons phytopathogènes.

L'isolat T30, qui a démontré un taux d'inhibition de plus de 79 %, se distingue par sa rapidité de croissance et sa capacité à coloniser efficacement le milieu, ce qui reflète une forte compétitivité. De telles performances ont été rapportées dans d'autres travaux, notamment par Gan *et al*. (2016), qui ont évalué l'efficacité de souches de *Trichoderma* contre *B. cinerea* et ont constaté des inhibitions dépassant 90 % dans certaines conditions expérimentales. Toutefois, il est important de noter que les résultats obtenus *in vitro* ne garantissent pas

## Discussion

nécessairement une efficacité identique en conditions réelles. C'est pourquoi des essais *in vivo* restent indispensables pour confirmer ces observations et valider l'utilisation pratique de ces souches dans un contexte agricole.

En parallèle, l'utilisation de *Trichoderma* spp. Comme agent de biocontrôle s'inscrit parfaitement dans une démarche de protection intégrée des cultures, réduisant le recours aux fongicides de synthèse souvent associés à des effets indésirables sur l'environnement et la santé humaine. La nature multifactorielle des mécanismes d'action de *Trichoderma* limite également l'apparition de résistances chez les agents pathogènes, contrairement aux pesticides chimiques à mode d'action unique (Lorito *et al*, 2010). En outre, certaines souches sont également connues pour stimuler les défenses naturelles des plantes en induisant une résistance systémique acquise, ce qui confère une protection plus durable contre un large éventail de pathogènes (Harman *et al*, 2004 ; Hermosa *et al*, 2012).

Ces résultats ouvrent la voie à une sélection plus poussée des souches les plus prometteuses. Il serait notamment pertinent d'entreprendre des caractérisations moléculaires des souches efficaces afin d'identifier leur espèce précise, leurs gènes d'intérêt et leur profil enzymatique. L'isolat T30 représente un excellent candidat pour de telles investigations, notamment pour la formulation de biopesticides ou d'inoculant microbiens. Par ailleurs, une évaluation de sa stabilité, de sa compatibilité avec d'autres agents de biocontrôle ou intrants agricoles, ainsi que de son efficacité sur différentes cultures, permettrait de valider son potentiel sur le terrain.

En somme, cette étude met en lumière l'efficacité de certaines souches de *Trichoderma* spp. Dans la lutte biologique contre *B. cinerea*, et souligne l'intérêt croissant pour ces microorganismes comme alternative écologique aux traitements chimiques. Elle s'inscrit dans une dynamique globale de développement d'une agriculture plus durable, fondée sur l'utilisation de ressources biologiques naturellement présentes dans les sols, tout en préservant la santé des écosystèmes agricoles.

Conclusion

## Conclusion

Les maladies fongiques, notamment la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea*, menacent la production agricole, notamment celle de la fève (*Vicia faba*). L'usage excessif de fongicides chimiques favorise l'émergence de souches résistantes et pose des risques environnementaux et sanitaires, rendant nécessaire le développement d'alternatives durables.

Cette étude a évalué le potentiel de *Trichoderma* comme agent de biocontrôle contre *B. cinerea* en conditions de laboratoire. Les résultats ont révélé l'efficacité de certains isolats grâce à des mécanismes tels que la compétition pour les nutriments, la production de métabolites antifongiques.

Ces résultats confirment l'intérêt de *Trichoderma* dans la lutte biologique et ouvrent la voie à son intégration dans les stratégies de protection des cultures. Toutefois, des études complémentaires en conditions réelles sont essentielles pour optimiser son efficacité et assurer une gestion durable des maladies fongiques.

## **Annexe**

### **. Protocole de préparation du milieu PDA (Potato Dextrose Agar)**

La composition du milieu PDA (Potato Dextrose Agar) est la suivante :

- Pomme de terre : 200 g
- Glucose : 20 g
- Agar agar : 15 g
- Eau distillée : 1000 ml

### **Méthode de préparation**

#### **1. Préparation de l'extrait de pomme de terre**

- Couper 200 g de pommes de terre en morceaux.
- Faire bouillir dans 500 ml d'eau distillée pendant 30 minutes.
- Filtrer et récupérer le filtrat.

#### **2. Préparation du milieu**

- Ajouter 20 g de glucose et 15 g d'agar dans le filtrat obtenu.
- Compléter à 1 L avec de l'eau distillée.
- Chauffer en remuant jusqu'à dissolution complète de l'agar.

#### **3. Stérilisation**

- Verser le milieu préparé dans des flacons en verre.
- Stériliser en autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

#### **4. Constitution des boîtes de Pétri**

- Laisser refroidir à 45-50 °C.
- Verser dans des boîtes de Pétri stériles.
- Laisser solidifier.

#### **5. Stockage**

- Conserver à 4 °C jusqu'à utilisation.

Références bibliographiques

## Références bibliographiques

1. Abro M.A (2013). Nitrogen fertilization of the host plant influences susceptibility, production and pathogenicity of *Botrytis cinerea* secondary inoculum, as well as the efficacy of biological control. Phd Thesis. University of Avignon. France.
2. Adnan, M., Islam, W., Shabbir, A., Khan, K. A., Ghramh, H. A., Huang, Z., Chen, H.-Y., & Lu, G.-D. (2019). Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis*, 129, 7–18. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.042>
3. Alfiky A., Weisskopf L. (2021). Décrypter les interactions *Trichoderma*-plante-pathogène pour un meilleur développement d'applications de biocontrôle. *J. Champignons* 7:61. doi : 10.3390/jof7010061.
4. Angiosperm Phylogeny Group (2009). "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III". *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2): 105–121. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2009.00996.x>
5. Aswani R., Roshmi T., Radhakrishnan E. K. (2022). Induction de la réponse de défense des plantes par des micro-organismes endophytes. Dans les mécanismes de biocontrôle des micro-organismes endophytes. Academic Press. 89–115
6. Baptista F.J., Bailey B.J., Meneses J.F (2011). Development of a warning system for controlling *Botrytis cinerea* in unheated tomato greenhouses. *Acta. Hort.* 893 :1263-1269.
7. Bashi, E., Gana, M. L., & Samad, A. (2019). Alternatives to chemical fungicides for control of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology*, 154(3), 677-690.
8. Bazghaleh N., Prashar P., Woo S., Vandenberg A. (2020). Effets du génotype de la lentille sur la colonisation des espèces bénéfiques de *Trichoderma* et la lutte biologique contre la pourriture des racines d'Aphanomyces. *Micro-organismes* 8:1290. doi : 10.3390/microorganisms8091290
9. Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. *International Microbiology*, 7(4), 249-260.
10. Bissett J, Gams W, Samuels GJ (2015) Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus* 6:263–295

## Références bibliographiques

11. Bissett, J. M. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany, 69(6), 1123–1140. <https://doi.org/10.1139/b91-146>
12. Blancard, D. (2013). Courgette & courges - Moisissure grise (*Botrytis cinerea*). Ephytia, INRAE. Consulté le [28 février 2025], l'adresse <https://ephytia.inra.fr/fr/C/8054/Courgette-courges-Moisissure-grise-Botrytis-cinerea>
13. Blancard, D., Laterrot, H., Marchoux, G. et Candresse, T., 2009. Les maladies de la tomate : identifier connaître maîtriser. Ed. Quae. Paris. 679 pp.
14. Bogumił, A., Dębski, B., Kaczmarek, M., Adamska, I., & Biliński, P. (2013). Identification of new *Trichoderma* strains with antagonistic activity against *Botrytis cinerea*. Folia Horticulturae, 25(2), 123–132. <https://doi.org/10.2478/fhort-2013-0014>
15. Bongiorno VA, Rhoden SA, Garcia A, Polonio JC, Azevedo JL, Pereira JO, Pamphile JA (2016) Genetic diversity of endophytic fungi from *Coffea arabica* cv. IAPAR-59 in organic crops. Ann Microbiol 66 855–865.
16. Bouanaka, H., Bellil, I., Harrat, W., Boussaha, S., Benbelkacem, A., & Khelifi, D. (2021b). On the biocontrol by *Trichoderma afroharzianum* against *Fusarium culmorum* responsible for *Fusarium* head blight and crown rot of wheat in Algeria. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 31, Article 68. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00416-3>
17. Bouznad, Z. (2001). Maladies de légumineuses alimentaire en Algérie .Institut National de la Protection des Végétaux (INPV), Alger, Algérie
18. Brent, K.J., Hollomon, D.W., (2007). Fungicide Resistance: The Assessment of Risk (Brussels, Belgium: CROPLIFE INTERNATIONAL).
19. Brink, M., & Belay, G. (2006). Faba bean: *Vicia faba* L. In Plant Resources of Tropical Africa 2: Legumes. PROTA Foundation.
20. Brotman, Y., Raanan, Z., & Shapira, R. (2013). *Trichoderma* spp. as biological control agents. Plant Disease Journal, 97(4), 425-430.
21. CANNA Canada. (s.d.). *Botrytis cinerea* : Un ravageur de culture très infectieux – en détail. Consulté le 16 avril 2025, à l'adresse : <https://www.canna.ca/fr/articles/botrytis-cinerea-un-ravageur-de-culture-tres-infectieux-en-detail>
22. Caracuta, V., Weinstein-Evron, M., Kaufman, D., Yeshurun, R., Silvent, J., & Boaretto, E. (2015). The onset of agriculture in the southern Levant. Scientific Reports, 5, 13566

## Références bibliographiques

23. Chaux, P., & Foury, J. (1994). La fève : biologie et culture. Editions Lavoisier.
24. Chen J., Zhou L., Din I. U., Arafat Y., Li Q., Wang J., et al. (2021). L'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. contre *Fusarium oxysporum* dans la rhizosphère des radix pseudostellariae déclenche l'expression des gènes de défense de l'hôte et améliore sa croissance dans un système de monoculture à long terme. *Devant. Microbiol.* 12 :579920. doi : 10.3389/fmicb.2021.781826.
25. Clark, C. A., & Lorbeer, J. W. (1977). Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *B. cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. *Phytopathology*, 67(2), 212-218.
26. COUDERCHET, M. (2003). Benefits and problems of fungicide control of *Botrytis cinerea* in vineyards of Champagne. *VITIS-GEILWEILERHOF*-, 42(4), 165-172.
27. Cubero, J. I. (1974). On the evolution of *Vicia faba* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 45(2), 47–51.
28. De Miccolis Angelini, R.M., Habib, W., Rotolo, C., Pollastro, S., and Faretra, F., (2010). Selection, characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to the fungicide boscalid. *Eur. J. Plant. Pathol.* 128,185–199.
29. Dean, R., Van Kan, J.A.L., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., et al. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 13, 414–430.
30. Decognet V., Ravetti F., Martin C., Nicot P.C (2010). Improved leaf pruning reduces development of stem cankers caused by grey mould in greenhouse tomatoes. *Agron. Sustain. Dev.* 30: 465-472.
31. Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1), 25–38. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80007-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80007-3)
32. Duc, G. (1997). Les légumineuses de l'agriculture. INRA Éditions.
33. Elad, Y., Chet, I., & Benhamou, N. (2016). Biological control of *Botrytis cinerea* with *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 106(6), 671-679.
34. El-Hasan A., Walker F., Klaiber I., Schöne J., Pfannstiel J., Voegelé R. T. (2022). Nouvelles approches de lutte contre la rouille asiatique du soya (*Phakopsora pachyrhizi*) à l'aide de *Trichoderma* spp. ou de leurs métabolites secondaires antifongiques. *Méta* 12:507. doi : 10.3390/metabo12060507
35. Ellis D (2013) *Mycology Online Method, Trichoderma*, 2013

## Références bibliographiques

36. Evans, L. T. (1959). The physiology of the faba bean (*Vicia faba* L.). Australian Journal of Agricultural Research, 10(1), 43–63.
37. Faretra, F., and Antonacci, E. (1987). Production of apothecia of *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetz. under controlled environmental conditions. Phytopathol. Mediterr. 26, 29.35.
38. Faretra, F., Antonacci, E., and Pollastro, S. (1988). Sexual Behaviour and Mating System of *Botryotinia fuckeliana*, Teleomorph of *Botrytis cinerea*. Microbiology 134, 2543–2550.
39. Fernández-Ortuño, D., Chen, F., and Schnabel, G., (2012). Resistance to Pyraclostrobin and Boscalid in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry fields in the Carolinas. Plant Dis. 96,1198-1203.
40. Fillinger, S., & Elad, Y. (2015). Botrytis – the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems : Springer International Publishing.
41. Gams, W., & Bissett, J. M. (2002). Morphology and identification of *Trichoderma*. In G. E. Harman & C. P. Kubicek (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*: Vol. 1. Basic Biology, Taxonomy and Genetics (pp. 3–34). Taylor & Francis.
42. Giraud, M. (2020). Pomme - Biologie, épidémiologie. Ephytia, INRAE. Consulté le [28 février 2025], à l'adresse <https://ephytia.inra.fr/fr/C/22138/Pomme-Biologie-epidemiologie>
43. Gomes E. V., Costa M., de Paula R. G., de Azevedo R. R., da Silva F. L., Noronha E. F., et al. (2015). La protéine Cérato-Platanine Epl-1 de *Trichoderma harzianum* est impliquée dans le mycoparasitisme, l'induction de la résistance des plantes et la protection de la paroi autocellulaire. Sci. Rep. 5:17998. doi : 10.1038/srep17998.
44. Guen, J. & Duc, G. (1996). La féverole. In : Gallais, A. & Bannerot, H. (éds), Amélioration des espèces végétales cultivées : objectifs et critères de sélection, INRA, Paris, pp. 189–203.
45. Guo Y., Ghirardo A., Weber B., Schnitzler J. P., Benz J. P., Rosenkranz M. (2019). Les espèces de *Trichoderma* diffèrent par leurs profils volatils et par leur antagonisme envers l'ectomycorhize *Laccaria bicolor*. Devant. Microbiol. 10:891. doi : 10.3389/fmicb.2019.00891
46. Halifu S., Deng X., Song X., Song R., Liang X. (2020). Mécanisme inhibiteur de *Trichoderma virens* ZT05 sur *Rhizoctonia solani*. Plan. Théorie 9:912. doi : 10.3390/plants9070912

## Références bibliographiques

47. Hamadache, M. (2003). Contribution à l'étude agronomique de la fève (*Vicia faba* L.) dans les systèmes de culture en région semi-aride. Mémoire d'Ingénieur Agronome, Institut National Agronomique (INA), Alger, Algérie.
48. Han, Y., Joosten, H.J., Niu, W., Zhao, Z., Mariano, P.S., McCalman, M., van Kan, J., Schaap, P.J., & Dunaway-Mariano, D. (2007). Oxaloacetate hydrolase, the C-C bond lyase of oxalate secreting fungi. *Journal of Biological Chemistry*, 282(13), 9581-9590.
49. Hargreaves, J. A., Mansfield, J. W., & Rossall, S. (1977). Changes in phytoalexin concentrations in tissues of the broad bean plant (*Vicia faba* L.) following inoculation with species of *Botrytis*. *Physiological Plant Pathology*, 11(3), 227-242.
50. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma species* - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56.
51. Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. *Trichoderma species*—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*. Volume : 2. Numéro : 1. Pages : 43–56 année : 2004
52. Hermosa, R., Vázquez, C., & Monte, E. (2000). *Trichoderma*: Biology and applications in agriculture. In F. L. W. Timmis (Ed.), *Handbook of Applied Mycology* (Vol. 5, pp. 423–441). Marcel Dekker, Inc.
53. Herrera-Téllez V. I., Cruz-Olmedo A. K., Plasencia J., Gavilanes-Ruíz M., Arce-Cervantes O., Hernández-León S., et al. (2019). L'effet protecteur de *Trichoderma asperellum* sur les plants de tomates contre les maladies de *Fusarium oxysporum* et de *Botrytis cinerea* implique l'inhibition de la production d'espèces réactives de l'oxygène. *Int. J. Mol. Sci.* 20:2007. doi :10.3390/ijms20082007
54. Holz, G., Coertze, S., & Williamson, B. (2007). The ecology of *Botrytis* on plant surfaces. In *Botrytis: Biology, pathology and control* (pp. 9-27). Springer, Dordrecht.
55. Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological
56. <https://c8.alamy.com/compfr/anf5ec/spot-botrytis-fabae-chocolat-lesions-sur-champ-ou-feuilles-de-feve-vicia-faba-anf5ec.jpg>
57. [https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQTdkq7-I4Z7uRFjn\\_LsydH4mhLMYwJhmT9Vbt5DWAf0QbPjnv0NDeyEwMOhIfbEcWnNvE&usqp=CAU](https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQTdkq7-I4Z7uRFjn_LsydH4mhLMYwJhmT9Vbt5DWAf0QbPjnv0NDeyEwMOhIfbEcWnNvE&usqp=CAU).
58. <https://media.gettyimages.com/id/1942917025/fr/vectoriel/ornamental-and-flowering-plants-plant-kingdom-victorian-botanical-illustration-circa->

## Références bibliographiques

- 1853.jpg?s=612x612&w=0&k=20&c=y8E2Vfw-6m-P7qwvq7EYA68KblSRfGSDxOHNswb77MY
59. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10189891/#:~:text=Trichoderma%20can%20degrade%20the%20cell,caused%20the%20mycelium%20of%20F>.
60. <https://www.gettyimages.fr/detail/photo/pile-of-broad-beans-image-libre-de-droits/182883838>
61. Jarvis, W. R. (1977). *Botryotinia and Botrytis species: taxonomy, physiology and pathogenicity-A guide to the literature*.
62. Jensen, B., Blom, D., & Jensen, P. (2010). Biological control of plant diseases with *Trichoderma* and other biocontrol agents. *Biological Control*, 53(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.02.001>
63. Jersch, S., Scherer, C., Huth, G., & Schlösser, E. (1989). Proanthocyanidins as basis for quiescence of *Botrytis cinerea* in immature strawberry fruits/Proanthocyanidine als Ursache der Quieszenz von *Botrytis cinerea* in unreifen Erdbeerfrüchten. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 365-378.
64. Khaldi, A., Hadj-Seleem, A., & Ghezali, M. (2002). Effets des légumineuses sur la fertilité des sols et les rendements des cultures céréalières. *Revue des Régions Arides*, 11(1), 45–52.
65. Kim, Y.K., and Xiao, C.L., (2011). Stability and fitness of pyraclostrobin and boscalid-resistant phenotypes in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology* 101,1385-1391.
66. Kretschmer, M., and Hahn, M., (2008). Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany. *J. Plant Dis. Prot.* 115, 214–219.
67. Kubicek, C. P., & Harman, G. E. (2002). *Trichoderma and Gliocladium*. Vol. 1: Basic biology, taxonomy and genetics.
68. Kubicek, C. P., Staver, M. A., & Peter, M. (2008). *Trichoderma*: From basic biology to biotechnology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80(5), 929–942. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1625-4>
69. Kubicek, C.P., Mach, R.L., Peterbauer, C.K., & Lorito, M. (2003). *Trichoderma*: From genes to biocontrol. *Journal of Plant Pathology*, 85(2), 107–123.

## Références bibliographiques

70. Kuhls, K., Chet, I., & Paster, M. (1997). Molecular characterization of *Trichoderma* species and their application in biological control. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(2), 382–388. <https://doi.org/10.1128/AEM.63.2.382-388.1997>
71. LEROUX, P. (2003). Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 326(1), 9-21.
72. Leroux, P., Fritz, R., Debieu, D., Albertini, C., Lanen, C., Bach, J., Gredt, M., and Chapeland F., (2002). Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest. Manag. Sci.* 58, 876–888.
73. Linnaeus, C. (1753). *Species Plantarum*, vol. 2, p. 736. Stockholm: Laurentii Salvii.
74. Martinez, F., Dubos, B., and Fermaud, M., (2005). The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Phytopathology* 95, 692-700.
75. Maruyama C. R., Bilesky-José N., de Lima R., Fraceto L. F. (2020). L'encapsulation de *Trichoderma harzianum* préserve l'activité enzymatique et augmente le potentiel de lutte biologique. *Devant. Bioeng. Biotechnologique.* 8:225. doi : 10.3389/fbioe.2020.00225
76. Maufras, J. Y. (1985). Les maladies des fèveroles. *Phytoma*, pp 46-48.
77. Mohiddin F. A., Padder S. A., Bhat A. H., Ahanger M. A., Shikari A. B., Wani S. H., et al. (2021). Phylogénie et optimisation de *Trichoderma harzianum* pour la production de chitinase : évaluation de leur comportement antifongique contre les phyto-pathogènes dominants véhiculés par le sol de l'Inde tempérée. *Micro-organismes* 9:1962. doi : 10.3390/microorganisms9091962,
78. Monfil V. O., Casas-Flores S. (2014). Mécanismes moléculaires de la biolutte chez *Trichoderma* spp. et leurs applications en agriculture. *Biotechnologique. Biol. Trichoderma* 8:447. doi :10.1016/B978-0-444-59576-8.00032-1
79. Muangnak, J. (2021). *Trichoderma harzianum* spore and hyphae under the microscope 400x [Photographie]. Shutterstock. <https://www.shutterstock.com/image-photo/trichoderma-harzianum-spore-hyphae-under-microscope-2016640874>
80. Mulaw, T., Woyessa, D., & Muleta, D. (2010). Antagonistic activity of *Trichoderma* species isolated from rhizosphere soils against some plant pathogenic fungi. *Journal of Agricultural Technology*, 6(3), 531–543.
81. Nawrocka J., Małolepsza U., Szymczak K., Szczech M. (2018). Implication des composants métaboliques, des composés volatils, des protéines PR et du renforcement

## Références bibliographiques

- mécanique dans la protection multicouche des plants de concombre contre *Rhizoctonia solani* activé par *Trichoderma atroviride* TRS25. Protoplasma 255, 359–373. doi : 10.1007/s00709-017-1157-1
82. Nicot, P. C., & Bardin, M. (2012). Biological control of *Botrytis cinerea* in tomato and strawberry: Microorganisms, potential, and challenges. In S. Bautista-Baños (Ed.), Postharvest Decay: Control Strategies (pp. 273–298). Elsevier.
83. Nicot, P. C., Bardin, M., & Fargues, J. (2011). Biopesticides in the context of Integrated Pest Management. In P. Stoytcheva (Ed.), Pesticides in the Modern World – Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment (pp. 123–146).
84. Nicot, P. C., Bardin, M., Fargues, J., & Nicot, P. (2011). Biological control in greenhouse crops: Successes and challenges. In E. Lichtfouse (Ed.), Sustainable Agriculture Volume 2 (pp. 405–426). Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0\\_27](https://doi.org/10.1007/978-94-007-0394-0_27)
85. Nicot, P. C., Mermier, M., Vaissiere, B. E., & Lagier, J. (1996). Differential spore production by *Botrytis cinerea* on agar medium and plant tissue under near-ultraviolet light-absorbing polyethylene film. Plant Disease, 80(5), 555-558.
86. Nicot, P.C., Stewart, A., Bardin, M., and Elad, Y. (2016). Biological Control and Biopesticide Suppression of *Botrytis*-Incited Diseases. In *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems*, (Springer, Cham), pp. 165–187.
87. Nouar, H. (2007). Étude de la fixation symbiotique de l’azote chez *Vicia faba* L. en relation avec les conditions édaphiques en Algérie. Mémoire de Magistère, Université de Tizi-Ouzou, Algérie.
88. Papvc, S. (2009). La fève dans les systèmes de culture méditerranéens : rôle et perspectives. Cahiers Agricultures, 18(3), 240–246.
89. Persoon, C. H. (1794). Observationes mycologicae, seu descriptiones tam novorum quam notabilium fungorum, quae tum in Germania, tum in Batavia proponuntur. Leipzig: Petrum Philippum Wolf.
90. Pitchay, D. S., Frantz, J. M., Locke, J. C., Krause, C. R., & Fernandez, G. C. (2007). Impact of applied nitrogen concentration on growth of elatior begonia and New Guinea impatiens and susceptibility of begonia to *Botrytis cinerea*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 132(2), 193-201.
91. Pitrat M et Foury C, Histoire de légumes, Paris, Institut national de la recherche agronomique, 2003, p. 344

## Références bibliographiques

92. Prusky, D., & Lichter, A. (2007). Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage. *FEMS microbiology letters*, 268(1), 1-8.
93. Rachef, A., Benmahammed, A., & Bouzerzour, H. (2005). Apport azoté des légumineuses dans les rotations culturales en région steppique. *Revue des Sciences Agronomiques*, 22(2), 67–74.
94. Rasool Azarmi (2011) Effect of *Trichoderma* isolates on tomato seedling growth response and nutrient uptake. *Afr J Biotechnol*.
95. Rifai, M. A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*, 116, 1–56. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
96. Risoli S., Cotrozzi L., Sarrocco S., Nuzzaci M., Pellegrini E., Vitti A. (2022). Résistance à *Botrytis cinerea* induite par *Trichoderma* chez les espèces de *Solanum* : une méta-analyse. *Plan. Théorie* 11:180. doi : 10.3390/plants11020180,
97. Samuels G (2004) Changes in Taxonomy, Occurrence of the Sexual Stage and Ecology of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 195–206
98. Samuels, G. J. (1996). *Trichoderma*: Systematics, the sexually deceptive species, and biology. *Mycological Research*, 100(7), 923–935. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(96\)80008-6](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(96)80008-6)
99. Samuels, G. J. (2006). *Trichoderma*: Systematics, the sexually deceptive species, and biology. *Mycological Research*, 110(5), 484–491. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.01.017>
100. Saravanakumar K., Li Y., Yu C., Wang Q. Q., Wang M., Sun J., et al. (2017). Effet de *Trichoderma harzianum* sur le microbiome de la rhizosphère du maïs et la lutte biologique contre la pourriture fusarienne. *Sci. Rep.* 7:1771. doi : 10.1038/s41598-017-01680-w,
101. Sharma S, Kour D, Rana KL, Dhiman A, Thakur S, Thakur P, Thakur S, Thakur N, Sudheer S, Yadav N, Yadav AN, Rastegari AA, Singh K (2019) *Trichoderma*: biodiversity, ecological significances, and industrial applications. In: Yadav AN, Mishra S, Singh S, Gupta A (eds) *Recent advancement in white biotechnology through fungi, Diversity and enzymes perspectives*, vol 1. Springer, Cham, pp 85–120.
102. Shaw S., Le Cocq K., Paszkiewicz K., Moore K., Winsbury R., de Torres Zabala M., et al. (2016). La reprogrammation transcriptionnelle sous-tend la

## Références bibliographiques

- promotion accrue de la croissance des plantes par le champignon de lutte biologique *Trichoderma hamatum* GD12 lors d'interactions antagonistes avec *Sclerotinia sclerotiorum* dans le sol. Mol. Plant Pathol. 17, 1425–1441. doi : 10.1111/mpp.12429
103. Shiraishi, M., FUKUTOMI, M., & AKAI, S. (1970a). Effects of Temperature on the Conidium Germination and Appressorium Formation of *Botrytis cinerea* Pers. Japanese Journal of Phytopathology, 36(4), 234-236\_2.
  104. Shiraishi, M., FUKUTOMI, M., & AKAI, S. (1970b). Recovery of germinability of aged conidia of *Botrytis cinerea* Pers. by several saccharides. Japanese Journal of Phytopathology, 36(5), 297-303.
  105. Shores M., Harman G. E. (2010). Expression différentielle des chitinases de maïs en présence ou en l'absence de la souche T22 de *Trichoderma harzianum* et indications d'une nouvelle activité de la chitinase exo-endo-hétérodimérique. BMC Plant Biol. 10, 136–111. doi : 10.1186/1471-2229-10-136
  106. Shores, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. Annual Review of Phytopathology, 48, 21–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450>
  107. Skoneczny, D., Górski, R., & Król, A. (2015). Temperature and pH influence on the growth and sporulation of *Trichoderma* strains used as biological control agents. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 22(3), 487–491.
  108. Srivastava, R., Khalid, A., Singh, U.S., & Sharma, A.K. (2014). Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungus, *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas fluorescens* for the control of *Fusarium* wilt of tomato. Biological Control, 67(1), 86–93.
  109. Steiger, D. (2007, October). Global economic importance of Botrytis protection. In Book of Abstracts, 14th International Botrytis Symposium, Cape Town, South Africa (pp. 21-26). AFRICAN SUN MeDIA Pty (Ltd.).
  110. Steyaert, J.M., Weld, R.J., Loguercio, L.L., & Stewart, A. (2010). *Trichoderma* bioeffector against plant pathogens: mode of action and applications. Plant Pathology, 59(1), 22–30.
  111. Tamizi A. A., Mat-Amin N., Weaver J. A., Olumakaiye R. T., Akbar M. A., Jin S., et al. (2022). Séquençage et analyse du génome des isolats de *Trichoderma* (Hypocreaceae) présentant une activité antagoniste contre l'agent pathogène du dépérissement de la papaye, *Erwinia mallotivora*. J. Champignons 8:246. doi : 10.3390/jof8030246.

## Références bibliographiques

112. Terres Inovia. (2024, 24 mai). Diagnostiquer les maladies aériennes de la féverole à floraison. <https://www.terresinovia.fr/-/diagnostiquer-les-maladies-aerien-nes-de-la-feverole-a-floraison>.
113. Thalji, T., & Shalaldeh, G. (2006). Effect of planting date on faba bean (*Vicia faba* L.) nodulation and performance under semiarid conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2(4), 477–482.
114. Tian Y., Tan Y., Yan Z., Liao Y., Chen J., De Boevre M., et al. (2018). Potentiels antagonistes et détoxifiants des isolats de *Trichoderma* pour le contrôle de la zéaralénone (ZEN) produisant *Fusarium graminearum*. *Devant. Microbiol.* 8:2710. doi : 10.3389/fmicb.2017.02710
115. Tivoli, B., Dufresne, M., & Dube, L. (2006). Evaluation of the potential of *Trichoderma* spp. for the biocontrol of plant pathogens in agricultural systems. *Crop Protection*, 25(8), 868–876. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.02.009>
116. Tyśkiewicz R., Nowak A., Ozimek E., Jaroszuk-Ściśel J. (2022). *Trichoderma* : l'état actuel de son application en agriculture pour le biocontrôle des phytopathogènes fongiques et la stimulation de la croissance des plantes. *Int. J. Mol. Sci.* 23:2329. doi : 10.3390/ijms23042329,
117. Van Baarlen, P., Woltering, E. J., Staats, M., & van Kan, J. A. (2007). Histochemical and genetic analysis of host and non-host interactions of *Arabidopsis* with three *Botrytis* species: an important role for cell death control. *Molecular Plant Pathology*, 8(1), 41-54.
118. Veloukas, T., Leroy, M., Hahn, M., and Karaoglanidis, G.S., (2011). Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. *plant Dis.* 95, 1302-1307.
119. Verma P, Yadav AN, Kumar V, Singh DP, Saxena AK (2017) Beneficial plant microbes interactions: biodiversity of microbes from diverse extreme environments and its impact for crop improvement. In: Singh DP, Singh HB, Prabha R (eds) *Plant microbe interactions in agro-ecological perspectives: volume 2: microbial interactions and agro-ecological impacts*. Springer, Singapore, pp 543–580.
120. Walker, A.-S., Gladieux, P., Decognet, V., Fermaud, M., Confais, J., Roudet, J., Bardin, M., Bout, A., C. Nicot, P., Poncet, C., et al. (2015). Population structure and temporal maintenance of the multihost fungal pathogen *Botrytis cinerea*: causes and implications for disease management. *Environ. Microbiol.* 17, 1261–1274.

## Références bibliographiques

121. West, J. S., Pearson, S., Hadley, P., Wheldon, A. E., Davis, F. J., Gilbert, A., & Henbest, R. G. C. (2000). Spectral filters for the control of *Botrytis cinerea*. *Annals of Applied Biology*, 136(2), 115-120.
122. Wijayawardene, N.N., Hyde, K.D., Al-Ani, L.K.T., Tedersoo, L., Haelewaters, D., Rajeshkumar, K.C., Zhao, R.L., Aptroot, A., Leontyev, D.V., Saxena, R.K., et al. (2024). Outline of Fungi and fungus-like taxa – 2024. *Mycosphere*, 15(1), 1–455. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/15/1/1>
123. Wikimedia Commons. (n.d.). Photos d'infections causées par *Botrytis cinerea* sur plusieurs hôtes [Images]. Wikimedia Foundation. Adaptées dans : Mercier, A. (2019). Thèse/Mémoire ou rapport complet.URL : <https://commons.wikimedia.org> (à adapter selon les liens directs si disponibles).
124. Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., & Van Kan, J. A. L. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology*, 8(5), 561-580.
125. Yadav AN, Rastegari AA, Yadav N, Kour D (2020) Advances in plant microbiome and sustainable agriculture: diversity and biotechnological applications. Springer, Singapore
126. Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. (2000). Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(3), 1061–1070.
127. Yedidia, I., Benhamou, N., & Chet, I. *Revue : Applied and Environmental Microbiology* Volume : 65 numéro : 3 Pages : 1061–1070 Année : 1999 DOI : 10.1128/AEM.65.3.1061-1070.1999
128. Yin, Y.N., Kim, Y.K., and Xiao, C.L., (2011). Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology* 101, 986-995.
129. Yoder, O. C., & Whalen, M. L. (1975). Factors affecting postharvest infection of stored cabbage tissue by *Botrytis cinerea*. *Canadian Journal of Botany*, 53(8), 691-699.
130. Zhang C., Wang W., Hu Y., Peng Z., Ren S., Xue M., et al. (2022). Une nouvelle souche tolérante au sel, *Trichoderma atroviride* HN082102.1, isolée dans l'habitat marin, atténue le stress salin et diminue la pourriture des racines du concombre causée par *Fusarium oxysporum*. *BMC Microbiol.* 22:67. doi : 10.1186/s12866-022-02479-0,

## Références bibliographiques

131. Zhang, H., Wang, L., Dong, Y., Jiang, S., Cao, J., and Meng, R. (2007). Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. *Biol. Control* 40, 287–292.
132. Zimand, G., Chet, I., & Horwitz, B. A. (1994). Biological control of soil-borne diseases with *Trichoderma* spp. *Soil Biology and Biochemistry*, 26(4), 507–513. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(94\)90063-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(94)90063-7).

Année universitaire : 2024-2025	<b>Présenté par :</b> BOULACHEB Chahinez  BOUZIANE Manel  ZAAMOUCI Douaa
<b>Évaluation <i>in vitro</i> du potentiel antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp. Contre <i>Botrytis cinerea</i> : une approche de biocontrôle appliquée à la pourriture grise de la fève (<i>Vicia faba</i>)</b>	
<b>Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et Biotechnologie Fongique</b>	
<p><b>Résumé</b></p> <p>Ce mémoire porte sur l'étude de la lutte biologique in vitro de <i>Trichoderma</i> spp. Contre le champignon phytopathogène <i>Botrytis cinerea</i>, avec un focus particulier sur la fève (<i>Vicia faba</i>). L'objectif principal est d'évaluer le potentiel des isolats de <i>Trichoderma</i> comme agents de biocontrôle face à la pourriture grise, une maladie causée par <i>B. cinerea</i>, en étudiant leur capacité à inhiber la croissance mycélienne du pathogène. Dans un premier temps, 40 isolats de <i>Trichoderma</i> spp. Ont été sélectionnés et réactivés à partir de collections conservées. Chaque isolat a été évalué par la méthode de confrontation directe sur milieu PDA pour déterminer son activité antagoniste contre <i>B. cinerea</i>. Les résultats ont montré que plusieurs isolats de <i>Trichoderma</i>, notamment l'isolat T30, ont un effet inhibiteur significatif sur la croissance de <i>B. cinerea</i>, avec un pourcentage d'inhibition allant jusqu'à 79,31 %. Ce travail a également permis d'identifier la morphologie des souches de <i>Trichoderma</i> et d'évaluer leur pureté, en éliminant les isolats contaminés. Les résultats de cette étude montrent que <i>Trichoderma</i> spp. Possède un fort potentiel en tant qu'agent de lutte biologique contre <i>Botrytis cinerea</i>, et pourraient constituer une alternative écologique aux traitements chimiques dans la gestion des maladies fongiques des cultures. Une analyse statistique des données a permis d'établir que les isolats les plus efficaces sont capables d'inhiber considérablement la croissance du pathogène, validant ainsi leur potentiel pour des applications futures en biocontrôle, notamment en agriculture durable. En conclusion, cette étude met en évidence l'importance de <i>Trichoderma</i> spp. Dans la lutte biologique et suggère que son utilisation pourrait offrir des solutions viables pour la gestion des maladies fongiques comme la pourriture grise sur les fèves, contribuant à la réduction de l'utilisation des fongicides chimiques et à la promotion de pratiques agricoles plus durables.</p>	
<b>Mots-clés :</b> <i>Trichoderma</i> spp. <i>Botrytis cinerea</i> , Lutte biologique, <i>Vicia faba</i> ; Biocontrôles ; Pourriture grise	
<b>Laboratoires de recherche :</b> Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA)	
<p><b>Présidente :</b> Dr BENSERRADJ Wafa (M.C.A - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p> <p><b>Encadrant :</b> Dr BOUANAKA Hamza (M.C.B - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p> <p><b>Co-encadrante :</b> Dr HARRAT Wahiba (M.R.B- INRA de Constantine).</p> <p><b>Examinatrice:</b> Dr ZAAMOUCI Ahlem (M.C.B - U Constantine 1 Frères Mentouri).</p>	