

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة أمحمد بوقرة بومرداس  
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES



Faculté des sciences

Département de Biologie

## Mémoire de Master Académique

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biologie des Populations et des Organismes

### THEME

Etude de la production des métabolites d'intérêt et du pouvoir stimulateur de la défense chez la tomate par quelques souches microbiennes de la rhizosphère  
*in vitro et in situ*

Soutenu le 30/06/2024

Le jury composé de :

Mr EL HADDAD Djilali

MCA (UMBB)

Président

Mme HALLADJ Fatima

MCA (UMBB)

Examinatrice

Mme MOHAND KACI Hakima

Pr (UMBB)

Promotrice

Mme BENZINA Farida

Pr (UMBB)

Co-Promotrice

Année universitaire : 2023/2024

## Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant  
qui nous a donné l'envie et la force de réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier en particulier notre  
Promotrice Pr Mohand-Kaci Hakima et Co-promotrice Pr Benzina Farida

ainsi que la Doctorante Berkat Amina

Ce fut à la fois un Plaisir et une chance d'avoir bénéficié de votre  
encadrement et conseils judicieux apportés

tout au long de ce travail et pour le thème intéressant proposé.

Ainsi que pour nous avoir permis de vivre une expérience inoubliable.

Nos remerciements vont également à Dr El Haddad Djilali

Pour avoir bien voulu présider notre jury.

Nous remercions également Dr Halladj Fatima pour avoir bien voulu examiner notre travail.

Nos remerciements vont aussi à nos honorables

Professeurs qui nous ont encadré et

accompagné durant tout notre cursus universitaire.

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué,

de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire de fin d'études.

## **Dédicace**

**Nous dédions ce travail à nos familles et à nos proches.**

## Sommaire

### Liste des abréviations

### Liste des figures et des tableaux

### Introduction ..... 1

## Chapitre I : Revue bibliographique

<b>Revue bibliographique.....</b>	<b>3</b>
1- Présentation de l'espèce végétale étudiée : la tomate ( <i>Solanum lycopersicum L.</i> ).....	3
1.1. Origine et histoire de la tomate.....	3
1.2. Morphologie de la plante .....	3
1.2.1. L'appareil végétatif .....	3
1.2.1.1. Racines .....	3
1.2.1.2. Tiges.....	4
1.2.1.3. Feuilles .....	4
1.2.2. L'appareil reproducteur .....	5
1.2.2.1. Fleurs.....	5
1.2.2.2. Fruits.....	5
1.2.2.3. Graines .....	6
1.3. Cycle biologique de la tomate.....	6
1.3.1. Germination.....	7
1.3.2. Croissance végétative .....	7
1.3.3. Floraison.....	7
1.3.4. Fructification et maturation .....	8
1.4. Classification de La Tomate.....	8
1.4.1. Classification botanique.....	8
1.4.2. Classification génétique.....	9
1.4.2.1. Variétés fixées.....	9
1.4.2.2. Variétés hybrides.....	9
1.5. Valeur nutritionnelle de la tomate.....	9
1.5.1. Composés antioxydants de la tomate.....	10
1.5.1.1. Caroténoïdes.....	10
1.5.1.2. Composés phénoliques.....	11
1.5.2. Vitamine E et ses dérivés .....	11
1.5.3. Vitamine C .....	11
1.6. Exigences de la plante.....	11
1.6.1. La température et la lumière .....	11
1.6.2. L'eau et l'humidité.....	11
1.6.3. Le sol .....	12
1.7. Production de la tomate dans le monde et en Algérie.....	12
1.8. Ravageurs et maladies de la tomate.....	13
1.8.1. Maladies parasitaires .....	13
1.8.1.1 Mildou.....	13
1.8.1.2. Qidium.....	14
1.8.1.3. L'alternariose .....	14
1.8.1.4. La pourriture grise ( <i>le Botrytis</i> ).....	14
1.8.1.5. Bactéries et virus phytopathogènes.....	14
1.8.2. Les nématodes.....	14
1.8.3. Les insectes.....	15
1.8.3.1. Les mouches blanches.....	15
1.8.3.2. Les pucerons.....	15

1.8.3.3. Thrips.....	15
1.8.4. Moyens de lutte contre les maladies et ravageurs .....	15
II. Interaction entre les microorganismes et les plantes dans la rhizosphère .....	16
2.1. Définition de la rhizosphère.....	16
2.2. Zones de la Rhizosphère.....	17
2.3. Interactions au niveau de la rhizosphère.....	17
2.3.1. Interactions non symbiotiques.....	18
2.3.2. Interactions symbiotiques.....	18
2.4. Champignons dans la rhizosphère.....	18
2.5. Interaction des plantes avec les PGPFs.....	19
2.5.1. Définition des champignons favorisant la croissance des plantes (PGPFs).....	19
2.5.2. Classification Des PGPFs.....	20
2.5.3. Mécanismes d'action des PGPFs.....	20
2.6. Interactions phytopathogènes.....	22
III. <i>Les Trichoderma</i> .....	22
3.1. Présentation du <i>Trichoderma</i> .....	22
3.2. Diversité et Taxonomie de <i>Trichoderma</i> .....	23
3.3. Aspect morphologiques .....	24
3.4. Métabolites secondaires produites par <i>les Trichoderma</i> .....	24
3.4.1. Production des enzymes .....	24
3.4.2. Production d'autres substances bioactives.....	25
3.4.3. Production de phytohormones .....	26
3.5. Mécanismes de défense des <i>Trichoderma</i> .....	26
3.6. Application de <i>Trichoderma</i> en agriculture pour le contrôle biologique des phytopathogènes et la stimulation de la croissance des plantes .....	28
3.7. Utilisations industrielles du genre <i>Trichoderma</i> .....	29
3.7.1. Utilisation dans le domaine agroalimentaire .....	29
3.7.2. Utilisation dans le domaine de l'industrie de textile et du papier.....	29
3.7.3. Utilisation dans le domaine médical .....	29
IV. <i>Le Fusarium</i> .....	29
4.1. Présentation du <i>Fusarium</i> .....	29
4.2. Espèces et taxonomie du <i>Fusarium</i> .....	30
4.3. Pathologie et symptomatologie de <i>Fusarium</i> sur les plantes.....	31
4.3.1. <i>Fusarium oxysporum</i> .....	31
4.3.2. <i>Fusarium solani</i> .....	32
4.4. Importance de la fusariose en Algérie .....	32
4.5. Mécanisme de défense des plantes et le rôle des PGPFs dans le biocontrôle de la fusariose .....	33

## Chapitre II : Matériel et méthodes

<b>Matériel et méthode</b> .....	<b>35</b>
1. Matériel biologique .....	35
1.1. Mixture du sol .....	35
1.2. Les graines .....	36
1.3. Les souches fongiques .....	36
2. Méthode de travail .....	37
2.1. Revivification des souches .....	37
2.2. Identification morphologique des souches fongiques.....	37
2.2.1. Observation macroscopique .....	37
2.2.2. Observation microscopique .....	37
. Méthode du ruban adhésif .....	37
2.3. Screening de l'activité antagoniste des isolats de <i>Trichoderma spp</i> contre l'isolat de <i>Fusarium spp</i> .....	37
2.3.1. Confrontation directe .....	38
2.3.2. Confrontation indirecte.....	39
2.3.3. Pourcentage d'inhibition .....	39
2.4. Caractérisation physicochimique des isolats de <i>Fusarium spp</i> et <i>Trichoderma spp</i> .....	40
2.4.1. Influence du milieu de culture .....	40
2.4.2. Influence de la température .....	40
2.4.3. Influence de la salinité .....	40
2.4.4. Influence de la lumière.....	40
2.4.5. Influence du Ph. ....	41
2.5. Screening qualitatif des activités enzymatiques des isolats de <i>Trichoderma spp</i> .....	41
2.5.1. Production d'enzymes lytiques et métabolites d'intérêt (CWDE) .....	41
2.5.1.1. Production des chitinases.....	41
. Préparation de la chitine colloïdale.....	41
. Evaluation de la production de la chitinase.....	41
2.5.1.2. Production des protéases.....	42
2.5.1.3. Production de la $\beta$ -1,3-glucanase.....	42
2.5.1.4. Production des cellulases .....	42
2.5.1.5. Production de l'acide cyanhydrique (HCN).....	42
2.5.2. Etude de l'endophytisme.....	43
2.5.2.1. Production des pectinases.....	43
2.5.2.2. Production des amylases.....	43
2.5.2.3. Production des lipases.....	43
2.6. Mise en évidence des traits PGPF (Plant Growth Promoting Fungi).....	44
2.6.1. Solubilisation des phosphates.....	44
2.6.2. Fixation d'azote.....	44
2.6.3. Production d'ammoniaque (NH <sub>3</sub> ).....	44
2.7. Inoculation des plantes de tomate avec les diverses souches fongiques et étude de l'effet antagoniste in situ .....	45
2.7.1. Préparation du sol et Mise en place de la culture de tomate.....	45
2.7.2. Préparation des inoculum fongiques et récupération du filtrat.....	46
2.7.3. Traitement des plantes de tomate par l'inoculât.....	46
2.7.4. Paramètres mesurés.....	47

### Chapitre III: Résultats et discussion

<b>Résultats</b> .....	<b>48</b>
1. Caractérisation et identification morphologique des isolats fongiques.....	48
1.1. Caractérisation morphologique des isolats de <i>Trichoderma spp</i> .....	49
1.2. Caractérisation morphologique de l'isolat de <i>Fusarium spp</i> .....	49
2. Etude in vitro de l'activité antagoniste des isolats de <i>Trichoderma spp</i> contre l'isolat de <i>Fusarium spp</i> .....	49
2.1. Test de confrontation directe.....	49
2.2. Test de confrontation indirecte.....	52
3. Caractérisation physicochimique des isolats de <i>Fusarium spp</i> et <i>Trichoderma spp</i> ....	53
3.1. Influence du milieu de culture.....	53
3.2. Influence de la température .....	54
3.3. Influence de la salinité.....	55
3.4. Influence de la lumière.....	56
3.5. Influence du Ph.....	58
4. Résultats de la recherche des enzymes et de quelques molécules à effet PGPF .....	59
4.1. Screening qualitatif de l'activité enzymatique des isolats de <i>Trichoderma</i> .....	59
4.2. Mise en évidence des traits PGPF (Plant Growth Promoting Fungi).....	60
4.2.1. Solubilisation des phosphates.....	61
4.2.2. La fixation d'azote.....	61
4.2.3. Production d'ammoniaque (NH <sub>3</sub> ).....	62
4.2.4. Production de cyanure d'hydrogène (HCN).....	62
5. Résultat de l'étude des paramètres de la croissance végétative de la tomate.....	63
5.1. Longueur des tiges.....	64
5.2. Longueur de la racine principale.....	65
5.3. Longueur du système racinaire.....	65
5.4. Poids de système racinaire.....	66
5.5. Nombre de feuilles.....	67
5.6. Poids frais des tiges.....	67
5.7. Poids sec des tiges .....	68
5.8. Vérification de l'endophytisme.....	69
<b>Discussion</b> .....	<b>69</b>
<b>Conclusion et perspective</b> .....	<b>74</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>77</b>

#### Annexes

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
ABA	Acide abscissique
ACCD	1-aminocyclopropane-1-carboxylate désaminase
Eth	Éthylène
GA	Acide gibbérellique
HCN	Cyanure d'hydrogène
IAA	acide acétique 3-indole
ISR	Résistance systémique induite
PR	lié à la pathogenèse
SA	Acide salicylique
SAR	Résistance systémique acquise
Fol	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>
Forl	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>
ROS	Reactive Oxygen species
FAO	Food and Agriculture Organization
ITCMI	Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles
PDA	Potato Dextrose Agar
PGPF	Plant Growth Promoting Fungi
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacter
PGP	Plant Growth Promoters
PGPY	Plant Growth Promoting Yeasts
T4,T3,T2,T1	Souches de <i>Trichoderma</i>
F.	<i>Fusarium</i>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Système racinaire pivotant de la tomate .....	3
<b>Figure 2</b> : Tige de tomate.....	4
<b>Figure 3</b> : feuilles de la tomate .....	4
<b>Figure 4</b> : Fleur de la tomate.....	5
<b>Figure 5</b> : variétés et formes de tomates .....	6
<b>Figure 6</b> : Graines de tomate.....	6
<b>Figure 7</b> : Phases du cycle biologique de la tomate.....	7
<b>Figure 8</b> : Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère .....	17
<b>Figure 9</b> : Impact des PGPFs sur la croissance des plantes et la suppression des maladies.....	19
<b>Figure 10</b> : Sections systématiques de <i>Trichoderma</i> spp.....	23
<b>Figure 11</b> : Observation microscopique de l'espèce <i>Fusarium oxysporium</i> .....	31
<b>Figure 12</b> : Symptômes de maladie <i>Fusarium</i> wilt sur A (feuilles) B (tige) de la tomate .....	32
<b>Figure 13</b> : Observation microscopique de l'espèce <i>Fusarium solani</i> en milieu PDA ..	32
<b>Figure 14</b> : Les différents composants de la mixture dans l'ordre (sol, sable, terreau)...	35
<b>Figure 15</b> : La mixture du sol prête à être utilisé.....	36
<b>Figure 16</b> : Graines de tomate utilisées.....	36
<b>Figure 17</b> : Confrontation entre le pathogène et l'antagoniste par contact direct sur milieu gélosé.....	38
<b>Figure 18</b> : Confrontation indirecte entre le pathogène et l'antagoniste.....	39
<b>Figure 19</b> : Plateau de culture ensemencé avec des graines de tomates .....	45
<b>Figure 20</b> : Pots avec plantules de tomates.....	46
<b>Figure 21</b> : Aspect macroscopique (A gauche) et microscopique (A droite) des souches de <i>Trichoderma</i> .....	48
<b>Figure 22</b> : Aspect macroscopique (A gauche ) et microscopique (A droite) des souches de <i>Fusarium</i> .....	49
<b>Figure 23</b> : Pourcentage d'inhibition de <i>Fusarium</i> par les souches <i>Trichoderma</i> dans la confrontation directe.....	50
<b>Figure 24</b> : Pourcentage d'inhibition de <i>Fusarium</i> par les souches <i>Trichoderma</i> dans la confrontation indirecte.....	52
<b>Figure 25</b> : Les résultats des différentes confrontations indirectes.....	53

<b>Figure 26 :</b> Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> dans des milieux de culture variables.....	54
<b>Figure 27 :</b> Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> à des températures variables.....	55
<b>Figure 28 :</b> Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> dans des concentrations de sel variables .....	56
<b>Figure 29 :</b> Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> exposées a des luminosités variables.....	57
<b>Figure 30 :</b> Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> dans des milieux au pH différent.....	59
<b>Figure 31 :</b> Figure récapitulative qui résume les différentes activités enzymatiques testées sur les souches <i>Trichoderma</i> .....	60
<b>Figure 32 :</b> Les résultats des tests de la solubilisation des phosphates .....	61
<b>Figure 33 :</b> Les résultats des tests de la fixation d'azote .....	62
<b>Figure 34 :</b> Les résultats des tests de la production d'ammoniaque .....	62
<b>Figure 35 :</b> Les résultats des tests de la production de HCN .....	63
<b>Figure 36 :</b> Plants de Tomate traités, avant arrachage .....	64
<b>Figure 37 :</b> La longueur des tiges (cm) de la tomate en fonction des souches Inoculés.....	64
<b>Figure 38 :</b> La longueur de la racine principale (cm) de la tomate en fonction des souches inoculés .....	65
<b>Figure 39 :</b> La longueur de système racinaire (cm) de la tomate en fonction des souches inoculés .....	66
<b>Figure 40 :</b> Le poids du système racinaire (g) de la tomate en fonction des souches inoculés .....	66
<b>Figure 41:</b> Le nombre des feuilles de la tomate en fonction de différentes souches inoculés .....	67
<b>Figure 42 :</b> Le poids des tiges de la tomate en fonction de différentes souches inoculés .....	68
<b>Figure 43 :</b> Poids sec des tiges en fonction des souches inoculés .....	68
<b>Figure 44 :</b> Culture des fragments racinaires après arrachage des plants inoculés par T4 et T2 en confrontation avec le <i>Fusarium sp.</i> .....	69

## Liste de tableaux

<b>Tableau 1</b> : Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de la tomate crue .....	10
<b>Tableau 2</b> : Taxonomie des principaux champignons PGPF.....	20
<b>Tableau 3</b> : Les principales substances bioactives de <i>Trichoderma harzianum</i> .....	25
<b>Tableau 4</b> : Échelle de classement des résultats de la production d’HCN selon leur couleur.....	43
<b>Tableau 5</b> : Les résultats des différentes confrontations directes (pathogène – antagoniste) .....	51
<b>Tableau 6</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> dans des milieux de culture variables .....	54
<b>Tableau 7</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> à des températures variables .....	55
<b>Tableau 8</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> dans des concentrations de sel variables .....	56
<b>Tableau 9</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> exposées à des luminosités variables .....	57
<b>Tableau 10</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches <i>Trichoderma</i> dans des milieux au pH différent .....	58
<b>Tableau 11</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différentes activités enzymatiques testées sur les souches <i>Trichoderma</i> .....	60
<b>Tableau 12</b> : Tableau récapitulatif des résultats des différents traits PGPFs mis en évidence avec des tests sur les souches <i>Trichoderma</i> .....	61

# INTRODUCTION

## Introduction générale

La culture de la tomate (*Solanum lycopersicum*) revêt une importance économique et alimentaire majeure à l'échelle mondiale. C'est l'un des légumes les plus cultivés dans le monde entier. En Algérie, la culture de la tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher. Elle est de ce fait, considérée comme une espèce prioritaire (Debbi, 2019).

Cependant, ses rendements sont souvent entravés par des maladies et des stress environnementaux, nécessitant l'utilisation intensive de pesticides et de fertilisants face à ces défis (Strange et Scott, 2005).

Parmi les facteurs de stress biotique, les *Fusarium* sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs dans notre pays, causant des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées, y compris la tomate (Hibar *et al.*, 2005).

En dépit des pertes économiques qu'ils entraînent, le contrôle de ces pathogènes reste toujours limité à des mesures prophylactiques ; la désinfection du sol n'est jamais complète en raison d'une part, de la difficulté de sa réalisation et d'autre part, de l'induction de souches résistantes (Benhamou *et al.*, 1997).

Suite aux effets néfastes des intrants chimiques utilisés contre ces champignons, sur l'environnement et la santé humaine, l'utilisation des micro-organismes bénéfiques présents dans la rhizosphère (appelés PGP : Plant Growth Promoters) comme bio activateurs potentiels, représente une stratégie prometteuse pour renforcer la santé des plantes de manière durable (Naika *et al.*, 2005). Ces microorganismes ont la capacité de favoriser la croissance des plantes de manière directe en contribuant à l'acquisition des ressources ou en régulant les niveaux d'hormones végétales (Munees et Mulugeta, 2014), ou de manière indirecte en produisant des antibiotiques ou en renforçant le système de résistance des plantes (Kirdi, 2011).

Dans ce contexte et afin de rechercher des méthodes durables de lutte contre les champignons phytopathogènes, nous examinons dans cette étude l'interaction entre une souche de *Fusarium* et deux souches de l'agent antagoniste le plus actif en lutte biologique en tant que PGPF; *Trichoderma* caractérisé par sa croissance rapide, sa capacité d'utiliser divers substrats et sa résistance aux agents chimiques ainsi que sa capacité à stimuler la croissance végétale après une colonisation racinaire rapide (Albouvette *et al.*, 1983).

La problématique centrale de cette étude réside dans la caractérisation précise des interactions complexes entre les souches microbiennes de la rhizosphère et la tomate, à la fois dans des conditions contrôlées (*in vitro*) et dans leur environnement naturel (*in situ*). En effet, déterminer les paramètres physicochimiques de croissance de ces micro-champignons et comprendre comment la production spécifique de métabolites d'intérêt (enzymes et molécules bioactives) influence et module les réponses de défense de la tomate sont essentiels pour optimiser leur utilisation en agriculture.

Ce mémoire s'articule en 3 chapitres. Le premier présente une synthèse bibliographique. Le deuxième est consacré à la présentation de matériel et la méthodologie utilisés au laboratoire. Les résultats obtenus accompagnés des discussions sont présentés dans le troisième chapitre. A la fin, une conclusion et des perspectives achèvent ce travail.

# **Synthèse Bibliographique**

## Chapitre I : Synthèse Bibliographique

### 1. Présentation de l'espèce végétale étudiée la tomate (*Solanum lycopersicum L.*)

#### 1.1. Origine et histoire de la tomate

La tomate est originaire de la région andine du nord-ouest de l'Amérique du Sud où sa domestication remonte à plus de 5000 ans (A.D.A.B., 2001). Elle a été introduite au Mexique et cultivée par les Aztèques qui l'appelèrent « tomatl » qui voulait dire « fruit charnu » et les conquistadors espagnols l'appelèrent « tomate » puis introduite en Europe en 1544, via l'Espagne. Au XVIIe siècle, la culture de la tomate est entrée en Algérie par l'occupation espagnole, elle s'est développée plus précisément à Oran en 1905 (Benabidj, 1977).

C'est au 18e siècle que la plante devient lentement un ingrédient culinaire répandu. Considérée comme un légume en raison de ses nombreuses utilisations culinaires, la tomate est en réalité un fruit de la famille des Solanacées. Elle s'apparente à la pomme de terre, au poivron et à l'aubergine (Andrée, 2016).

#### 1.2. Morphologie de la plante

##### 1.2.1. L'appareil végétatif

###### 1.2.1.1. Racines

La tomate est caractérisée par de fortes racines pivotantes (figure 1) qui poussent jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité des racines latérales et adventices (Naika *et al.*, 2005).



**Figure 1 :** Système racinaire pivotant de la tomate - (photo originale)

### 1.2.1.2. Tiges

Elles sont vertes, épaisses aux entre-nœuds (figure 2). Elles disposent de deux types de poil blanchâtres : des poils simples et des poils glanduleux qui contiennent une huile essentielle, qui donne l'odeur de la tomate et la coloration verte. Elles portent les feuilles, les fleurs et les fruits. Une tige peut porter de nombreuses ramifications (appelées axillaires) et a une croissance indéterminée ou déterminée selon les variétés (Kolev, 1976).



**Figure 2 :** Tige de tomate - (photo originale)

### 1.2.1.3. Feuilles

Les feuilles sont longues de 10 à 25 cm et contiennent de 5 à 7 folioles aux lobes très découpés (Figure 3), alternés et imparipennés (Abbeyes *et al.*, 1963). Le bord du limbe est denté. Souvent, ils sont connectés en forme de cuillères ou même avec des bords roulés en dessus sur la tige, ces feuilles sont éteintes (Raemaekers, 2001).



**Figure 3 :** feuilles de la tomate - (photo originale)

## 1.2.2. L'appareil reproducteur

### 1.2.2.1- Fleurs

Les fleurs de la tomate sont des organes bisexués. Elles sont hermaphrodites et auto fécondes et regroupées sur le même pédoncule en bouquet lâche en inflorescence formant des grappes plus ou moins bifurquées de 3 à 8 fleurs chez les variétés fixées et au-delà chez les hybrides. Le tube du calice est court et velu, il comporte 5 sépales, il est persistant après la fécondation et subsiste au sommet du fruit (Figure 4). L'Androcée comporte 5 étamines latérales, les anthères allongées forment un cône resserré autour du pistil ; celui-ci est constitué de deux carpelles soudés formant un ovaire super biloculaire à 2 loges et à placenta central (Judd *et al.*, 2002).



**Figure 4 :** Fleur de la tomate - (photo originale)

### 1.2.2.2. Fruits

Le fruit est une baie plus ou moins grosse, avec épiderme lisse brillant de forme variable (sphérique, oblongue, allongée), et des couleurs variées (blanche, rose, rouge, jaune, orange, verte, noire) selon les variétés (Figure 5). La paroi de l'ovaire évolue en péricarpe charnu et délimite des loges. Le placenta constitue la partie centrale du fruit et est à l'origine des tissus parenchymateux. Le nombre de loges, l'épaisseur du péricarpe et l'importance du gel sont dépendants des variétés (Shankara *et al.* 2005).



**Figure 5 :** Variétés et formes de tomates (<https://www.bing.com>)

### 1.2.2.3. Graines

D'après Chaux et Foury (1994), chaque fruit contient un nombre important de graines (figure 6), allant de 80 à 500 graines par fruit, Elles sont réparties dans des loges remplies de gel en forme de rein ou de poire, poilues, beiges, de (3 à 5) mm de long et de (2 à 4) mm de large. Elles sont recouvertes d'un mucilage, l'embryon est enroulé dans l'albumen. Le poids de mille graines est en moyenne de 3 g (Naika *et al*, 2005).

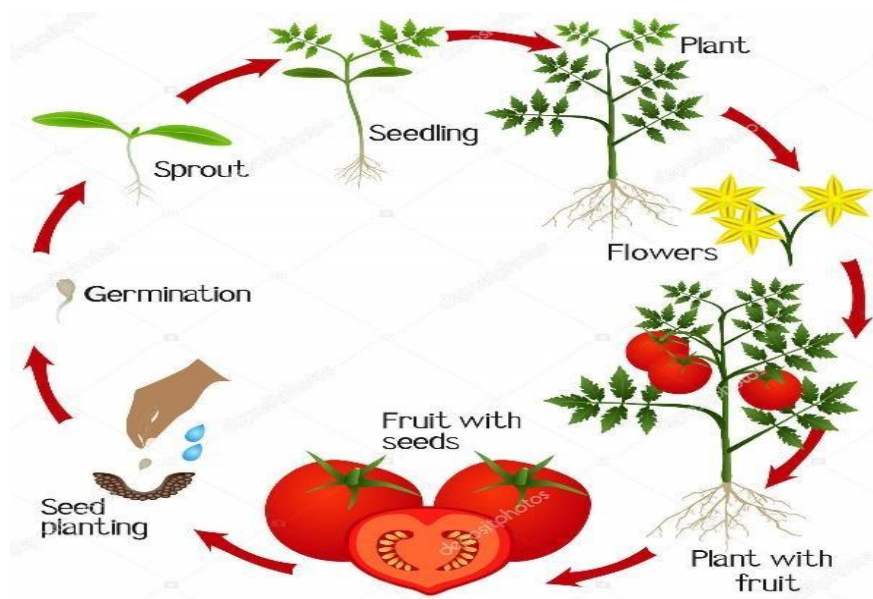


**Figure 6 :** Graines de tomate-(-<https://www.bing.com>)

## 1.3. Cycle biologique de la tomate

La durée du cycle végétatif complet de la tomate est de 4 à 5 mois environ pour les semis directs en pleine terre et de 5 à 6 mois pour les plants repiqués. En contre saison, le cycle végétatif s'allonge et il peut atteindre 7 mois (Viron, 2010).

Un cycle végétatif complet de la tomate est constitué principalement de 4 phases distinctes, il est différent d'une variété à l'autre et selon les conditions de culture, pour une durée moyenne de 3,5 à 4,5 mois, il passe 7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit (Claude et Yves, 1999), ces phases sont les suivantes (figure 7) :



**Figure 7 :** Phases du cycle biologique de la tomate – (<https://depositphotos.com/fr/vector/cycle-growth-tomato-plant-white-background-202664150.html/>)

### 1.3.1-Germination

La germination des graines de tomate correspond au stade de levée de la graine jusqu'à la jeune plante capable de croître normalement (Corbineau et Core, 2006). La graine de tomate peut, si les conditions sont favorables germer immédiatement après sa dissémination et ne nécessite pas d'étape de vernalisation (culture de tomate). La germination est épigée dans de bonnes conditions ; une température ambiante d'environ 20°C et une humidité relative de 70 à 80 % sont nécessaires (Chaux et Foury, 1994).

### 1.3.2- Croissance végétative

La croissance est sympodiale, chaque sympode étant constitué de 3 feuilles et d'une inflorescence. Elle se poursuit ainsi de façon indéfinie, la croissance est dite indéterminée. Des ramifications, elles aussi à croissance indéterminée, partent de l'aisselle de feuille, mais on les supprime en culture. Ainsi la tomate, plante herbacée cultivée comme plante annuelle, serait en fait une plante pérenne si elle n'était pas sensible au gel (Claude et Yves, 1999).

### 1.3.3- Floraison

La croissance continue ; deux mois et demi environ après le semis, la première inflorescence apparaît. Les autres inflorescences vont apparaître au-dessus de la première, avec entre chaque

inflorescence, un nombre variable des feuilles : d'une à quatre. La floraison s'échelonne donc de bas en haut. La floraison dure 1 mois à 1 mois et demi, c'est-à-dire de deux mois et demi à trois et demi- quatre mois après le semis (Dégrément, 2009).

Selon Rey et Costes (1965), ces changements sont influencés par un certain nombre de variables, notamment la température, la photopériode et les éléments nutritifs. Si les conditions sont réunies, les bouquets de fleurs regroupés en inflorescences apparaîtront 6 à 7 semaines après les semis, durant cette phase les températures nocturnes et diurnes doivent être 13°C et 23°C. Le vent ou certains insectes, comme le bourdon, sont des agents extérieurs nécessaires à la pollinisation (Chaux et Foury, 1994).

#### **1.3.4. Fructification et maturation**

La fructification débute durant la phase de floraison. Elle commence par la nouaison des fruits de l'inflorescence de base et se poursuit par les inflorescences supérieures au fur et à mesure de l'apparition des inflorescences et de la fécondation des fleurs. Les fruits se développent, grossissent et après avoir atteint leur taille définitive, ils commencent par perdre leur coloration verte au profit du jaune puis au rouge de plus en plus accentué. Cette phase dure environ deux mois, soit de quatre à six mois après le semis. La durée du cycle végétatif complet de la tomate est de 4 à 5 mois environ pour les semis direct en pleine terre et de 5 à 6 mois pour les plants repiqués. En contre saison, le cycle végétatif s'allonge et il peut atteindre 7 mois (Viron, 2010)

### **1.4. Classification de la Tomate**

#### **1.4.1. Classification botanique**

Munroe et Small (1997) rappellent que la tomate appartient à la classification suivante :

**Règne**.....Plantae  
**Sous règne**.....Tracheobionta  
**Division** ..... Magnoliophyta  
**Classe** ..... Magnoliopsida  
**Sous classe** ..... Asteridae  
**Ordre** ..... Solonales  
**Famille** ..... Solanaceae  
**Genre** .....*Solanum* ou *Lycopersicon*  
**Espèce** .....*Lycopersicon esculentum* Mill.

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.), est une plante herbacée, vivace à l'état naturel et annuelle en culture. Elle appartient à la famille des Solanacées (Cronquist, 1981 ; Gausсен *et al.*, 1982)

#### **1.4.2. Classification génétique**

La tomate cultivée est une espèce diploïde à  $2n=24$  chromosomes, chez laquelle il existe de très nombreux mutants mono-géniques dont certains sont très importants pour la sélection (Gallais et Bannerot, 1992).

La structure de la fleur de tomate assure une cleistogamie (autogamie stricte), elle peut se comporter comme une plante allogame. On peut avoir jusqu'à 47% de fécondation croisée dans la nature (Gruben et Denton, 2004). La tomate est divisée en deux types de variétés :

##### **1.4.2.1. Variétés fixées**

L'homozygotie conserve les caractéristiques parentales dans les variétés fixées (Chaux et Fourry, 1994). Il existe plus de cinq cents variétés fixées. Leurs fruits sont plus ou moins réguliers, sensibles aux maladies, mais donnent en général des fruits d'excellente qualité gustative (Polese, 2007). Les variétés fixées les plus cultivées en Algérie sont : Marmande, Saint Pierre, Super Marmande (Toufouti, 2013), Rio Grande, Roma (ITMAS, 2023)

##### **1.4.2.2. Variétés hybrides**

Les variétés hybrides sont plus nombreuses. Elles n'existent que depuis 1960, ce qui les rend relativement récentes (Polese, 2007). Elles présentent la faculté de réunir plusieurs caractères d'intérêts agronomiques et nutritionnels grâce à l'effet hétérosis (Gallais et Bannerot, 1992). Les variétés hybrides les plus cultivées en Algérie sont : Zahra ,Nadjma ,Carmello ,Amina ,Faraouna (ITMAS, 2023) ,Dona (ITDAS, 2023).

#### **1.5. Valeur nutritionnelle de la tomate**

La consommation des fruits de la tomate contribue à un régime sain et équilibré. Les fruits sont riches en minéraux, en vitamines, en acides aminés essentiels, en sucres ainsi qu'en fibres alimentaires (Naika *et al.*, 2005). Contrairement à la plupart des fruits, elle est un aliment très peu énergétique, car consommée crue, elle n'apporte qu'environ 15 kcal/100 g et 20 kcal/100 g à l'état cuit. La tomate comme la plupart des légumes, présente une bonne densité nutritionnelle (tableau 1) avec : 94% d'eau et 6% de matière sèche composée de 50% de sucres (fructose et glucose), 25% d'acides organiques (acides citrique et malique), 8% de minéraux, 2% d'acides aminés, de caroténoïdes

et autres métabolites secondaires, c'est aussi une source de fibres (2 g /100g) soit le quart des apports nutritionnels conseillés (Davies et Hobson, 1981)

**Tableau 1 :** Valeur nutritionnelle moyenne pour 100g de la tomate crue (Grasselly et Letard, 2000).

Composés	Variations
Eau	93,4 -95,2 g
Protides	0,9 - 1, g
Traces de lipides	0,3 g
Glucides	2,8 - 4,7 g
Fibres	0,5 - 1,5 g
Minéraux	0,6 g
Potassium	202 - 300 mg

### 1.5.1. Composés antioxydants de la tomate

Un antioxydant est une molécule en faible quantité qui retarde significativement ou prévient l'oxydation des autres substances chimiques. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi être destructrices. Les plantes utilisent et produisent de nombreux antioxydants pour se protéger (Outis et Yahiya, 2016). Ces molécules dotées de propriété antioxydante constituent les métabolismes secondaires de plantes. La teneur en composés antioxydants varie en fonction de l'espèce, de la variété, des conditions climatiques, etc. Parmi ces composés, nous pouvons trouver chez la tomate :

#### 1.5.1.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments liposolubles synthétisés par les végétaux. Ce sont eux qui donnent aux fruits et légumes des couleurs orange, rouge et jaune. Les plus importants sont les carotènes ( $\beta$ -carotène, phytoène, et lycopène) et les xanthophylles (lutéine, zéaxanthine, capsanthine). Ils ont des effets bénéfiques sur notre santé. Les carotènes sont des hydrocarbures polyéniques à 40 atomes de carbones, tandis que les xanthophylles comprennent au moins une fonction oxygénée (Bouzaata, 2016).

### **1.5.1.2. Composés phénoliques**

Ce sont des métabolites secondaires des végétaux tout comme les caroténoïdes, qui possèdent des propriétés antioxydantes très efficaces contre les réactions d'oxydation. Ils ont pour rôle la prévention des maladies cardiovasculaires, des maladies neuro-dégénératives, de lutter contre l'ostéoporose, et la prolifération anarchique des cellules. Parmi ces composés, nous pouvons citer : l'acide chlorogénique, la rutine, et naringénine (Bouzaata, 2016).

### **1.5.2. Vitamine E et ses dérivés**

La vitamine E est un terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (4 tocophérols et 4 tocotriénols). Cette vitamine liposoluble est reconnue pour ses propriétés anti oxydantes et assure la stabilité des structures cellulaires (Outis et Yahiya, 2006).

### **1.5.3. Vitamine C**

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble au fort pouvoir réducteur, mais très sensible à la lumière et à la chaleur. Au sein de l'organisme, c'est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques (Outis et Yahiya, 2006).

## **1.6. Exigences de la plante**

Selon Naika *et al.* (2005), les conditions à satisfaire pour garantir une bonne culture de la tomate sont les suivantes :

### **1.6.1. La température et la lumière**

La tomate demande un climat relativement frais et sec pour fournir une récolte abondante et de qualité. Cependant, la plante s'est adaptée à une grande diversité de conditions climatiques, allant du climat tempéré vers le climat tropical chaud et humide. La température optimale pour la plupart des variétés se situe entre 21 et 24°C. L'intensité de la lumière affecte la couleur des feuilles, la production des fruits et la couleur des fruits.

### **1.6.2. L'eau et l'humidité**

Le stress causé par une carence en eau et les longues périodes arides fait tomber les bourgeons et les fleurs et provoque le fendillement des fruits. Par contre, lorsque les averses sont très intenses et l'humidité est très élevée, la croissance des moisissures et la pourriture des fruits seront plus important.

Selon Dahmani (1993), l'irrigation doit être abondante après le semis pour assurer une levée rapide. La tomate est une plante assez sensible à la fois au déficit hydrique et à l'excès d'eau. Un déficit hydrique, même de courte durée, peut réduire sérieusement la production. De même, un excès d'eau, notamment aux stades de faible consommation peut provoquer l'asphyxie des racines et de dépérissement total des plants (Chibane, 1999). Il est important d'arroser régulièrement les plantes, surtout pendant les périodes de floraison et de formation des fruits.

### **1.6.3. Le sol**

La tomate pousse bien sur la plupart des sols minéraux qui ont une bonne capacité de rétention de l'eau, une bonne aération et à salinité basse. Elle préfère les terres limoneuses profondes et bien drainées.

La couche superficielle du terrain doit être perméable. Une profondeur de sol de 15 à 20 cm est favorable à la bonne croissance d'une culture saine. Dans les sols d'argile lourde, un labourage profond permettra une meilleure pénétration des racines. La tomate tolère modérément un large intervalle de valeurs du pH (niveau d'acidité), mais pousse le mieux dans des sols où la valeur du pH varie entre 5,5 et 6,8 et où l'approvisionnement en éléments nutritifs est adéquat et suffisant. En général, ajouter de la matière organique stimule une bonne croissance. Les sols qui contiennent beaucoup de matière organique, comme les sols tourbeux, sont moins appropriés dû à leur forte capacité de rétention d'eau et à une insuffisance au niveau des éléments.

## **1.7. Production de la tomate dans le monde et en Algérie**

Dans le monde, la tomate occupe une place importante et c'est le fruit le plus consommé, la production mondiale est en augmentation régulière. Elle est cultivée dans presque tous les pays du monde, y compris dans les régions relativement froides grâce au développement des couverts végétaux (Desmas, 2005).

La Chine est le plus grand producteur de tomates avec une quantité estimée à plus de 56 millions de tonnes par an. L'Inde est en deuxième position avec une production annuelle de plus de 18 millions de tonnes (FAO, 2020)

D'après les statistiques fournies par l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production mondiale de tomates était à plus de 182 millions de tonnes sur une superficie arrivant à plus de 4 millions d'hectares en 2017, avec un rendement allant jusqu'à plus de 37 tonnes par hectare. En 2018, ce nombre a augmenté à 188 tonnes enregistrant ainsi une hausse de 3,5% par rapport à l'année précédente (FAO, 2020).

En Algérie, La culture de la tomate se place en seconde position après la pomme de terre. En effet les conditions climatiques des régions productrices de tomate sont très favorables pour l'obtention de bons rendements (Zidani, 2007).

En outre, selon une étude menée par Nechadi *et al.* (2001), la culture de la tomate occupe une place prépondérante dans l'économie agricole algérienne. Sur une superficie globale de primeurs évaluée à plus de 292 000 ha, la culture de tomate représente 51% de la production totale en produits maraîchers. Près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (Madr, 2009).

La tomate est principalement cultivée dans les régions Est : Annaba, El Taref, Guelma, Skikda, avec une superficie agricole utile (SAU) de plus de 60 % (Snoussi, 2010).

Durant l'année 2018, la superficie dédiée à la culture de la tomate était estimée à plus de 22 mille hectares avec un rendement de 587 mille hg/ha approximativement, soit une quantité dépassant 1 million de tonnes dans le pays (FAO, 2020).

## **1.8. Ravageurs et maladies de la tomate**

### **1.8.1. Maladies parasitaires**

Le nombre de maladies et parasites qui peuvent affecter la culture de tomate est très élevé. La fusariose de la tomate est rapportée comme étant la maladie fongique trachéomycose la plus destructive des plants dans les conditions chaudes et les sols sableux mais plus essentiellement dans les cultures sous serre. On distingue deux espèces essentielles à la tomate, *F. solani* et *F. oxysporum*, impliquées dans l'apparition d'importantes altérations agressives sur les différentes variétés (Blancard, 2012). On citera aussi les suivantes :

#### **1.8.1.1. Mildiou**

L'agent de cette maladie est *Phytophthora infestans* capable d'attaquer les feuilles (des taches foliaires nécrotiques irrégulières), les tiges (grandes taches brunes irrégulières), les fruits (des plages marbrées de brun, bosselées) (Blancard, 1988 ; Csizinsky *et al.*, 2005).

### **1.8.1.2. Oïdium**

Causée par *Leveillula taurica*, *Oidiopsis taurica*, elle se manifeste par l'apparition de taches jaunes sur la face supérieure des feuilles, et d'un duvet blanc sur la face inférieure. Après jaunissement, les feuilles se dessèchent et tombent. Une malnutrition minérale accentue la maladie. La maladie ne se manifeste jamais sur le fruit (Naika *et al.*, 2005).

### **1.8.1.3. L'alternariose**

Sur feuille, il y a apparition de taches arrondies noirâtres montrant des cercles concentriques. Des taches chancreuses peuvent se manifester sur tige. Sur fruit, la maladie s'attaque en premier lieu aux sépales qui se nécrosent, puis passe aux calices (Naika *et al.*, 2005)

### **1.8.1.4. La pourriture grise (Botrytis)**

Sur feuille et tige, il y a apparition de tache brunâtre accompagnées d'un duvet grisâtre. Ces taches peuvent évoluer en chancre sur tiges et pétioles. Sur fruit, on observe une pourriture molle grise avec chute des fleurs et fruits (Williamson *et al.*, 2007).

### **1.8.1.5. Bactéries et virus phytopathogènes**

La tomate est sensible à différentes maladies bactériennes et virales, à savoir : la tache bactérienne (*Xanthomonas vesicatoria*) (Blancard, 2009) et la moucheture bactérienne (*Pseudomonas syringae* pv. Tomato) (Blancard, 2009 ; Wilkie et Dye, 1974), ainsi que diverses maladies virales, dont, le TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus) qui est transmis par différentes espèces de thrips (Messiaen et Lafon, 1970).

## **1.8.2. Les nématodes**

Pour la culture de la tomate, les nématodes des racines noueuses présentent un problème important. Ils provoquent des galles sur les racines des plantes. Trois types fréquents de nématodes de nodosité des racines sont : *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* et *M. arenaria*. Les plantes atteintes restent petites de taille et sont sensibles aux maladies fongiques et bactériennes transmises par le sol. Environ 30% de la récolte de tomates des pays tropicaux est perdu à cause des nématodes (Naika *et al.*, 2005).

### **1.8.3. Les insectes**

Tous les insectes qui piquent et qui sucent, tels que les mouches blanches, les thrips et les pucerons, ne provoquent des dommages mécaniques que lorsqu'ils surviennent en grands nombres, mais les virus qu'ils peuvent transmettre provoquent des dommages bien plus importants.

#### **1.8.3.1. Les mouches blanches (*Bemisia tabaci*)**

L'adulte et la larve se nourrissent de la sève des feuilles. Elles déposent leurs œufs sur le côté inférieur des feuilles. Les œufs éclosent après environ 1 semaine. Après 2 à 4 semaines, les larves vont former un cocon dans lequel elles resteront pendant à peu près une semaine afin de se métamorphoser.

#### **1.8.3.2. Les pucerons**

Les pucerons constituent les principaux agents vecteurs de viroses recensés en Algérie. Des dommages directs sont produits lorsqu'ils apparaissent en grand nombre sur la culture, où ils préfèrent les feuilles et les tiges les plus tendres. *Macrosiphum euphorbia* et *Aphis gossypii* sont les espèces les plus fréquentes sur tomate.

#### **1.8.3.3. Thrips**

Les dégâts causés sur les parties florales, essentiellement sur les pistils provoquent la chute des fleurs ou la déformation nécrotique des fruits. Quelques espèces de thrips sont des vecteurs de la maladie bronzée de la tomate (TSWV) (Shankara *et al.*, 2005).

### **1.8.4. Moyens de lutte contre les maladies et ravageurs**

Selon l'étude de Naika *et al.* (2005), pratiquement tous les ravageurs et maladies sont réprimés adéquatement par l'application de pesticides synthétiques chimiques. Cependant, quelques ravageurs ont développé une résistance à certains pesticides. C'est la raison pour laquelle les stratégies de lutte intégrée qui combinent l'utilisation de variétés résistantes/tolérantes, les pratiques de culture appropriées et l'application rationnelle de pesticides (en mettant l'accent sur les pesticides biologiques et l'emploi des ennemis naturels) sont recommandées.

La rotation de la culture de tomates avec d'autres cultures telles que des céréales, des choux, des oignons, des arachides, du manioc, du sésame, est aussi recommandée. Il est conseillé de ne pas faire de rotation des cultures avec la famille des Cucurbitacées (par ex. concombre ou citrouille) ni avec la papaye, puisque ces derniers peuvent transmettre des maladies à la tomate.

Il est important d'éliminer les mauvaises herbes et les restes de plantes (les feuilles et les fruits pourris) et d'inter planter avec des plantes qui émettent par le biais de leurs systèmes racinaire des

substances que les nématodes n'aiment pas ou qui tuent ces derniers, comme le sésame ou les tagètes.

L'exposition du sol à la lumière du soleil et au vent, ainsi que le labour répété, entraînent les organismes nuisibles du sol, comme les anguillules, à remonter à la surface où ils sont exposés au soleil et à des températures élevées, ce qui les tue (Shankara et al., 2005). L'utilisation des cultivars résistants est aussi une bonne solution (les feuilles velues nuisent à la mouche blanche lorsqu'elle veut pondre ses œufs). Les insectes tels que le puceron et les aleurodes peuvent être éliminer aussi en plantant entre les lignes des pieds de tomate (en culture intercalaire) ou le long des allées, des buissons ou d'autres types de végétation. Les films plastiques et les fertilisants organiques constituent également un moyen de lutte efficace.

## **2. Interaction entre les microorganismes et les plantes dans la rhizosphère**

### **2.1. Définition de la rhizosphère**

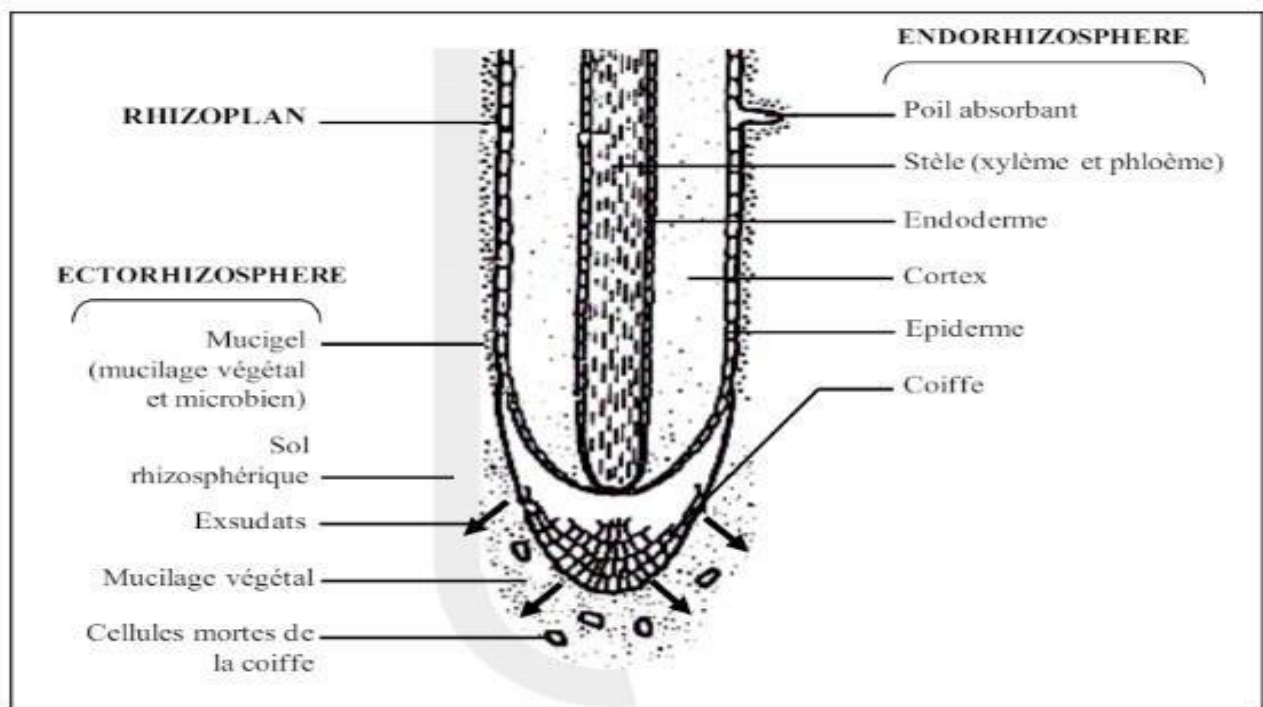
Le terme "Rhizosphère" a été introduit par Lorenz Hiltner en 1904, "Rhizo" vient du mot grec "rhiza", signifiant "racine", et "sphère" est la sphère d'action ou d'influence (l'environnement naturel). La rhizosphère est la zone du sol directement touchée par les racines et les microbes associés. C'est là que se produisent de forts échanges entre les substrats végétaux et les minéraux (Darrah *et al.*, 2006).

La rhizosphère est la zone de sol qui est sous l'influence des exsudats racinaires. Dans cette zone se trouve un groupe particulier de rhizobactéries et microchampignons, capables de se multiplier et de rivaliser avec les autres microorganismes pour occuper cette zone riche en éléments nutritifs. L'association, le rôle et les effets que les rhizobactéries et microchampignons exercent sur la plante sont fonction du succès de leur établissement dans la rhizosphère ; ils peuvent avoir un effet positif, négatif ou neutre sur la croissance des plantes. La rhizosphère constitue ainsi un lieu d'échange entre le végétal et le minéral ; c'est un milieu complexe aux multiples interactions (Lynch, 1990).

## 2.2. Zones de la Rhizosphère

Selon Schröder et Hartmann (2003), Cette zone d'interaction peut être divisée en trois zones distinctes (Figure 08), l'endorhizosphère (intérieur de la racine), le rhizoplan (surface racinaire) et l'ectorhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié à la racine par opposition au sol distant).

La plante va donc libérer au sein de la rhizosphère divers éléments carbonés, dont les photosynthétats, regroupés sous le terme de rhizodépôts. Les rhizodépôts sont composés des exsudats racinaires (ou photosynthétats : sucres, acides aminés, acides organiques, hormones, vitamines), de sécrétions de mucilage (sucres polymérisés, enzymes) et de cellules sénescentes (cellules de la coiffe racinaire, cellules corticales et épidermiques) finissant par englober l'ensemble de la racine à la mort de la plante (Lynch & Whipps 1990 ; Nguyen 2003).



**Figure 8 :** Représentation schématique des trois zones de la rhizosphère (D'après Lynch 1983).

## 2.3. Interactions au niveau de la rhizosphère

Certains microorganismes produisent une large gamme de molécules dans le sol, ce qui améliore la nutrition minérale, la croissance et le développement de la plante. Par ailleurs, d'autres microorganismes, au contraire, se développent en altérant les plantes. Ils jouent le rôle de parasites qui causent des maladies très graves et très contagieuses chez les plantes (Berg, & Smalla, 2009).

### **2.3.1. Interactions non symbiotiques**

L'interface entre le sol et les racines est un habitat très dynamique. Dans la masse de sol environnante, la croissance et la prolifération des microorganismes sont limitées par un déficit de carbone et d'énergie. Par contre, la libération continue de nutriments organiques dans la rhizosphère stimule l'activité et la multiplication des microorganismes. Le développement de la communauté rhizosphérique a une variété d'impact direct ou indirect sur la production de biomasse de la plante. Beaucoup de bactéries qui colonisent la rhizosphère produisent des composés organiques qui permettent le développement du système racinaire des plantes. (Djigal. 2003). Les effets indirects résultent de l'effet de la communauté microbienne rhizosphérique sur la *structure du sol*. (Djigal. 2003).

### **2.3.2. Interactions symbiotiques**

En plus des interactions avec les microorganismes dans la rhizosphère, les racines des plantes établissent des relations symbiotiques spécifiques avec certains microorganismes du sol. Les principaux Deux types d'associations peuvent exister sont les associations mycorhiziennes et les symbioses fixatrices d'azote (Djigal. 2003).

## **2.4. Champignons dans la rhizosphère**

Les champignons dans la rhizosphère sont souvent des champignons symbiotiques,. Ces champignons peuvent aider les plantes en améliorant l'absorption des nutriments, en augmentant la résistance aux maladies et en améliorant la structure du sol. (Smith. & Read.2008)

Les champignons mycorhiziens forment des associations symbiotiques avec les racines des plantes, où ils échangent des nutriments avec la plante hôte. Ils peuvent aider les plantes à absorber des nutriments tels que le phosphore et les minéraux, en échange de composés carbonés produits par la plante au cours de la photosynthèse. (Smith. & Read.2008)

En plus des champignons mycorhiziens, il existe également d'autres types de champignons dans la rhizosphère qui peuvent avoir des interactions variées avec les plantes, comme les champignons pathogènes qui peuvent causer des maladies, ou d'autres champignons saprophytes qui se nourrissent de matière organique morte dans le sol. (Berg, & Smalla, 2009).

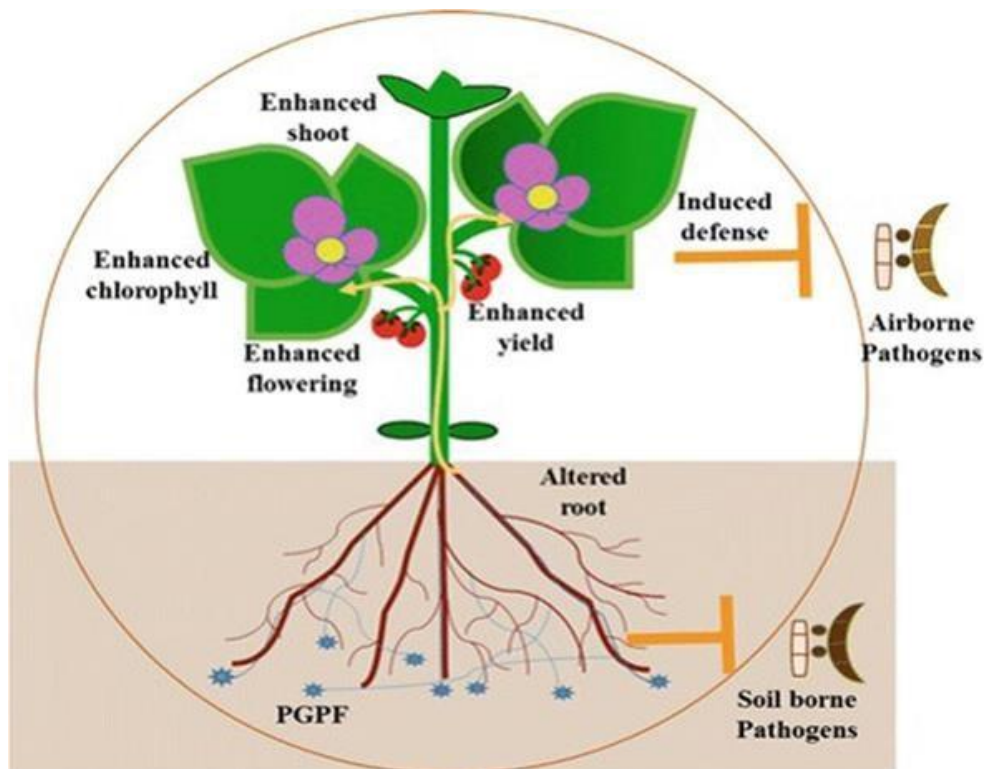
Parmi les champignons les plus étudiés quant à l'exploitation de leurs effets bénéfiques aux plantes cultivées ; les PGPF «Plant Growth-PromotingFungi » occupent une place de choix. Ils peuvent être des champignons filamenteux voire même des levures également appelées PGPY “ Plant

Growth-PromotingYeasts''. D'autres travaux ont montré l'intérêt des cyanobactéries, des mycorhizes, des actino mycetes et des bactéries lactiques (Lopez-seijas *et al.* 2019 ; Ya *et al.* 22)

## 2.5. Interaction des plantes avec les PGPFs

### 2.5.1. Définition des champignons favorisant la croissance des plantes (PGPFs)

Les champignons favorisant la croissance des plantes (PGPFs) sont des champignons non pathogènes, saprotrophes, qui vivent librement à la surface des racines, à l'intérieur de la racine elle-même ou dans la rhizosphère, (Bent 2006). Ils ont plusieurs effets positifs sur la plante hôte, à savoir, le pouvoir à stimuler les défenses de la plante, l'activité antagoniste envers différents phytopathogènes, tout en favorisant et stimulant directement la croissance de la plante (Fuchs, et Biophyt. 1999.). (figure 9)



**Figure 9 :** Impact des PGPFs sur la promotion de la croissance des plantes et la suppression des maladies.

(Houssain *et al* 2017)

### 2.5.2. Classification des PGPFs

Les principaux champignons à effet PGPF sont classés dans le tableau suivant :

**Tableau 2 :** taxonomie des principaux champignons PGPF

Espèce ou genre	<i>Trichoderma</i>	<i>Apergillus flavus</i>	<i>Asperigillus japonicus</i>	<i>Gliocladium virens</i>
Règne	Fungi	Fungi	Fungi	Fungi
Division	Ascomycota	Ascomycota	Ascomycota	Ascomycota
Sous-division	Pezizomycotina	Pezizomycotina	Pezizomycotina	Pezizomycotina
Classe	Sordariomycètes	Eurotiomycetes	Eurotiomycetes	Sordariomycètes
Sous-classe	Hypocreomycetidae	Eurotimycetidae	Eurotimycetidae	Hypocreomycetidae
Ordre	Hypocréales	Euritiales	Euritiales	Hypocreales
Famille	Hypocreaceae	Asperigillaceae	Asperigillaceae	Hypocreace

Source : <http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx>

### 2.5.3. Mécanismes d'action des PGPFs

Les PGPFs agissent à travers un ou plusieurs modes d'actions en même temps, ces mécanismes comprennent la compétition trophique et spatiale, l'induction d'une résistance systémique, la promotion de la croissance de la plante, la sécrétion d'enzymes lytiques, ainsi que le mycoparasitisme et l'antibiose. En effet les PGPFs jouent un rôle important dans l'amélioration de la germination des graines et l'élongation des pousses. Certains peuvent aussi affecter le développement des racines et stimuler une floraison précoce. D'autres ont la possibilité d'améliorer la capacité photosynthétique de la plante et stimuler la production de métabolites secondaires de l'hôte. Ils ont également la capacité de protéger les plantes contre les microorganismes nuisibles notamment les champignons. Par conséquent, ils sont considérés comme des ingrédients actifs potentiels dans la formulation des biofertilisants et des mycofongicides (Pieterse *et al.* 2014).

La résistance induite est définie comme le déclenchement de composés défensifs suite à une attaque d'agents pathogènes ou d'insectes. La résistance induite peut être classée en deux catégories, la résistance systémique induite (ISR) et la résistance systémique acquise (SAR), en fonction des voies chimiques impliquées et de la manière dont la résistance a été déclenchée. L'ISR s'est également déclenché en réponse à des agents pathogènes particuliers,

au stress dû à la sécheresse, aux herbivores et à des blessures mécaniques. L'ISR est médiée par l'activation de la voie du jasmonate (Cong & Lingyun 2019). Les champignons favorisant la croissance des plantes peuvent renforcer le mécanisme de défense d'une plante contre les insectes et les agents pathogènes en induisant une résistance ou en provoquant des réponses défensives de la plante (Adesemoye & Kloepper 2009). La résistance induite des plantes peut être déclenchée, en fonction de la source, du type et de la quantité de stimuli (Aranega-Bou *et al.* 2014).

Les souches *Trichoderma* inoculées dans la rhizosphère protègent les plantes hôtes contre de nombreux agents pathogènes, notamment les bactéries et les champignons, en raison de l'induction de réponses de résistance similaires au mécanisme d'hypersensibilité, SAR et ISR chez les plantes (Singh *et al.* 2016, Jyoti *et al.* 2014). Singh *et coll.* (2016) ont également signalé que l'activité des espèces réactives de l'oxygène (ROS) de la peroxydase était davantage déclenchée par *T. virens* dans les plants de coton que chez le témoin. D'autres espèces fongiques peuvent également induire des mécanismes de résistance chez les plantes, par exemple *Chaetomium globosum* libère de la chaétoglobosine C et peut stimuler des réactions oxydatives restreintes et systémiques chez les carottes, les patates douces, les pommes de terre, le tabac et les tomates et cette substance peut conduire à induire une défense des plantes contre la résistance aux maladies (Hu *et coll.* 2013).

En moyenne, 44% des isolats fongiques de la rhizosphère sont des PGPF (Hyakumachi, 1994). Parmi eux, *Trichoderma* et quelques souches non pathogènes appartenant au genre *Fusarium*, ils ont une large distribution et sont, de loin, les plus largement signalés comme étant agents de biocontrôle contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. (Caron et Laverdière, 2012). Ces champignons sont intéressants en raison de leur capacité de reproduction élevée, leur résistance dans des conditions défavorables, de leur efficacité dans l'utilisation des nutriments, de leur agressivité vigoureuse contre les agents pathogènes des plantes, de leur efficacité dans la promotion de la croissance et des mécanismes de défense des plantes (Suleiman *et al.* 2019; Ramirez-Carino *et al.*, 2020 ; Sallam *et al.* 2019).

Le *Pythium oligandrum* est un champignon oomycète dont les propriétés antagonistes sont reconnues depuis plusieurs années (Jones et Deacon 1995). Les études portant sur les mécanismes par lesquels cet agent pouvait lutter contre les populations pathogènes dans la rhizosphère ont montré que le mycoparasitisme via la production d'enzymes hydrolytiques était l'un des éléments clés du processus (Benhamou *et al.* 1999).

## **2.6. Interactions phytopathogènes**

Le terme de phytopathologie désigne les troubles et les maladies de la plante causés par l'action d'êtres vivants (maladies parasitaire et d'agents externes (maladies non parasitaires) ou ceux résultant d'un défaut de fonctionnement de la plante elle-même (désordres physiologiques) (Huguenin, 1966).

Les champignons phytopathogènes sont des champignons parasites qui provoquent des maladies chez des plantes variées. Ils appartiennent aux différents règnes fongiques (Deacon, 2005). Ces champignons sont capables d'infecter n'importe quel tissu végétal à n'importe quel stade de croissance de la plante, en suivant un cycle biologique complexe qui peut comporter des stades de reproduction sexuée ou asexuée (Garrido *et al.* 2012). Pour coloniser ces plantes et provoquer diverses maladies, ces champignons utilisent diverses stratégies. Certains, par exemple, tuent leurs hôtes et se nourrissent de matériel mort (nécrotrophes) tandis que d'autres colonisent le tissu vivant (biotrophes) (Doehlemann *et al.* 2017).

La propriété des champignons phytopathogènes est leur capacité de s'adapter très rapidement à des modifications de leur environnement, ce qui rend difficile de trouver un moyen de lutte efficace contre eux (Andanson, 2010).

## **3. *Trichoderma***

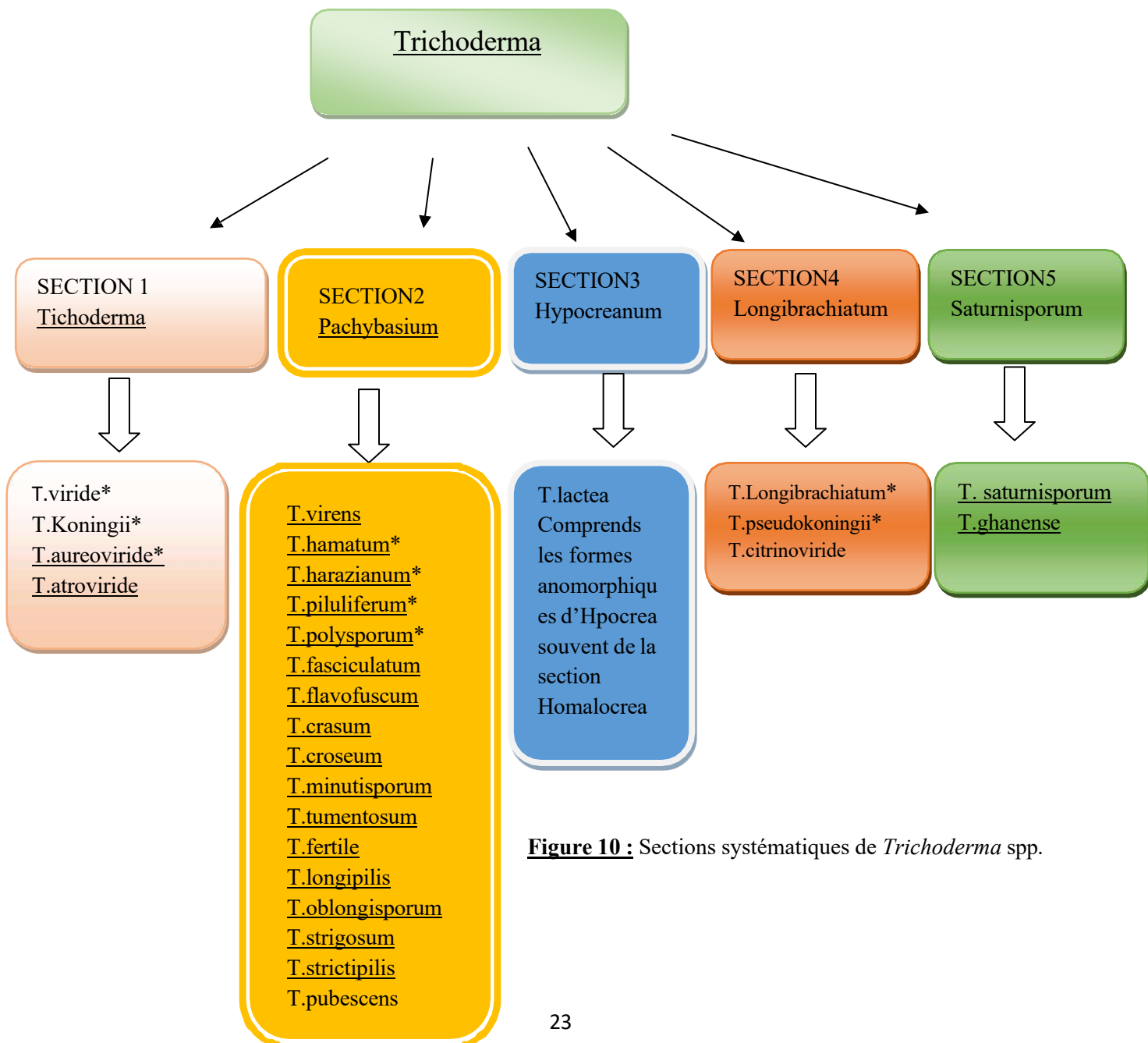
### **3.1. Présentation du *Trichoderma***

Les *Trichoderma* spp, sont des champignons cosmopolites, caractérisés par leur croissance rapide, leur capacité d'utiliser divers substrats et leur résistance à des agents chimiques nocifs (Klein et Eveleigh, 1998). Ils présentent une grande aptitude à survivre dans des conditions plus ou moins difficiles grâce à leur abondance dans le sol due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes (Mohamed-Benkada., 2006), leur capacité à dégrader de nombreux métabolites ou substrat organiques et leur résistance aux autres microorganismes. *Trichoderma* est considéré comme l'agent antagoniste le plus exploité en agriculture, où plusieurs souches présentent l'aptitude à parasiter une large gamme de champignons phytopathogènes .En effet, l'efficacité écologique de *Trichoderma* est due à la combinaison de ses divers mécanismes d'action à savoir ; l'antibiose, la sécrétion des enzymes hydrolytiques, la compétition pour l'espace et les

nutriments, ainsi que leur capacité à stimuler la croissance végétale après une colonisation racinaire rapide (Alabouvette. *et al.*, 1983).

### 3.2. Diversité et taxonomie de *Trichoderma*

Les champignons du genre *Trichoderma* appartiennent à la classe des hyphomycetes et sont souvent classés comme anamorphes de la famille des hypocreaceae de la division des ascomycetes (Esposito *et al.* 1998). Dans un premier temps Rifai, (1969) a déterminé quelques espèces de *Trichoderma* puis en 1991 Bissett a proposé la notion de «sections» pour faire face au nombre important d'espèces nouvelles de *Trichoderma* spp. En effet, en se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides, il regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (Leuchtman, 1996 ; Landreau, 2001) (Figure10)



**Figure 10 :** Sections systématiques de *Trichoderma* spp.

### 3.3. Aspect morphologique de *Trichoderma*

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* sp est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16<sup>e</sup> et le 20<sup>e</sup> jour un feutrage épais se superpose à la culture. Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septies, ramifié à parois lisses. Les conidiosporés ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001 ; Kubicek *et al.* 2003).

### 3.4. Métabolites secondaires produites par les *Trichoderma*

Les espèces de *Trichoderma* sont capables de produire plus de 180 métabolites secondaires différents, selon les conditions environnementales, le sol, la plante et l'agent pathogène auquel elles sont confrontées. Ces métabolites appartiennent à différentes classes de composés chimiques (Gams et Bisset, 1998; Reino *et al.* 2008). Ces composés ont été caractérisés et classés en des composés volatiles, des composés diffusibles et des peptaïboles (Ghisalberti et Sivasithamparam 1991).

#### 3.4.1. Production des enzymes

La production des enzymes est variable d'une souche à une autre. Ces enzymes sont exploitées dans divers domaines biotechnologiques (Kubick *et al.* 2003). Les enzymes hydrolytiques dégradant la paroi cellulaire des champignons phytopathogènes, comme les chitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, cellulases, protéases et autres hydrolases, sont parmi les métabolites diffusibles impliqués dans le mécanisme d'antibiose exercé par *Trichoderma* (Howell, 2003 ; Harman *et al.* 2004; Eziashi *et al.* 2006 ; De Castro *et al.* 2010). Les enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques sécrétées par *Trichoderma* spp telles que les chitinases et les  $\beta$  glucanases Elles sont considérées comme étant les déterminants majeurs de l'activité antagoniste (Elad *et al.* 1982 ; Lorito, 1998). Les enzymes chitinolytiques de *Trichoderma* spp. sont sécrétées de manière extracellulaire pour dégrader les substrats à base de chitine (exemple : le mycélium des

champignons). Certaines de ces enzymes ont un rôle nutritionnel et peuvent être impliquées dans le contrôle biologique (In Lorito, 1998).

### 3.4.2. Production d'autres substances bioactives

L'efficacité du contrôle biologique des souches de *Trichoderma spp.* serait associée aussi à la production des antibiotiques non volatiles ou avec d'autres mécanismes autre que le mycoparasitisme (Lorito, 1998). *Trichoderma harzianum* est capable de produire différentes molécules bioactives, entre autres, l'antibiotique 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone (6PAP) qui appartient au groupe métabolites volatiles jouant un rôle dans la lutte contre des champignons phytopathogènes tels que *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* (Jeleń *et al.* 2013 ; Błaszczuk *et al.* 2014).

Les *Trichoderma* peuvent aussi sécréter des peptaïboles (polypeptides) ayant des effets antifongiques, antibactériens (Gram +) et antivirales. Les composés appartenant à cette classe comprennent : les viridines, trichotoxines A et B, trichorzianines A et B, trichorzines et autres (Vinale *et al.* 2006 ; Reino *et al.* 2008 ; Andrabi *et al.* 2011). Les principales substances bioactives du genre *Trichoderma* sont illustrées dans le tableau 3 ci-dessous (Benkada, 2006).

Weindling et Emerson (1936) ont démontré que *Trichoderma* est capable de sécréter une substance extracellulaire, appelée « Gliotoxine », capable de dégrader les pathogènes.

**Tableau 3 :** Les principales substances bioactives de *Trichoderma harzianum*

Métabolites volatils	Ethylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (Vizscaino <i>et al.</i> , 2005)
Métabolites non volatils Diffusibles	Polyacétates (antifongiques, antibiotiques), Trichotécènes (variété de toxines actives sur microorganismes et mammifères) notamment les Trichodermines (Blumenthal, 2004).
Métabolites polypeptidiques	Ciclosporines (immunosuppresseurs, anti inflammatoire) et les peptaïboles (Landreau, 2001)

### 3.4.3. Production de phytohormones

Il est bien établi qu'en plus d'induire la synthèse des hormones de l'hôte, les champignons symbiotiques peuvent également moduler le réseau hormonal des espèces de *Trichoderma* produisant des molécules effectrices capables de déclencher des cascades de signalisation dans la plante (Hermosa.2013 et Ramírez-Valdespin2019) et qui conduisent à l'induction d'une résistance systémique aux stress biotiques et abiotiques ainsi qu'à une promotion de la croissance végétale (Hermosa.*et al.*2012), car ils produisent eux-mêmes de petites quantités de phytohormones pour remplir leur fonction. (Guzmán-Guzmán.*et al.*2019). Il a été démontré que *T. atroviride*, *T. virens* et *T. harzianum* produisent de l'IAA (acide indole3 acétique), *T. parareesei* produit du SA (l'acide salicylique) et *Trichoderma* sp. produit de l'IAA et du GA (les Gibbérelline) sans aucun inducteur, bien que l'on sache que leurs niveaux de production dépendent de la quantité de tryptophane (Trp) présente dans le milieu (Chowdappa *et al.*2013). *T. asperellum* libère également de l'ABA( l'acide abscissique ) ainsi que de l'IAA et du GA dans le milieu de culture, et son application sur le concombre favorise la croissance des plantules et atténue les effets du stress salin (Zhao etZhang,2015). La production d'IAA par *T. harzianum* a été liée au contrôle biologique de l'antracnose et à l'amélioration de la croissance des plantes de sorgho (Sabre.2017). L'IAA est la phytohormone qui régule le développement des racines primaires et latérales de la plante (Sabatini *et al.*1999). Il est bien connu que d'autres métabolites et protéines de *Trichoderma* sont impliqués dans la régulation des signaux IAA dans la plante, conduisant à la croissance des poils absorbants et à un développement accru de la masse racinaire (Samolski.*et al.*2012). Ces preuves semblent indiquer que en plus que de jouer un rôle majeur dans la morphogénèse des racines. l'IAA et les autres phytohormones d'origine fongique jouent un rôle dans l'interconnexion du développement des plantes et des réponses de défense en tant que composante du réseau complexe de phytohormones régulées par *Trichoderma* chez les plantes (Morán-Diez.*et al.*2021).

### 3.5. Mécanismes de défense des *Trichoderma*

Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade la pectinase et d'autres enzymes qui sont essentiels pour les phytopathogènes (Lindsey *et al.*1967 ;Yedida *et al.*2001). Plusieurs mécanismes ont été mis en évidence : la compétition, le mycoparasitisme, l'antibiose, l'induction de la résistance chez

la plante et la stimulation de sa croissance. Ces mécanismes peuvent intervenir seuls, en association ou séquentiellement (Jijakli, 2003).

La lutte biologique contre les maladies des plantes est la conséquence des interactions entre la plante, les agents pathogènes et ces agents de lutte biologique (Vinale *et al.* 2008).

En plus de l'effet sur les agents phytopathogènes, certaines espèces de *Trichoderma* peuvent coloniser la surface des racines et causer des changements considérables dans le métabolisme de la plante (Harman *et al.* 2004). Plusieurs études ont montré que certaines souches de *Trichoderma* induisent la résistance chez la plante et stimulent sa croissance. Parmi les champignons qui stimulent la croissance des plantes, *Trichoderma* est probablement le plus connu (Harman *et al.* 2004 ; Harman, 2006). *Trichoderma* peut solubiliser le phosphore et plusieurs micronutriments, améliorer l'assimilation de l'azote par la plante, et favoriser le développement et la formation du chevelu racinaire (Altomare *et al.* 1999 ; Harman, 2006).

Yedidia *et al.* (1999) rapportaient que d'importants changements biochimiques et structuraux étaient induits chez le concombre suite à un traitement du système hydroponique par le *T. harzianum*. Les auteurs indiquaient que la synthèse de novo de protéines PR, parmi lesquelles se retrouvaient des chitinases et des Q>- 1,3-glucanases, ainsi que la production accrue de peroxydases, les enzymes impliquées dans le processus de lignification des parois végétales, étaient les principales modifications biochimiques associées à la pénétration du *T. harzianum* dans l'épiderme racinaire. En parallèle, les observations ultra structurales des tissus colonisés révélaient l'élaboration de papilles et d'appositions pariétales servant à restreindre la croissance et le développement du champignon. Ces travaux démontraient clairement qu'outre son potentiel antagoniste, le *T. harzianum* avait également la capacité de stimuler l'arsenal de défense de la plante.

Deux champignons du sol ont jusqu'à présent retenu l'attention pour leur potentiel inducteur de résistance. Il s'agit du *Trichoderma harzianum* Rifai et du *Pythium ligandrum* Drechsler (Benhamou et Picard, 1999).

Les *Trichoderma* spp. ont attiré l'attention pour leur spectaculaire capacité à parasiter une gamme très variée d'agents pathogènes (Chet 1987, 1993). Récemment, certains travaux ont montré qu'un traitement du substrat avec le *T. harzianum* stimulait la croissance de certaines plantes (Harman et Bjorkman 1998), laquelle pouvait être la conséquence d'un effet de synergie entre plusieurs

facteurs incluant une meilleure translocation des minéraux, une production accrue d'hormones et un contrôle efficace des agents pathogènes dans le sol.

### **3.6. Applications de *Trichoderma* en agriculture pour le contrôle biologique des phytopathogènes et la stimulation de la croissance des plantes.**

Les *Trichoderma* sont sans conteste l'agent de lutte biologique fongique le plus étudié au niveau des mécanismes d'action (Jijakli, 2003). Des recherches récentes ont prouvé que les *Trichoderma* sont des opportunistes qui vivent en association bénéfique avec des plantes autant qu'ils sont des parasites pour quelques champignons. Ils sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, ils peuvent établir une colonisation robuste et durable au niveau des surfaces racinaires et pénètrent jusqu'à l'épiderme ce qui :

- Influence la croissance racinaire (Harman *et al.* 2004).
- Augmente la productivité, l'assimilation et l'utilisation des nutriments.
- Améliore la résistance au stress abiotique et vis-à-vis de la maladie (Culteret *al.* 1986), aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols.

La présence de *Trichoderma* dans le sol joue à la fois un rôle préventif et curatif (Harman *et al.* 2004). Selon l'estimation de Verma *et al.* (2007), environ 50% de tous les bio-fongicides mondialement homologués sont à base de *Trichoderma*. Ils sont généralement mis en vente pour une double dynamisation. Les effets de ces produits biologiques sont également destinés à stimuler la croissance végétative et améliorer le rendement des cultures en assurant davantage une résistance systémique à la plante (GUPTA *et al.* 2014). Ce large domaine d'utilisation vient grâce aux divers mécanismes de ce champignon, antagoniste aux champignons/ symbiote de plantes, qu'ils lui permettent de produire un nombre étonnant de métabolites et enzymes pouvant même détruire les formes de conservation les plus virulentes des agents phytopathogènes (Geraldine *et al.* 2013).

En effet, pour diminuer la dépendance du secteur agricole aux pesticides chimiques, l'Algérie a commencé à commercialiser des biopesticides formé surtout de microorganismes *Trichoderma harzianum* (B97) est un bon exemple de traitement de semence contre les maladies fongiques (index phytosanitaire, 2015 et 2017).

### **3.7. Utilisations industrielles du genre *Trichoderma***

#### **3.7.1. Utilisation dans le domaine agroalimentaire**

L'utilisation du genre *Trichoderma* dans ce domaine est basée sur la production de beaucoup d'enzymes extracellulaires utilisés dans le commerce tels que la cellulase et d'autres enzymes de dégradation des complexes polysaccharidiques. Par exemple l'espèce *Trichoderma reesei* est l'organisme le plus performant dans la production de cellulases (Roquebert, 1996). Les cellulases sont utilisées, par exemple, dans l'alimentation des oiseaux, permettant ainsi d'accroître la digestion des hémicelluloses de l'orge et d'autres céréales (Botton *et al.* 1990).

#### **3.7.2. Utilisation dans le domaine de l'industrie de textile et du papier**

Selon le même principe, les cellulases sont utilisées lors du processus de préblanchage des tissus pour leur donner plus facilement la couleur blanche (Botton B. *et al.*, 1990). L'espèce *Trichoderma reesei* a aussi la capacité de blanchir le papier, ce qui pourrait être une alternative aux méthodes traditionnelles utilisant le chlore (Samuels G.J., 1996).

#### **3.6.3 Utilisation dans le domaine médical**

Des métabolites polypeptidiques ont été extraits de l'espèce *Trichoderma polysporum*, c'est le cas des cyclosporines utilisées pour leur potentiel immunosuppresseur et anti-inflammatoire, mais aussi des peptaïbols ayant une activité antibiotique principalement (Botton B. *et al.*, 1990)

## **4. Le *Fusarium***

### **4.1 Présentation du *Fusarium***

La principale caractéristique morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies en forme fusiformes, cloisonnées (Tabuc, 2007). Le thalle des *Fusarium* est à croissance, habituellement, rapide et de couleur variée (Jeunot, 2005), les conidiophores parfois très ramifiés formant sur le thalle des coussinets.(sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects gras, les phialides sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies: des macroconidies fusiformes, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon et/ou des microconidies petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes. Les chlamydospores peuvent être présentes comme absentes, se différenciées soit par le mycélium ou par les conidies (Botton *et al.* 1990 ; Jeunot, 2005).

Les espèces de *Fusarium* sont des champignons filamenteux cosmopolites, comprenant des pathogènes opportunistes infectant les plantes du monde entier, mais pouvant également se

développer en tant que saprophytes dans diverses zones climatiques (Stępień *et al.* 2019). On distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature. Certaines sont phytopathogènes et capables de produire de dangereuses toxines contaminant les denrées alimentaires et provoquant ainsi des maladies graves chez les animaux (et parfois chez l'homme) qui les consomment (mycotoxicoses) comme *F. graminearum* (Chabasse *et al.* 2002 ; Stępień *et al.* 2019). Elles sont aussi largement répandues dans le sol, en particulier le sol cultivé, et sont actives dans la décomposition de matières végétales cellulosiques. Elles sont une des principales causes de pourriture des fruits et des légumes et sont généralement associées aux céréales et aux légumineuses, qu'elles envahissent généralement avant la récolte comme *F. oxysporum* et *F. solani* (Pitt *et al.* 2009 ; Stępień *et al.* 2019).

#### **4.2. Espèces et taxonomie du *Fusarium***

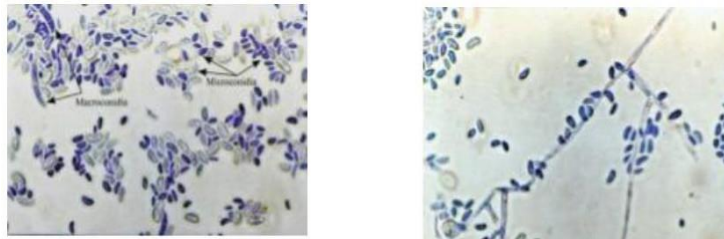
Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois en 1809 par Link. Au cours des 100 années suivantes, plus de 1000 espèces ont été décrites. Les premiers travaux majeurs dans la classification du genre *Fusarium* ont été entrepris par Wollenweber et Reinking dans les années 1930 et leur publication, en 1935, a été le point de départ des systèmes taxonomiques modernes de *Fusarium*. Dans cette publication, ils ont organisé le genre en 65 espèces avec 55 variétés et 22 formes sous-spécifiques en 16 sections. Entre les années 1940 et 1950, Snyder et Hansen ont réduit le nombre d'espèces à neuf seulement. Leur système a simplifié l'identification mais il a regroupé ensemble de nombreux génotypes de phénotypes très variables. Au cours des décennies suivantes, plusieurs chercheurs ont publié d'autres systèmes taxonomiques soit en apportant des modifications au système de Snyder et Hansen, soit en créant un système hybride entre les deux systèmes précédents ; notamment Gordon qui a publié une série d'articles sur *Fusarium* spp. au Canada dans lesquelles il a décrit 26 espèces, en utilisant des concepts de Wollenweber et Reinking et de Snyder et Hansen. Ou Booth qui a divisé le genre en 44 espèces dans une publication nommée «The Genus *Fusarium*», en 1971, en suivant les concepts de Wollenweber et Reinking (Munkvold, 2017).

### 4.3. Pathologie et symptomatologie de *Fusarium* sur les plantes

Les principales espèces phytopathogènes du genre *Fusarium* sont :

#### 4.3.1. *Fusarium oxysporum*

*Fusarium oxysporum* est l'espèce ascomycète la plus répandue et virulente sur les cultures, c'est l'agent pathogène de nombreuses plantes cultivées, y compris les tomates, la patate douce, le chou, le concombre, le melon, les palmiers dattiers, l'ananas, les pois et le coton. Il infecte également les céréales, y compris le maïs, le riz et l'orge et les noix comme les arachides, les pacanes, les noisettes et les noix (Pitt et Hocking, 1997 ; Leslie et Summerell, 2006). *Fusarium oxysporum* contient elle seule 120 formes spéciales répertoriées et classés en fonction de la spécificité de l'hôte (Agrios, 2005) Sa virulence vient de son aptitude à produire la moniliformine, l'estvéricine et les fumonisines de type B et de type C (Moretti *et al.* 2002 ; Proctor *et al.*, 2004 ; Pitt et Hocking, 2009) et plusieurs mycotoxines dont lui confèrent des rôles antifongiques, antibactériens, cytotoxiques et parfois un pouvoir cancérigène (Carlesse *et al.*, 2017 ; Perincherry *et al.*, 2019). (Figure 11).



**Figure 11 :** Observation microscopique de l'espèce *Fusarium oxysporum* (Sciortino, 2017)

Le *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* est l'agent pathogène de *Fusarium* Wilt qui est une maladie fongique de la tomate. L'infection se produit à travers les petites racines et atteint les vaisseaux du bois et la moelle, puis jusqu'au sommet de la tige de la plante et de ses branches. L'infection apparaît initialement sous la forme d'un jaunissement des petites nervures des feuilles inférieures, suivi d'un enroulement des feuilles, et le jaunissement progresse jusqu'à inclure toute la feuille pour se flétrir et mourir. Ces symptômes apparaissent au stade de la floraison et de la nouaison à la suite d'un blocage. Cette maladie apparaît dans les cultures sous serre, mais au plein champ, ce sont les variétés qui y résistent (Marmande, Super Marmande, Roma, Rio-grande, Saint Pierre) (I.N.N.P.V, ITMAS).



**Figure 12:** Symptômes de maladie *Fusarium wilt* sur A (feuilles) B (tige) de la tomate (Rahmouni, 2019)

#### 4.3.2. *Fusarium solani*

*Fusarium solani* a été isolé des cultures souterraines telles que la pomme de terre et l'arachide mais également les cucurbitacées, notamment les melons, ainsi que des légumineuses telles que les haricots, le soja et les pois (Peters *et al.* 2008 ; Pitt et Hocking, 2009). *Fusarium solani* produit de l'acide fusarique et la cyclosporine (Pitt et Hocking , 2009) (figure 13).



**Figure 13:** observation microscopique de l'espèce *Fusarium solani* en milieu PDA (Sciortino,2017).

*F. solani* est l'agent causal de la pourriture du pied de tomate (Romberg et Davis, 2007) et peut également être pathogène des fleurs, fruits et tiges (Nakayama *et al.* 2010)

#### 4.4. Importance de la fusariose en Algérie

Les Fusaria sont parmi les champignons telluriques les plus agressifs, causant des flétrissements et des pourritures sur de nombreuses espèces végétales cultivées. La tomate peut être sujette à deux maladies fusariennes différentes soit le flétrissement fusarien (*Fusarium wilt*) causé par *F.*

*oxysporum* f. sp. *lycopersici* abrégée Fol et la pourriture des racines et du collet (*Fusarium* crown and root rot) causée par *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* abrégée Forl (Arie *et al.* 2007)

Selon Blancard (2009), la fusariose de la tomate est la maladie fongique trachéomyose la plus destructive des plants dans les conditions chaudes et les sols sableux mais plus essentiellement sur les cultures sous serre. Les symptômes extérieures de cette maladie apparaissent d'abord comme un jaunissement des feuilles du bas, souvent d'un seul côté de la plante. Celle-ci se fane et meurt lentement. Le tissu ligneux des plantes malades est coloré en brun rougeâtre, en stries longitudinales. A l'extérieur des tiges, on observe l'apparition des racines adventives avortées. La fusariose est favorisée par les températures élevées (optimum 28 °C). La fusariose est transmissible par les semences.

Elle se représente en deux espèces essentielles à la tomate, *F. solani* et *F. oxysporum*, qui s'incriminent dans l'apparition d'importantes répercussions agressives sur les différentes variétés (Blancard, 2012).

#### **4.5. Mécanisme de défense des plantes et le rôle des PGPFs dans le biocontrôle de la fusariose.**

Les plantes réagissent instantanément à l'agent phytopathogène. Cet effet se manifeste par la sécrétion de diverses protéines, telles que des enzymes (Askun, 2018). Un élément de la résistance des plantes au *Fusarium* et à leurs toxines est lié à la capacité des tissus végétaux de produire des métabolites primaires et secondaires. Des études récentes ont mis en évidence une variété de métabolites tels que les acides gras, les acides aminés, les glucides, les amines et polyamines, les terpénoïdes, les dérivés de benzoxazinoïdes et les phénylpropanoïdes qui sont impliqués dans la défense des plantes et contribuent à la résistance à *Fusarium* et à l'accumulation de leurs mycotoxines (Jimenez-Garcia *et al.* 2018).

La capacité des différentes espèces non pathogènes de *Fusarium* dans la gestion des maladies a été rapportée dans de nombreuses études. Ces souches diffèrent non seulement par leur efficacité et leur mode d'action, mais aussi par leur caractéristique génotypique et phénotypique (Van der *et al.* 1986). Plusieurs de ces souches ont montré une forte capacité inhibitrice vis-à-vis des fusarioses vasculaires, parmi elles, la souche Fo47 active, utilisée comme souche modèle dans la bioprotection des plantes vis-à-vis des formes pathogènes de Fo. Du point de vue théorique, l'interaction entre les souches pathogènes et non pathogènes de *Fusarium* tient place au niveau du sol, au niveau de la rhizosphère mais également à l'intérieur des racines (Alabouvette *et al.* 1982). Il est également à noter que les *Fusarium* non pathogènes jouent un rôle prépondérant dans les

actions d'inhibition des fusarioses dans les sols suppressifs (Rouxel *et al.* 1979).

# **Matériel et méthodes**

## Chapitre II : Matériel et méthodes

Le principal objectif de la présente étude est l'évaluation de l'effet antagoniste des PGPFs appartenant au genre *Trichoderma* contre un agent phytopathogène du genre *Fusarium* sur la culture de tomate dans des conditions contrôlées *in vitro* et *in situ*, avec la recherche des biomolécules impliquées dans cet interaction et la détermination des conditions physicochimiques favorisant leur développement. La totalité du travail a été effectué dans le laboratoire notre faculté pendant 5 mois

### 1. Matériel biologique

#### 1.1. Mixture du sol

La mixture nécessaire pour la bonne croissance de la plante a été préparée en mélangeant du sol agricole, du sable de rivière et du terreau (figure 14) qui ont été stérilisés par tyndallisation en utilisant un autoclave à une température de 120°C pendant 60mn et ce durant 3 jours consécutifs. Le pourcentage de chacun de ces éléments dans cette mixture est le suivant : le sol 50%, le sable 25%, et le terreau 25%, le tout a été mélangé manuellement après stérilisation dans un récipient lavé avec l'eau de javel. Le sol et le sable proviennent d'un champ de tomate de la région de Bordj El Bahri (wilaya de Boumerdes). Le terreau a été acheté emballés dans des sac de 10Kg (figure 14,15).



**Figure 14:** les différents composants de la mixture dans l'ordre (sol, sable, terreau)



**Figure 15 :** la mixture du sol prête à être utiliser

### **b. Les graines**

Les graines de la tomate ont été fournies par Sarl Doudah spécialisé dans la vente et distribution des semences et produits phytosanitaires (figure 16)



**Figure 16:** graines de tomate utilisé

### **c. Les souches fongiques**

Cinq souches fongiques ont été fournies par Madame Berkate Amina, les souches ont été isolées dans le cadre de sa thèse de doctorat. Quatre sont du genre *Trichoderma* (T1, T2, T3 et T4) et une souche est du genre *Fusarium*. Après confrontation de chacune des quatre souches de *Trichoderma* contre la souche du *Fusarium* et en fonction des résultats obtenus, deux souches a savoir T2 et T4 ont été sélectionnées pour la suite du travail.

## **2. Méthode de travail**

### **2.1. Revivification des isolats**

Afin de rajeunir nos souches pour travailler dans les meilleures conditions possibles et confirmer leur pureté, nous procédons aux repiquages dans un milieu PDA. Chaque repiquage consiste en un prélèvement d'un explant de gélose à l'aide d'une anse de platine chauffée au bec Bunsen afin de faciliter le prélèvement des explants qui sont déposés chacun dans une nouvelle boîte de Pétri, Les cultures fongiques sont incubées à 28°C pendant une semaine.

### **2.2. Identification morphologique des isolats fongiques**

Elle consiste en une observation de nos souches au niveau macroscopique et microscopique.

#### **2.2.1. Observation macroscopique**

C'est une observation à l'œil nu afin de mettre en évidence plusieurs caractères tel que la couleur ainsi que la vitesse de croissance des souches fongiques.

#### **2.2.2. Observation microscopique**

Elle consiste en l'observation du mycélium qui comprend la morphologie des hyphes (cloisonnés ou non) et tout le reste ainsi que la forme des spores, leur morphologie, la façon dont elles sont rattachées aux filaments ainsi que l'appareil sporifère, cette observation inclura la méthode suivante :

- **Méthode du ruban adhésif**

Cela consiste en plusieurs étapes qui sont les suivantes

- Déposer une goutte de BM sur une lame propre
- Application de ruban adhésif à la surface de la colonie fongique à étudier
- Dépôt de l'empreinte de la colonie fongique sur la lame
- Observation de la lame au microscope au faible grossissement x 40a été sélectionné pour cette observation

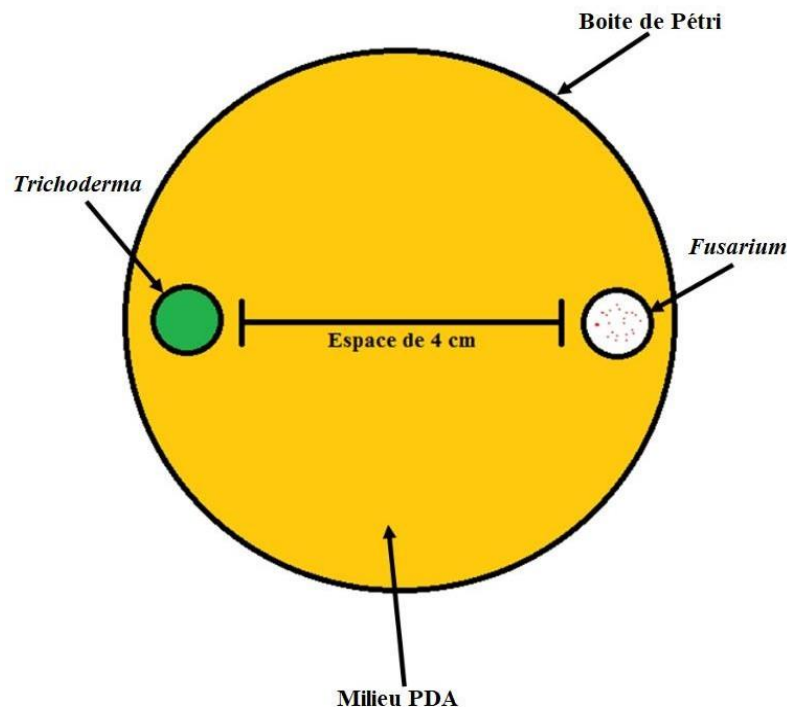
### **2.3. Screening de l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp contre l'isolat de *Fusarium* spp**

Cette méthode permet de mettre en évidence l'effet antagoniste des quatre souches de *Trichoderma* (T4,T3,T2,T1) contre la souche de *Fusarium*. Cela consiste en 2 confrontations : une directe et une indirecte, elles nous permettront de déterminer les souches les plus

antagonistes au *Fusarium* qui seront sélectionnées pour d'autres tests, les 2 confrontations ont été évaluées sur le milieu PDA.

### 2.3.1. Confrontation directe

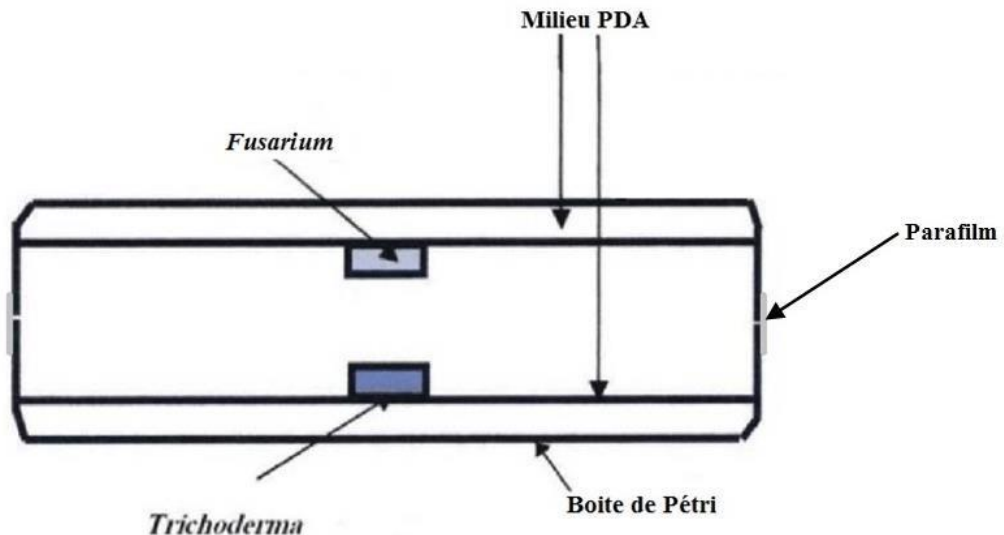
La technique utilisée pour l'évaluation de l'effet antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp est celle préconisée par Hajieghrari *et al.* (2008), De la Cruz- Quiroz *et al.* (2018) et Bedine Boat *et al.* (2020). Cette technique consiste à placer dans une même boîte de Pétri (de 9 cm de diamètre) contenant du milieu PDA, deux explants de gélose extraits avec des emboues stériles, l'un contenant l'antagoniste et l'autre contenant le pathogène. Les deux disques sont placés selon un diamètre espacé de 4 cm et à égale distance du centre de la boîte (figure 17). L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 7 jours. Une boîte de contrôle contenant uniquement l'agent pathogène a été incubée dans les mêmes conditions .



**Figure 17:** Confrontation entre le pathogène et l'antagoniste par contact direct sur milieu gélosé.

### 2.3.2. Confrontation indirecte

La technique utilisée pour l'évaluation de l'effet des substances volatiles est celle adoptée par Camorta (1985), Fiddman et Rossall (1993), Hibar *et al.* (2005), Gaigole *et al.* (2011) et Ruangwong *et al.* (2021). Elle consiste à repiquer l'agent antagoniste et l'agent pathogène dans deux boîtes distinctes. L'assemblage est ensuite réalisé par la superposition de deux boîtes, l'antagoniste en bas et le pathogène *Fusarium* sp. en haut (figure 18). La liaison des deux boîtes a été sécurisée par une bande de couches de para film de façon à éviter toute contamination et toute perte de substances volatiles. Le témoin a été préparé de manière classique c'est-à-dire déposer une pastille de *Fusarium* sp dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les conditions de culture ont été identiques à celles de la confrontation directe, Les boîtes sont incubées pendant 7 jours à 30°C.



**Figure 18:** Confrontation indirecte entre le pathogène et l'antagoniste

### 2.3.3. Pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition est calculé après 7 jours d'incubation selon la formule suivante :

$$\% I = [(R1 - R2)/R1] \times 100.$$

I (%) représente l'inhibition moyenne de la croissance mycélienne,

R1 est le diamètre moyen du champignon pathogène en absence de l'agent antagoniste.

R2 est le diamètre moyen du champignon pathogène en présence de l'agent antagoniste.

## **2.4. Etude des paramètres ou facteurs qui influencent la croissance des isolats.**

La compréhension des modalités d'action d'un agent de lutte biologique nécessite essentiellement la connaissance de sa biologie ainsi que des pathogènes visés en plus des facteurs abiotiques qui favorisent leur développement.

Afin d'approfondir notre connaissance sur les différents facteurs qui agissent sur la croissance du pathogène et de son antagoniste nous avons opté pour une étude des caractères physicochimiques sur la souche de *Fusarium* spp ainsi que les souches de *Trichoderma* T4 et T2 (les plus performantes d'après les tests de confrontation) en les exposant à différents facteurs physicochimiques tels que : la composition du milieu, la température, le pH, la salinité et la lumière.

### **2.4.1. Influence du milieu de culture**

Dans cette étude nous avons prélevé des explants de chacune des trois souches (*Fusarium*, T4 et T2) et nous avons mis chacun d'entre eux individuellement dans des boîtes Pétri contenant des milieux aux différentes compositions. Trois milieux organiques (PDA, OGA, Sabouraud, Malt) et un milieu semi organique (Waksman) et deux milieux minéraux (Richard et Czapeck) ont été utilisés pour un total de 21 explants. Les cultures sont incubées pendant 7 jours à 28°C.

### **2.4.2. Influence de la température**

Afin de déterminer la température optimale à la croissance de nos souches fongiques, ces dernières ont été testées dans différentes conditions thermiques selon le protocole établi par Samuels *et al.* (2002) où nous avons mis nos différentes cultures dans des étuves réglées à 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C pendant 7 jours.

### **2.4.3. Influence de la salinité**

L'incubation de nos souches a été faite à 28°C dans des boîtes de Pétri avec un milieu contenant des concentrations croissantes en sel (NaCl=2 g/l, NaCl=4 g/l, NaCl=8 g/l). Après 7 jours d'incubation on va observer l'effet de la concentration en NaCl sur la croissance de nos isolats.

### **2.4.4. Influence de la lumière**

Des explants de nos souches ont été déposés dans des boîtes de Pétri avec le milieu (PDA) utilisé par défaut et exposé ensuite à des conditions variables de luminosité ; une série dans l'obscurité totale, une série sous un éclairage continu de lumière et une série avec un cycle

alternatif (lumière et obscurité de 12 h équivalent au jour et la nuit ) pendant une semaine à température ambiante. Les 3 séries sont isolées dans des compartiments partageant les mêmes conditions autre que la lumière. La source de lumière utilisée est une lampe à lumière blanche LED de 7 watts.

#### **2.4.5. Influence du pH**

Cette étude a été effectuée sur plusieurs milieux PDA aux pH variables qui ont été tamponnés avec le tampon phosphate à 0.05 M qui a ajusté leur pH à 5, 6, 7, 8 et 9 selon les différentes variations des solutions du tampon. L'incubation a eu lieu pendant 7 jours à 28°C

### **2.5. Screening Qualitatif des Activités Enzymatiques des Isolats de *Trichoderma* spp**

#### **2.5.1. Production d'enzymes lytiques et métabolites d'intérêt (CWDE)**

##### **2.5.1.1. Production des chitinases**

La chitine sous sa forme la plus basique est insoluble dans l'eau et les solvants organiques. Pour pouvoir produire le milieu nécessaire à notre expérience, on a besoin d'un milieu avec une répartition homogène de la chitine, cette dernière doit être reconstituée en chitine colloïdale.

- **Préparation de la chitine colloïdale**

le protocole adopté est un protocole modifié de Murthy et Bleakley (2012) qui consiste à dissoudre de la chitine dans de l'acide chlorhydrique concentré en ajoutant lentement 20 grammes de poudre de chitine à 300 ml d'acide chlorhydrique concentré (~12M) dans un bécher en verre de 1 litre, avec agitation continue pendant 10 heures sous une hotte chimique à température ambiante. , la suspension obtenue est traitée avec 2 litres d'eau distillée à l'aide d'une centrifugeuse pour permettre la précipitation de la chitine colloïdale. Le dépôt obtenu est ensuite lavé à fond avec de l'eau distillée, ce processus est répété plusieurs fois jusqu' à l'obtention des précipitations au pH neutre, la chitine colloïdale obtenue est pressée entre deux papiers filtres pour éliminer toute humidité supplémentaire, stérilisée, puis conservée à 4°C.

- **Evaluation de la production de la chitinase**

L'évaluation de la production de la chitinase par les souches de *Trichoderma* spp a été faite dans un milieu spécifique au pH de 4.7, elles sont inoculées sous forme de disque au centre de la boîte de Pétri et incubées pendant 2-3 jours à 30°C. La chitine colloïdale est la seule source

de carbone dans le milieu. Du pourpre de bromocrésol a été aussi inclus comme indicateur de pH qui est habituellement jaune, mais il devient violet en cas d'augmentation du pH. Lorsque la chitinase est présente, ce changement de couleur près de la souche indique la production de chitinase pour décomposer la chitine colloïdale en raison de son pH plus élevé.

#### **2.5.1.2. Production des protéases**

La mise en évidence de la production des protéases chez *Trichoderma* fait appel à leur inoculation dans un milieu solide avec une source de protéine, dans ce cas le lait écrémé a été utilisé. Après incubation à 30°C pendant 3 à 4 jours, un résultat positif sera indiqué par l'apparition d'un halo clair autour des explants de *Trichoderma*, ce qui indique l'hydrolyse du lait écrémé, par contre l'absence du halo indiquerait un résultat négatif, donc pas de zone d'hydrolyse autour de la culture et en conséquence l'absence de la production de la protéase (Berg *et al.*, 2002; López *et al.*, 2019).

#### **2.5.1.3. Production de la $\beta$ -1,3-glucanase**

Afin de tester la production de la glucanase par nos deux souches de *Trichoderma*, ces dernières ont été inoculées sur un milieu synthétique minéral (MSM) mélangé avec de la farine d'orge comme source de carbone (Teather et Wood, 1982). L'incubation a eu lieu pendant 3 jours à 30°C, la révélation de l'enzyme est réalisée par l'ajout de 5 ml d'une solution iodée (1% KI; 0,5% I<sub>2</sub> (v/v)). La présence d'une zone claire autour des colonies indique que des enzymes de glucanase ont été produites.

#### **2.5.1.4. Production des cellulases**

Pour mettre en évidence la production de la cellulase par *Trichoderma*, on utilise un milieu contenant la cellulose microcristalline (CMC) (Kausar *et al.*, 2010 ; Kamala et Indira Devi, 2011 ; Cherukupally *et al.*, 2017) dans des boîtes de Pétri où des disques mycéliens seront déposés . Après incubation pendant 3 jours à 30°C, les cultures sont traitées avec 5 ml d'une solution de rouge Congo pendant 15 min, puis elles sont inondées par une solution de NaCl (1M) pendant 1 min. L'apparition d'une zone jaune claire autour de la colonie fongique indique la dégradation de la cellulose.

#### **2.5.1.5. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)**

La production de l'acide cyanhydrique a été évaluée sur milieu TSA additionné de la glycine (4,4g/l) selon la méthode de Bakker et Schipper (1987) ou les souches de *Trichoderma* spp ont été ensemencées en stries serrées. Le principe repose sur la détection du HCN par une

solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium anhydre) qui est imbibé et imprégné dans des disques de papier wattman avec un diamètre de 9cm (diamètre des boites de Pétri) .Les disques sont déposés à l'intérieur du couvercle des boites et l'intégralité des boites sont incubées à 28°C pendant 4 jours consécutifs, Les résultats de la production seront indiqués par le changement de couleur du papier wattman du jaune vers des couleurs plus foncées et seront évalués selon la classification de Ghodsolavi *et al.*, (2013):

**Tableau 4 :** échelle de classement des résultats de la production d'HCN selon leur couleur

Couleur	Production d'HCN
Jaune	-
Crème	+
Marron Clair	++
Marron foncé	+++
Brune rougeâtre	++++

## 2.5.2. Etude de l'endophytisme

### 2.5.2.1. Production des pectinases

Afin de démontrer si les isolats de *Trichoderma* élaborent de la pectinase nous suivons la méthode de Hankin et Anagnostakis, (1975) qui a été accomplie sur milieu solide (PH 5,5). Après trois jours d'incubation à 28°C, les cultures ont été immergées avec une solution iodée (5g de KI ; 1g de I<sub>2</sub> pour 330ml d'eau distillée). L'émergence d'une zone jaunâtre claire dans le milieu révèle la production des pectinases.

### 2.5.2.2. Production des amylases

Les isolats de *Trichoderma* spp. ont été évalués pour leur capacité à produire des amylases en utilisant un milieu gélosé contenant de l'amidon (Abe *et al.*, 2015). Après ensemencement des disques de *Trichoderma* spp. et incubation à 28°C pendant 3 jours, les boîtes ont été traitées avec une solution iodée (1% de KI ; 0,5% d'I<sub>2</sub> (v/v)) pendant 15 minutes. La production d'amylases se manifeste par la formation d'un halo jaune clair autour de chaque colonie pour chaque isolat.

### 2.5.2.3. Production des lipases

La mise en évidence des lipases implique l'utilisation d'un milieu de culture avec un substrat lipidique, dans notre cas, le tween 20 (polyoxy-éthylène-sorbitan-monolaurate) a été utilisée (Abe *et al.* 2015). Après l'inoculation des boites avec les champignons, ces dernières ont été

incubées pendant 2 à 5 jours à 30°C. Cependant, Pour procéder à la lecture des résultats, elles doivent être mis à une température de 4°C pendant 12 heures. Des résultats positifs se traduiraient par l'apparition des précipités de calcium ou d'un halo blanc opaque autour des colonies.

## **2.6. Mise en évidence des traits PGPF (Plant Growth Promoting Fungi).**

### **2.6.1. Solubilisation des phosphates**

Le test de la capacité de *Trichoderma* spp à solubiliser le phosphate sollicite l'utilisation d'un milieu avec une source de phosphate insoluble, le milieu Pikovskaya solide (PVK) a été choisi pour cela ; il contient 0,5% de phosphate tricalcique ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) comme seule source de phosphate insoluble. Nos souches ont étéensemencées au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu PVK solide mélangées avec du bleu de bromophénol (Pikovskaya, 1948) et incubées pendant 5 jours à 30°C. La suite consistera en la lecture des résultats, un résultat positif sera d'indiqué par l'apparition d'un halo autour des colonies (Noori et Saud, 2012).

### **2.6.2. Fixation d'azote**

L'évaluation de la capacité de fixation de l'azote par les isolats de *Trichoderma* spp. a été déterminée sur un milieu dépourvu d'azote afin d'induire la fixation de l'azote atmosphérique seulement, leur croissance ordinaire dans ces milieux après 5 jours d'incubation à 30°C confirmerait leur capacité à le faire (Zhang *et al.*, 2017).

### **2.6.3. Production d'ammoniaque (NH<sub>3</sub>)**

La production d'ammoniaque est mise en évidence selon la méthode de Bakker et Schipper, (1987). La méthode implique d'ajouter 100µl de chaque suspension fongique à 10ml d'eau peptonée. Les tubes sont ensuite incubés à 30°C pendant 24 heures. A la fin de cette période, 1 ml de réactif de Nessler est injecté dans chaque tube. Un changement de couleur du jaune à l'orange dans le tube indique une production de NH<sub>3</sub>.

## 2.7. Inoculation des plantes de tomate avec les diverses souches fongiques et étude de l'effet antagoniste *in situ*

### 2.7.1. Préparation du sol et Mise en place de la culture de tomate

La première étape consiste au semis des graines de tomate dans des alvéoles (deux graines par alvéole) qui ont été précédemment remplis de notre mixture du sol préalablement stérilisé, ces alvéoles constituent dans l'ensemble un plateau de culture (figure 19).

Le plateau de culture a été mis dans une chambre obscure, chauffé et isolé afin de contrer les effets des températures hivernales, l'ensemble de l'opération ayant débuté en l'hiver (fin janvier).



**Figure 19 :** plateau de culture ensemencé avec des graines de tomates

Après la germination des graines et leur croissance en plantules, au bout d'un certain temps (durée indéterminé dépendante du rythme de croissance des plantes), elles ont été déplacées des alvéoles à des pots vrais nature (qui contiennent toujours notre mixture du sol) (figure 20), en suite elles seront relocalisées vers une chambre à l'air libre avec température ambiante ou elles vont continuer leur croissance jusqu' à devenir des plantes durant cette étape elles vont être aspergé durant les premiers temps d'une solution nutritive.

Durant la totalité de leur cycle de vie elles seront arrosées au moins deux fois par semaine en fonction des fluctuation de la température ambiante qui fait varié le taux d'évaporation et de transpiration de la plante



**Figure 20 :** pots avec nos plantules de tomates

### **2.7.2. Préparation des inoculums fongiques et récupération du filtrat**

Le filtrat est préparé de manière différente selon le genre de notre souche mais la base du processus pour la préparation de l'inoculât est la même.

Trois erlenmeyer ont été remplies d'un milieu liquide PDL où chaque erlenmeyer contiendra 200 ml du milieu, par la suite 6 disques de chacun des souches (*Trichoderma* T2 et T4 et *Fusarium*) ont été introduits dans leur erlenmeyer correspondant, elles seront sellés en utilisant du coton et du papier aluminium qui par la suite seront mis dans un agitateur incubateur à 28c°.

Après incubation pendant une semaine, les inoculâts sont obtenus sous forme liquide avec la présence des précipitations, leur filtration nous permettra d'obtenir les filtrats. C'est ici que le protocole diverge entre *Trichoderma* et *Fusarium* ; là où l'inoculum des *Trichoderma* n'est passé que dans un papier filtre de whatman et la solution est prête. *Fusarium* nécessite une centrifugation pendant 10 min à 9000 rpm obtenant ainsi 2 phases avec une partie liquide et un dépôt au fond du tube. La phase liquide est récupérée et constitue le filtrat dans le cas de *Fusarium*.

### **2.7.3. Traitement des plantes de tomate à l'inoculât**

Une fois que les filtrats sont prêts, la suite consiste à inoculer les plantes, un total de 18 plantes sont inoculées dans cette expérience. On va commencer à appliquer directement 5 ml de l'inoculum *Trichoderma* avec une seringue graduée pour 12 plantes (6 pour T4 et 6 pour T2) au niveau de la rhizosphère, après 3 jours nous allons ajouter 5 ml de filtrat de *Fusarium* à trois plantes traitées avec les différents *Trichoderma*, ainsi que trois autres plantes n'ayant

reçu aucun traitement (toujours au niveau de la rhizosphère). Les 3 plantes restantes seront utilisées comme témoin de l'expérience.

#### **2.7.4. Paramètres mesurés**

La longueur des plantes est mesurée deux fois par semaine à partir de la base de la tige jusqu'au dernier nœud. Le nombre de feuilles aussi a été mesuré.

Les plantes sont arrachées à un certain moment qui représente la fin de l'expérience ou la longueur de leur tige et le nombre de leurs feuilles sont mesurées pour la dernière fois en plus de mesurées pour la première fois le poids de la racine et de la partie supérieur de la plante avant et après son assèchement (tige + feuilles qui sont séparé de la racine avec une incision) ainsi que de la longueur du système racinaire et de la racine centrale

Le paramètre final consistera en une vérification de l'endophytisme en incubant les racines des plants traités avec T4 et T2 en même temps avec *Fusarium*. L'incubation sera faite dans une boîte de Petri divisée en quatre parties : deux parties contiendront un morceau de racine prélevé à 1 cm de l'extrémité racinaire, tandis que les deux autres auront ceux prélevés à 4 cm de la nouvelle extrémité

# **Résultats et discussion**

## Chapitre III-Résultats et discussion

### 1-Characterisation et identification morphologique des isolats fongiques

Les caractères macroscopiques des différents isolats sélectionnés (les souches antagonistes et les souches phytopathogènes) ont été étudiés sur le milieu PDA alors que les caractères microscopiques ont été évalués sur grossissement optique 100 avec l'huile à immersion.

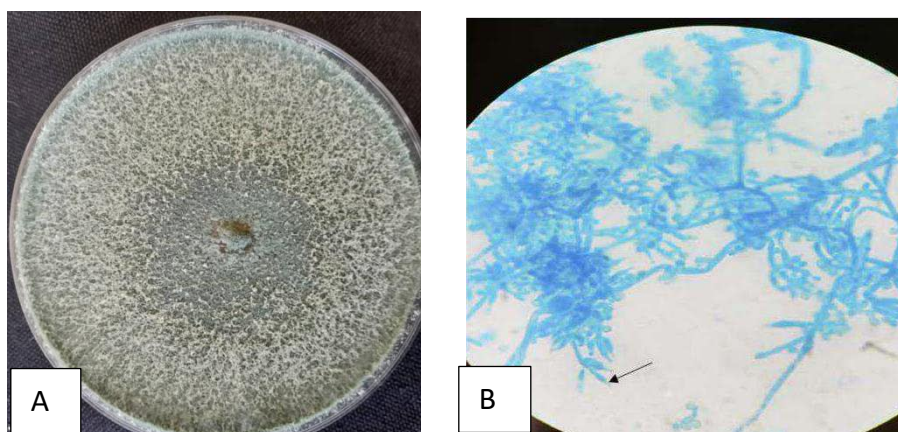
#### 1.1-Characterisation morphologique des isolats de *Trichoderma* spp.

- **Au niveau macroscopique**

Durant l'incubation des isolats de *Trichoderma*, on observe une croissance rapide du mycélium qui est de couleur blanche et a l'aspect laineux, après quelques jours on remarque l'apparition de nouvelles pigmentations à partir de la partie centrale de la colonie c'est-à-dire où l'inoculation a eu lieu et progresse tout autour avec le temps. Cette pigmentation est due à la sporulation des isolats et elle est d'apparence verte ou vert jaunâtre (il existe des aspects intermédiaires).

- **Au niveau microscopique**

Durant l'observation des isolats de *Trichoderma* au microscope photonique (figure 21) on remarque un mycélium très dense, ramifié avec des chlamydospores et aux hyphes septés lisses composés de conidiophores qui ont une forme conique ou pyramidale portant des microconidies (spores) de forme ovale uniquement.



**Figure 21** : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) des souches *Trichoderma*

La flèche indique la forme de phialides spécifiques du genre

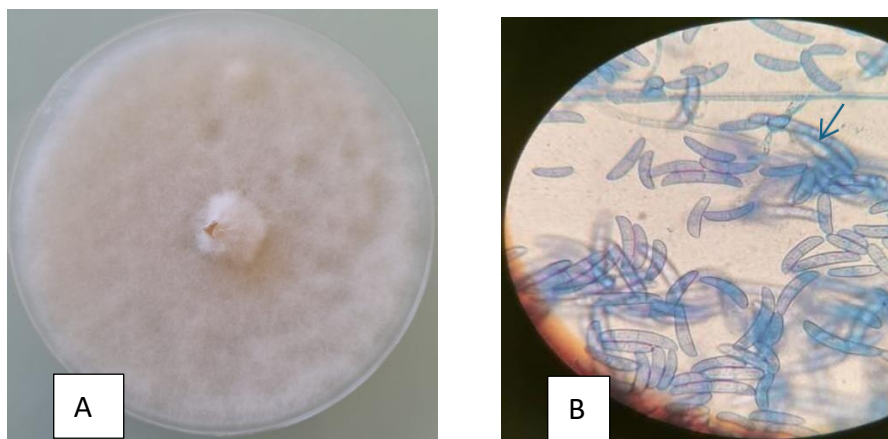
## 1.2-Caracterisation morphologique de l'isolat de *Fusarium* spp

- **Au niveau macroscopique**

L'étude macroscopique de l'isolat de *Fusarium* démontre après incubation un aspect cotonneux majoritairement de couleur blanche avec une variabilité de couleur rouge-orange. Cette pigmentation est plus évidente et dominante sur le revers de la colonie (figure 22).

- **Au niveau microscopique**

L'étude microscopique du mycélium de l'isolat de *Fusarium* (figure 22) montre des hyphes septés, ramifiés et lisses ainsi que la présence de microconidies monocellulaire et des macroconidies segmentés de tailles variables avec 3 à 4 segments (spores). Ces spores qui sont soit isolées ou en amas et peuvent prendre des formes variables, elles sont généralement de forme ovale (les microconidies uniquement), elliptique ou réniforme. Nous pouvons aussi remarquer la présence de chlamydospores.



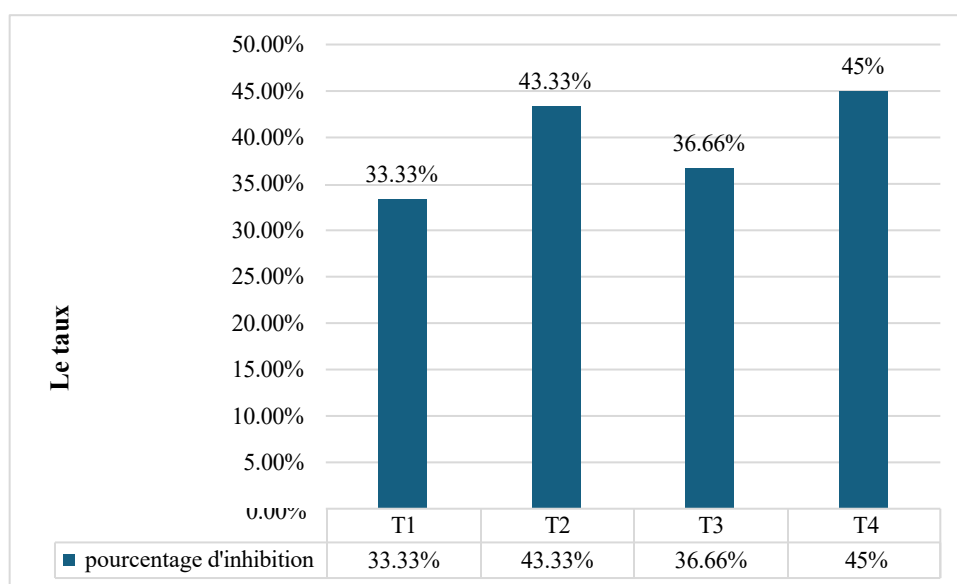
**Figure 22 :** Aspect Aspect macroscopique (A ) et microscopique (B) des souches *Fusarium*. La flèche indique la macroconidies arqué caractéristique du genre.

## 2-Etude *in vitro* de l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp contre l'isolat de *Fusarium* spp

### 2.1-Test de confrontation directe

Les tests de confrontation directe démontrent une croissance mycélienne plus faible de l'isolat de *Fusarium* dans toutes les confrontations avec les différents isolats de *Trichoderma* par rapport aux témoins où seul le phytopathogène *Fusarium* est présent. La croissance mycélienne chez le témoin est indiqué par un diamètre de 6cm qui est plus élevé comparé au diamètre de celui dans le cas des confrontations (figure23) ce qui met en évidence le pouvoir antagoniste de


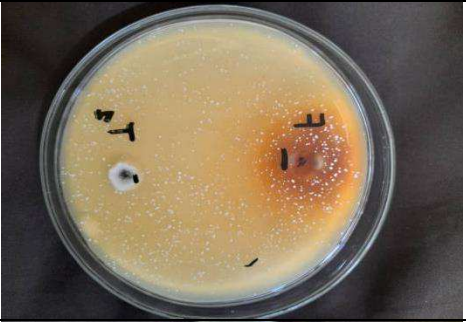

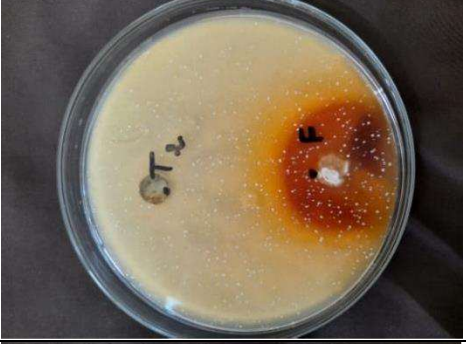

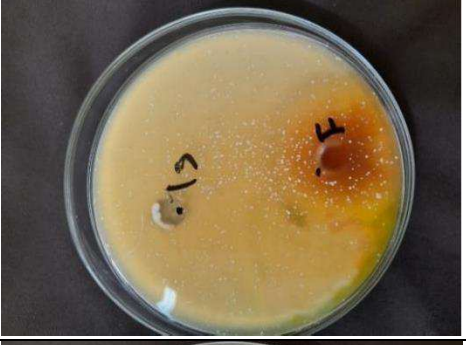
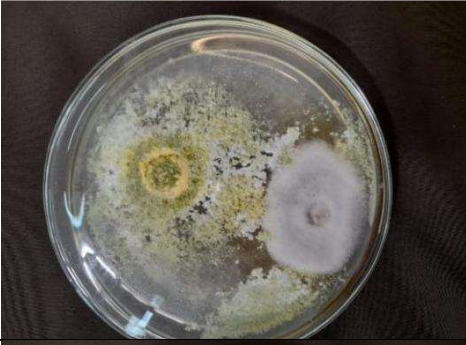
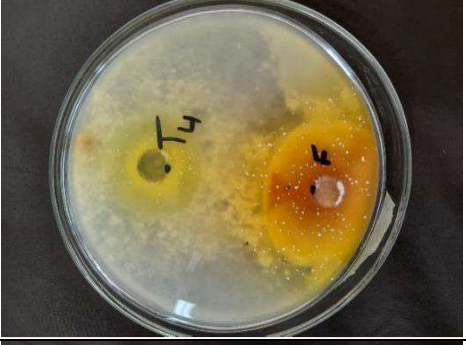
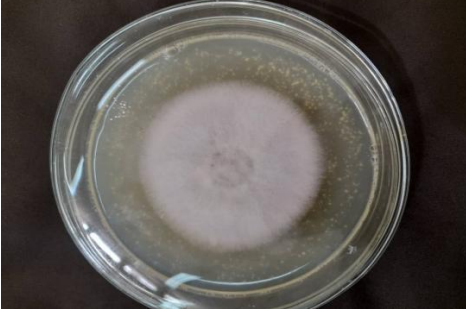
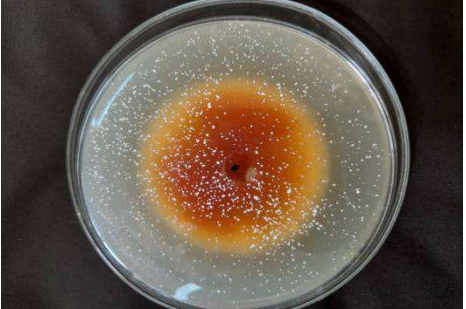
nos souches de *Trichoderma* face au *Fusarium*. De plus, cela est confirmé par la présence d'une zone d'inhibition due aux sécrétions antifongiques de l'antagoniste. Nos résultats indiquent aussi que les souches de *Trichoderma* ont des taux d'inhibition de la croissance mycélienne du phytopathogène différentes. L'isolat T4 présent le taux le plus élevé qui est de 45% (diamètre du phytopathogène=3,3cm) suivi de T2 (diamètre phytopathogène=3,4cm) qui est de 43,33%. C'est deux souches sont les plus performantes alors que T3 et T1 exercent un effet moindre ; T3 étant de 36,66% (diamètre du phytopathogène=3,8cm) et T1 de 33.33% (diamètre du phytopathogène=4cm).



**Figure 23 :** Pourcentage d'inhibition de *Fusarium* par les souches de *Trichoderma* dans confrontation directe

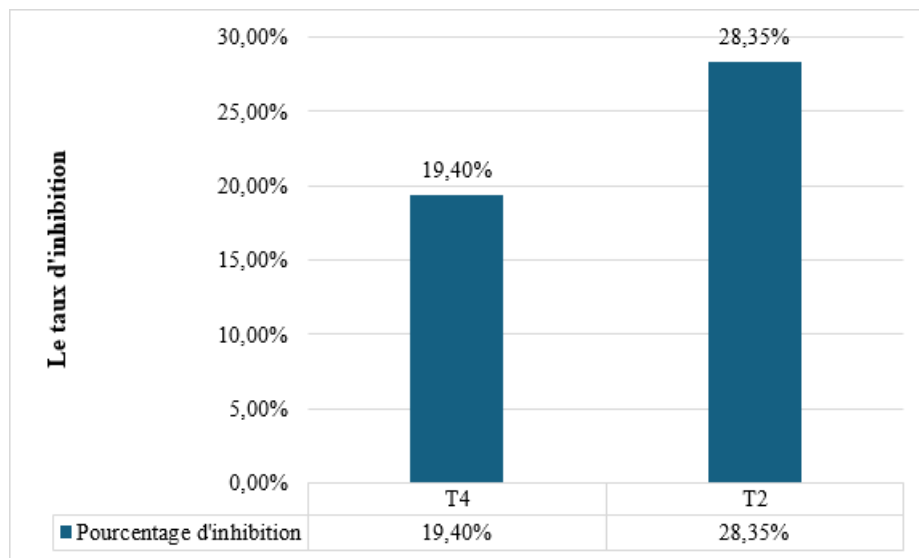
Les résultats de la confrontation directe sont illustrés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 5 :** Les résultats des différentes confrontations directes (pathogène – antagoniste)

Confrontation	Avant de la boîte	Arrière de la boîte
T1+ <i>Fusarium</i>		
T2+ <i>Fusarium</i>		
T3+ <i>Fusarium</i>		
T4+ <i>Fusarium</i>		
Témoin <i>Fusarium</i>		

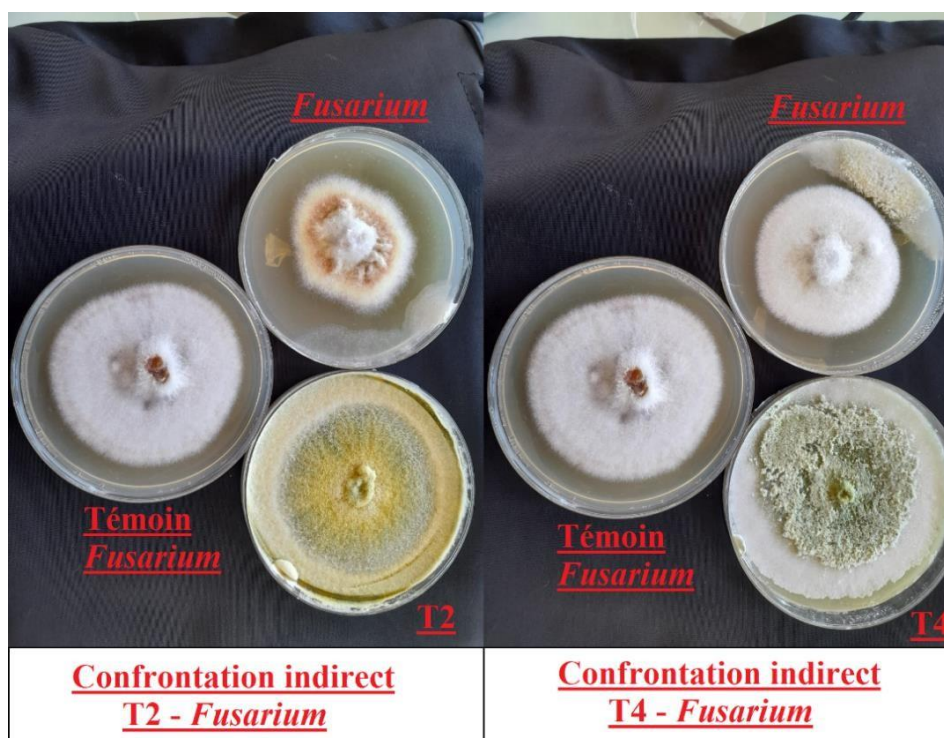
## 2.2-Test de confrontation indirecte

Les tests de confrontation indirecte entre *Trichoderma* et *Fusarium* démontrent la capacité de certains des isolats de *Trichoderma* à inhiber la croissance mycélienne de la souche phytopathogène malgré l'absence d'un contact direct ce qui confirme leurs capacités à sécréter des substances volatiles qui ont un effet inhibiteur et donc ont la capacité de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène(figure24). On effet, nous observons que par rapport aux témoins où seul le phytopathogène *Fusarium* est présent et dont le diamètre est de 6.7 cm, les *Fusarium* qui ont été confrontés à *Trichoderma* T2 et T4 ont un diamètre moins important et différent selon la souche (figure25). Ceci témoigne de leur inhibition par les antagonistes T4 et T2 avec un taux d'inhibition de 28.35% pour T2 (diamètre phytopathogène=4.8cm) et de 19.4% (diamètre phytopathogène= 5.4cm) pour T4 alors que dans le cas de T1 et T3, le diamètre est supérieur, ce qui indique une incapacité d'inhibition indirecte pouvant être expliquée par l'absence de sécrétion des substances volatiles.



**Figure 24 :** Pourcentage d'inhibition de *Fusarium* par les souches *Trichoderma* dans la confrontation indirecte

Les résultats de la confrontation indirecte sont illustrés dans les figures ci-dessous :



**Figure 25 :** Les résultats des différentes confrontations indirectes

### 3- Caractérisation physicochimique des isolats de *Fusarium* spp et *Trichoderma* spp.

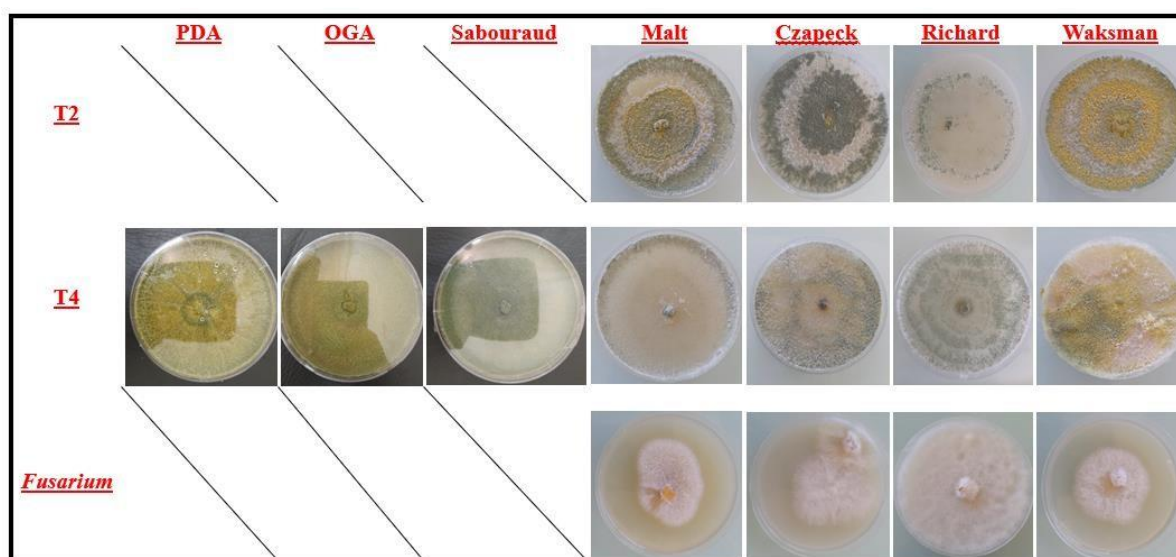
L'analyse des différents paramètres physico-chimiques est basée sur l'étude de Boutkhil, (2017). L'analyse physico-chimique a porté sur la souche de *Fusarium* spp et les deux souches les plus performantes de *Trichoderma* spp. a savoir T2 et T4.

#### 3.1-Influence du milieu de culture

Les résultats concernant ce paramètre (tableau 6) montrent que la croissance de nos souches de *Trichoderma* et de *Fusarium* diffère d'un milieu à un autre. Les milieux PDA OGA et Sabouraud sont les milieux organiques les plus favorisés par les 3 souches dont la croissance est optimale et égale, alors que dans le cas du milieu malt, *Fusarium* et l'isolat T4 n'ont pas pu croître tandis que T2 montre une croissance régulière. Cependant, dans le cas des milieux minéraux, le milieu czapeck semble favoriser la croissance de T2 qui est légèrement meilleure que T4, toutefois, les deux montrent une croissance moins remarquable dans le milieu de richard. Mais dans ce cas T4 est légèrement supérieur à T2 , à l'inverse quand il s'agit de *Fusarium* il montre une meilleure croissance dans richard que dans cazpeck .Le milieu semi organique Waksman en revanche démontre une croissance de T2 exceptionnelle et reste régulière pour *Fusarium* et T4(figure26).

**Tableau 6 :** Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* dans des milieux de culture variables

Type de milieu / Isolats	PDA	OGA	Sabouraud	Malt	Czapeck	Richard	Waksman
<i>Trichoderma</i> T2	++++	++++	++++	+++	+++	++	++++
<i>Trichoderma</i> T4	++++	++++	++++	+	++	+	+++
<i>Fusarium</i>	+++	+++	+++	++	+++	++++	+++



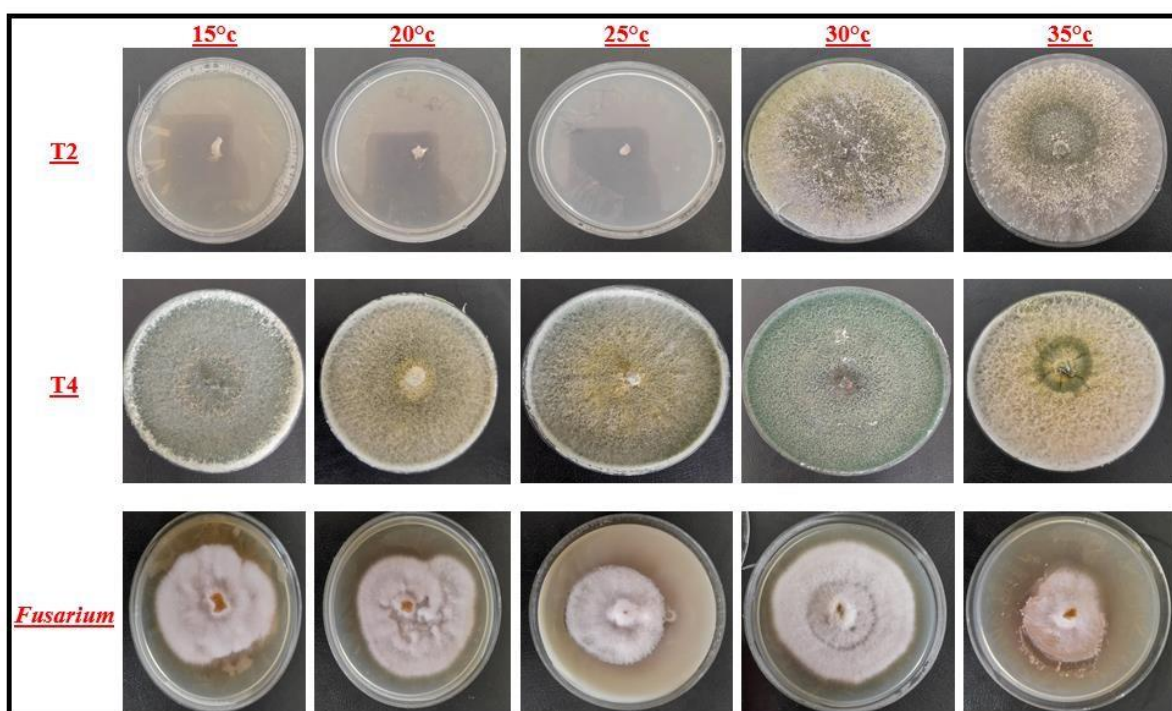
**Figure 26 :** Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* dans des milieux de culture variables

### 3.2-Influence de la température

Les tests effectués sur les différentes températures attestent que les isolats préfèrent des températures distinctes (tableau 7), ainsi, *Trichoderma* T4 semble croître dans toutes les températures de la plus haute à la plus basse mais semble avoir eu la meilleure sporulation à 30°C et à 15°C contrairement à 35°C qui est la plus faible. En revanche, *Trichoderma* T2 semble n'avoir pu se développer qu'à 30°C et 35°C. Par contre la croissance de *Fusarium* s'est accomplie à toutes les températures mais semble être favorisée à 30°C qui montre le plus haut diamètre et défavorisée à 35°C qui montre le plus bas diamètre (figure 27).

**Tableau 7 :** Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* à des températures variables

Températures \ Isolats	15°c	20°c	25°c	30°c	35°c
<i>Trichoderma</i> T2	-	-	-	+++	++
<i>Trichoderma</i> T4	+++	++	++	++++	+
<i>Fusarium</i>	+++	+++	++	++++	+



**Figure 27 :** Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* à des températures variables

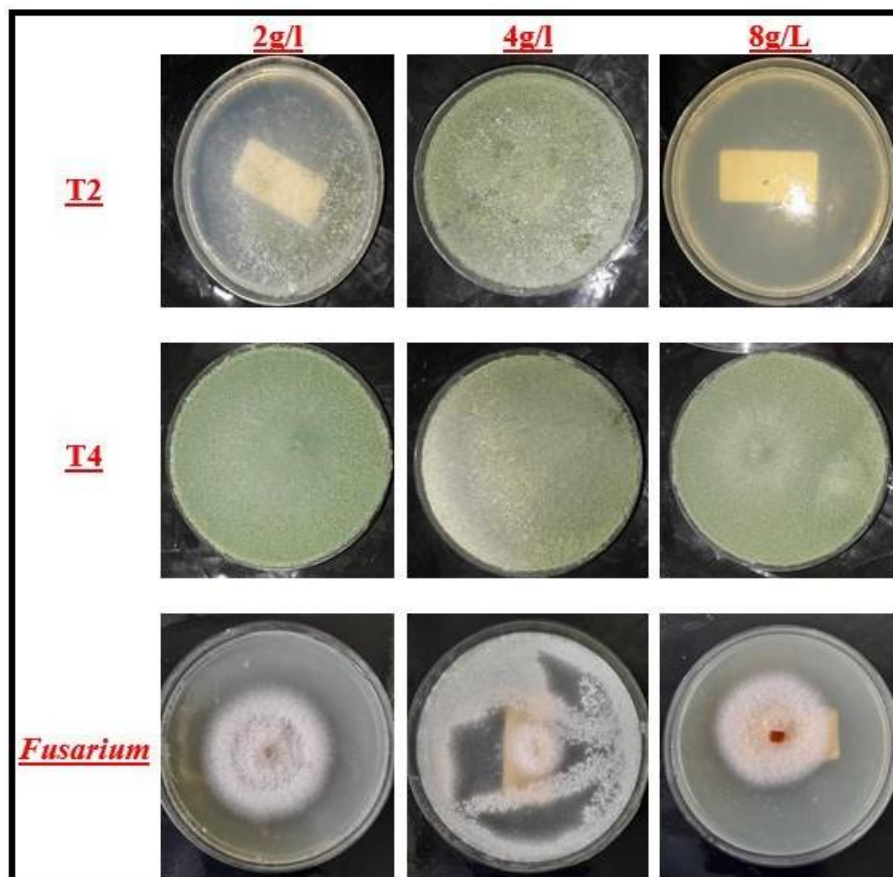
### 3.3-Influence de la salinité

L'influence de la concentration du sel sur la croissance mycélienne de nos isolats est mise en évidence dans cette expérience, d'après les résultats (tableau 8) T4 ne semble pas avoir de préférence en concentration de NaCl contrairement au T2 qui semble favoriser un milieu à la concentration équilibrée de 4g/L avec absence de croissance dans une concentration de 8g/L et une quasi absence en 2g/L ce qui indique une faible capacité de régulation osmotique. *Fusarium* en revanche favorise des milieux opposés, c'est-à-dire, à faible et haute concentration de sel

donc 8g/L et 2g/L où la croissance est quasi normale alors que dans le cas de 4g/L la croissance est faible et désorganisé (figure 28).

**Tableau 8:** Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* dans des concentrations de sel variables

Isolats \ Concentration de NaCl (g/l)	2	4	8
<i>Trichoderma</i> T2	+	+++	-
<i>Trichoderma</i> T4	+++	+++	+++
<i>Fusarium</i>	+++	+	+++



**Figure 28 :** Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* dans des concentrations de sel variables

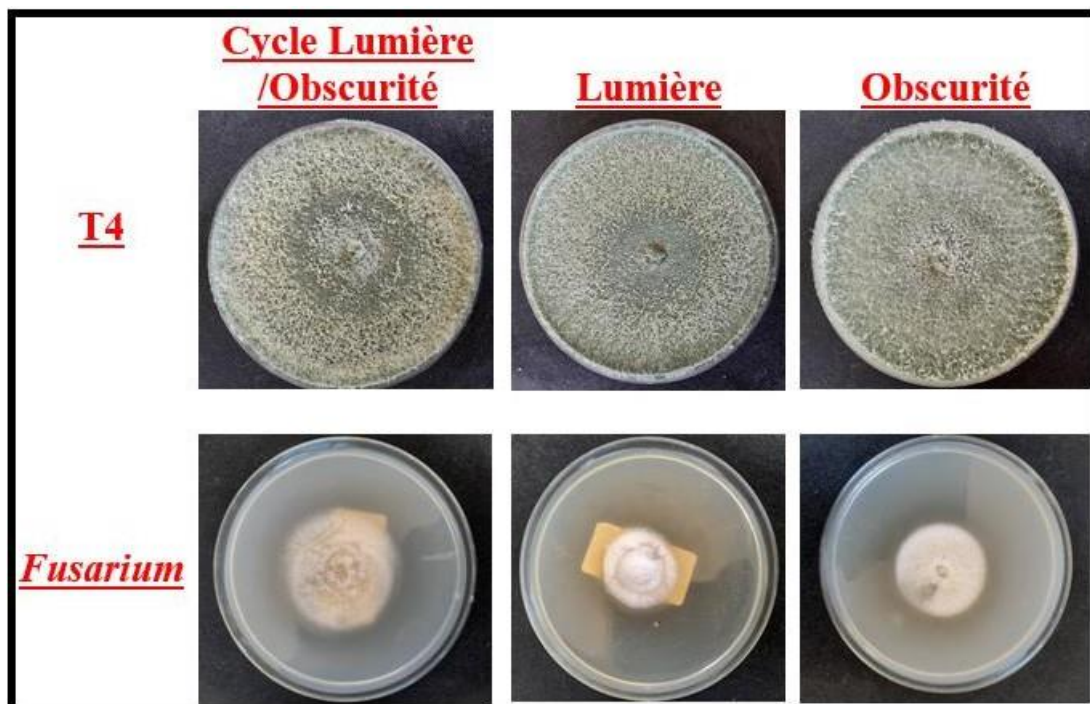
### 3.4-Influence de la lumière

L'exposition de nos souches à des variations dans les conditions de luminosité (Tableau 9), démontre une nette préférence des isolats à un rythme cyclique de lumière et obscurité ce qui

correspond au cycle jour et nuit ,que ça soit chez *Trichoderma* T4 qui est indiqué par une sporulation de 1 et 2 jours avant les boîtes exposées à une lumière constante et obscurité constante ou chez *Fusarium* qui est indiqué par une croissance mycélienne supérieure aux reste des conditions, quant à *Trichoderma* T2, nous remarquons l'absence de croissance probablement due aux conditions de température ambiante qui sont inadéquates pour ça croissance (figure 29).

**Tableau 9:** Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* exposées a des luminosités variables

Isolats	Conditions de luminosité	Cycle lumière obscurité	Lumière	Obscurité
<i>Trichoderma</i> T2		-	-	-
<i>Trichoderma</i> T4		+++	+++	+++
<i>Fusarium</i>		+++	+	++



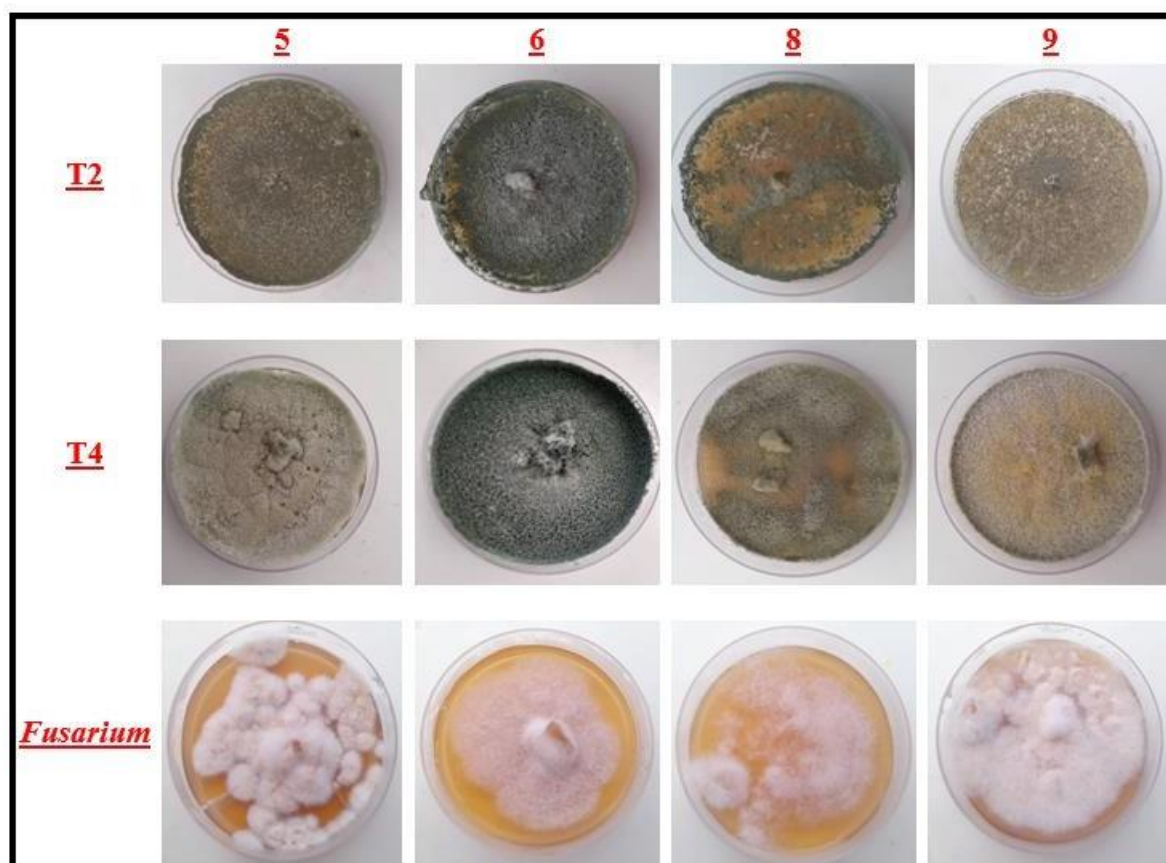
**Figure 29 :** Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* exposées a des luminosités variables

### 3.5-Influence du pH

La lecture des résultats dans nos boîtes de Pétri après incubation met en évidence l'influence du pH sur la croissance mycélienne (tableau 10), en effet, dans le cas de *Trichoderma* indépendamment de la souche nous observons un favoritisme au pH 6 où les colonies sont plus denses, plus sporulées et plus envahissantes, cependant la croissance reste plutôt typique en ce qui concerne le pH 5 et 9 alors que dans le pH 8 elle est inférieure. En ce qui concerne *Fusarium*, ce dernier préfère plutôt les extrémités du pH, c'est-à-dire, 5 et 9 où la croissance est typique mais ne semble pas être favorisée à pH de 8 et encore moins à pH de 6 où la croissance est minimale (figure 30).

**Tableau 10:** Tableau récapitulatif des résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* dans des milieux au PH différent

Isolats \ Niveau de pH	5	6	8	9
<i>Trichoderma</i> T2	+++	++++	++	+++
<i>Trichoderma</i> T4	+++	++++	++	+++
<i>Fusarium</i>	+++	+	++	+++



**Figure 30 :** Figure récapitulative représentant les résultats des différents tests effectués sur les souches *Trichoderma* dans des milieux au PH différent

#### 4-Résultats de la recherche des enzymes et de quelques molécules à effet PGPF

##### 4.1. Screening qualitatif de l'activité enzymatique des isolats de *Trichoderma*

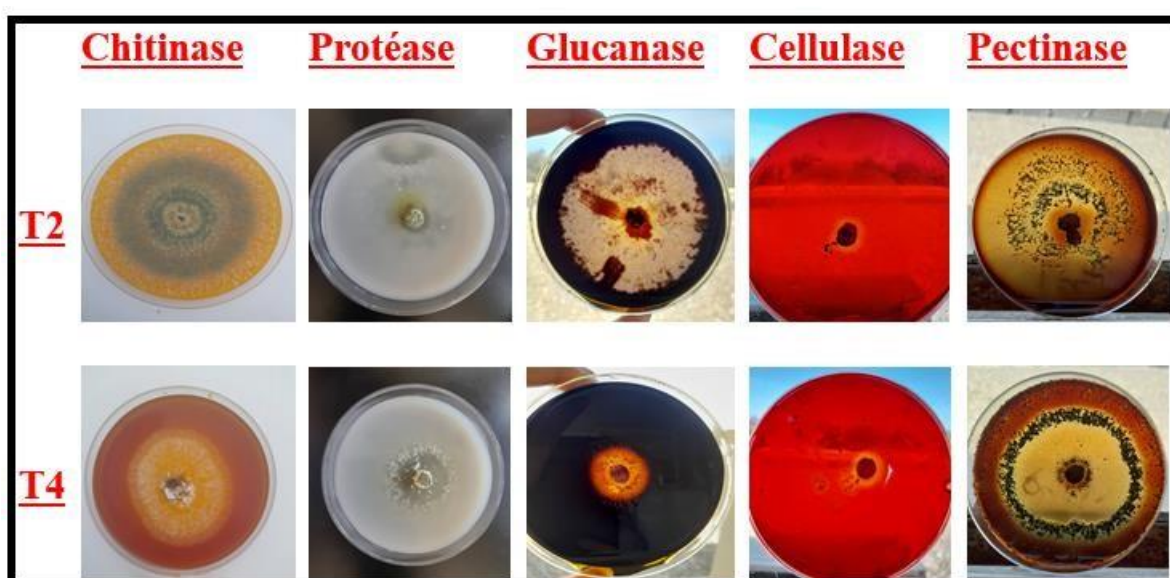
La production enzymatique a été évaluée par des tests qualitatifs sur des milieux solides contenant divers métabolites qui peuvent être présents sur les plantes ou les phytopathogènes ceux-ci pouvant être impliqués dans la lutte biologique ou l'endophytisme évaluant ainsi le potentiel de nos souches *Trichoderma* spp dans ce contexte.

Nous avons pu mettre en évidence la capacité des deux isolats de *Trichoderma* T2 et T3 à synthétiser diverses enzymes lytiques ainsi que des enzymes importantes dans l'endophytisme qui ont pu être relevées par les différents tests effectués. Ainsi, ils ont démontré des résultats négatifs et positifs à différents degrés dépendant de l'isolat (tableau 11). Dans le cas de T2, par exemple, les tests ont démontré une bonne capacité à dégrader la chitine et la pectine ainsi qu'une capacité moyenne pour le glucane, faible pour la cellulose et les protéines et absente pour l'amidon et les lipides alors que pour T4 les tests démontrent une faculté standard à

dégrader la pectine et le glucane ,moyenne pour la chitine et les protéines, faible pour la cellulose et absente pour les lipides et l'amidon (figure 31).

**Tableau 11:** Tableau récapitulatif des résultats des différentes activités enzymatiques testées sur les souches *Trichoderma*

Activité Enzymatique Isolats de <i>Trichoderma</i>	Chitinase	Protéase	Glucanase	Lipase	Amylase	Cellulase	Pectinase
<i>Trichoderma</i> T2	++++	+	++	-	-	+	++++
<i>Trichoderma</i> T4	++	++	+++	-	-	+	+++



**Figure 31 :** Figure récapitulative qui résume les différentes activités enzymatiques testées sur les souches *Trichoderma*

#### 4.2. Mise en évidence des traits PGPF (Plant Growth Promoting Fungi)

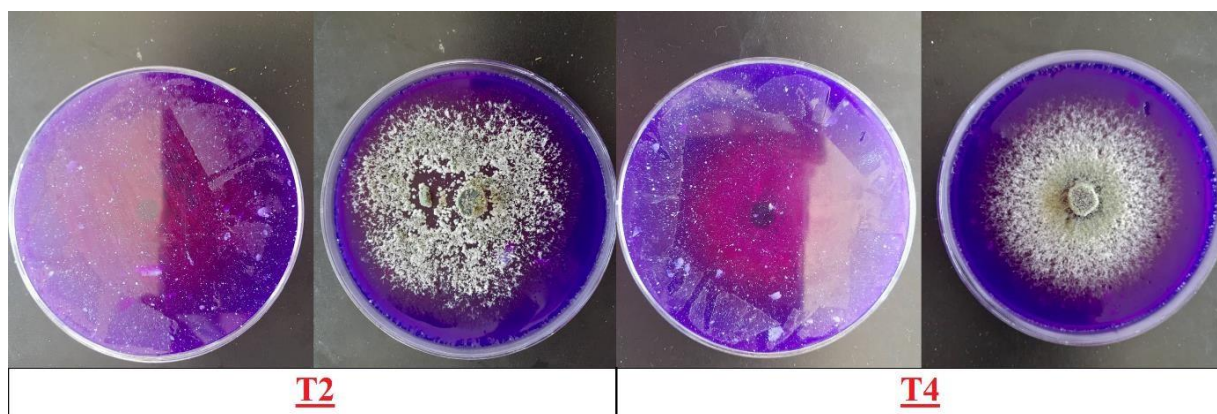
Les traits PGPF sont importants à mesurer, en particulier dans le contexte de la lutte biologique qui dans cette étude se focalise sur la résistance systémique induite, son évaluation est faite dans des milieux à différents paramètres PGPFs impliquant l'absence ou la présence de certains métabolites et les résultats sont les suivants (tableau 12).

**Tableau 12:** Tableau récapitulatif des résultats des différents trait PGPFs mis en évidence avec des tests sur les souches *Trichoderma*

Traits PGPF / Isolats de <i>Trichoderma</i>	Solubilisation des phosphates	La fixation d'azote	Production d'ammoniaque (NH <sub>3</sub> )
<i>Trichoderma</i> T2	+++	+	++
<i>Trichoderma</i> T4	++	++	+

#### 4.2.1. Solubilisation des phosphates

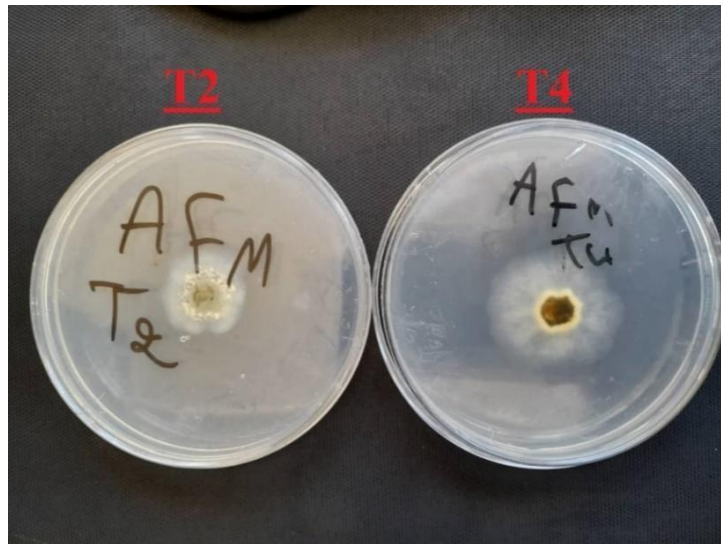
L'analyse de nos boîtes de Pétri après incubation indique que tous les isolats testés sont capables de solubiliser le phosphate ce qui se traduit par la synthèse de phosphatase, son effet serait mis en évidence par l'apparition d'un halo clair autour des disques inoculés au centre de la boîte de Petri dans son côté arrière car le mycélium couvre le côté avant. Les résultats indiquent aussi que la T2 a une meilleure capacité à synthétiser le phosphate qui est indiqué par un halo plus large (figure 32).



**Figure 32 :** les résultats des tests de la solubilisation des phosphates

#### 4.2.2. La fixation d'azote

Les résultats de ce test montrent que les 2 isolats sont capables de croître dans un milieu dépourvu d'azote même si c'est d'une façon plus lente que la normale, ce qui atteste de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique. Néanmoins, T4 montre une meilleure croissance que T2 suggérant ainsi une capacité supérieure à fixer l'azote atmosphérique (figure 33).



**Figure 33 :** les résultats des tests de la fixation d'azote

#### 4.2.3. Production d'ammoniaque (NH<sub>3</sub>)

Les deux isolats de *Trichoderma* virent au jaune foncé avec T2 étant plus foncé que T4 après l'ajout de réactif de Nessler par rapport au témoin qui reste inchangé, c'est-à-dire, jaune claire ce qui exprime une certaine capacité à produire de l'ammoniaque (figure 34).



**Figure 34 :** les résultats des tests de la production d'ammoniaque

#### 4.2.4. Production de cyanure d'hydrogène (HCN)

La capacité de production de HCN par les souches *Trichoderma* T2 et T4 ne semble pas être possible ce qui est démontré par les tests effectués où il a eu aucun changement de couleur du

papier Whatman qui reste de couleur jaune dans les 2 boîtes ainsi que le témoin confirmant ainsi des résultats négatifs (figure35).



**Figure 35 :** les résultats des tests de la production de HCN

### **5. Résultat de l'étude des paramètres de la croissance végétative de la tomate**

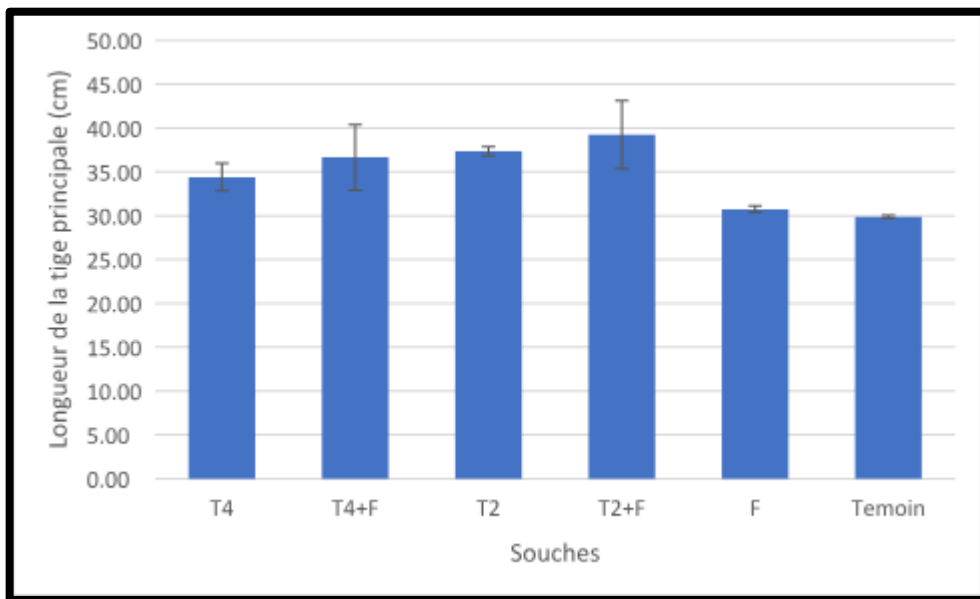
Les plantes sont arrachées 42 jours après la mise en place de la culture de tomate. Des observations régulières ont également montré que la stimulation de la croissance des plantes traitées avec la souche fongique antagoniste (T2 et T4) en absence ou en présence de la souche fongique phytopathogène (*Fusarium sp.*) était plus prononcée par rapport au témoin non traité (témoin négatif). En revanche, un ralentissement de la croissance a été observé chez les plantes traitées avec la souche fongique phytopathogène seule (Figure 36).



**Figure 36 :** Plants de Tomate traités, avant arrachage

### 5.1. Longueur des tiges

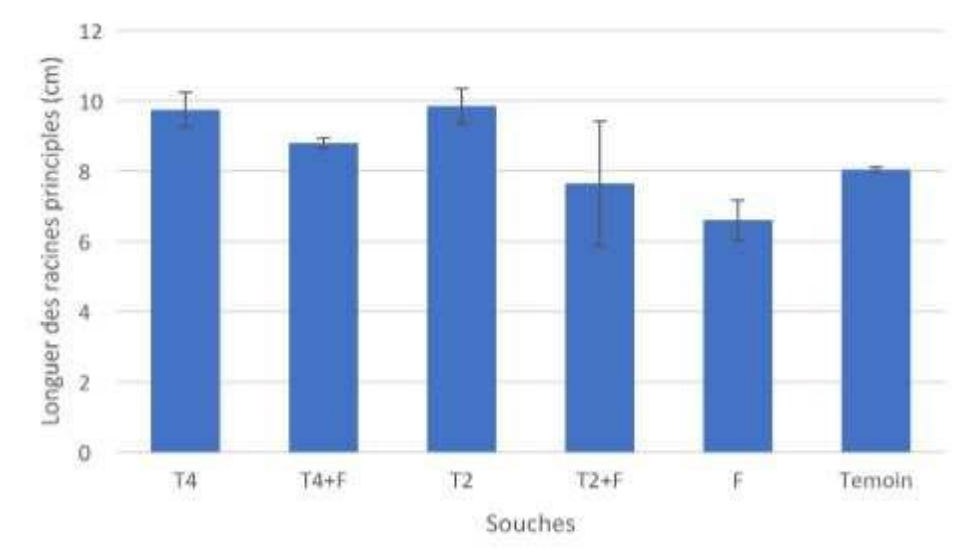
La longueur de la tige a été mesurée de la base jusqu'au dernier nœud de la plante à l'aide d'une règle. Le meilleur résultat a été observé chez la plante traitée au T2 en présence et en absence de *Fusarium sp.* La longueur des tiges atteint un maximum de 39.4 cm. Donc la souche T2 a donné le meilleur résultat suivi de la souche T4 (en présence et en absence de *Fusarium*) comparativement au témoin. Enfin on remarque que le *Fusarium sp.* seul a causé une diminution de la longueur des tiges comparativement au témoin sain (Figure37).



**Figure 37 :** La longueur des tiges (cm) de la tomate en fonction des souches Inoculées

## 5.2. Longueur de la racine principale

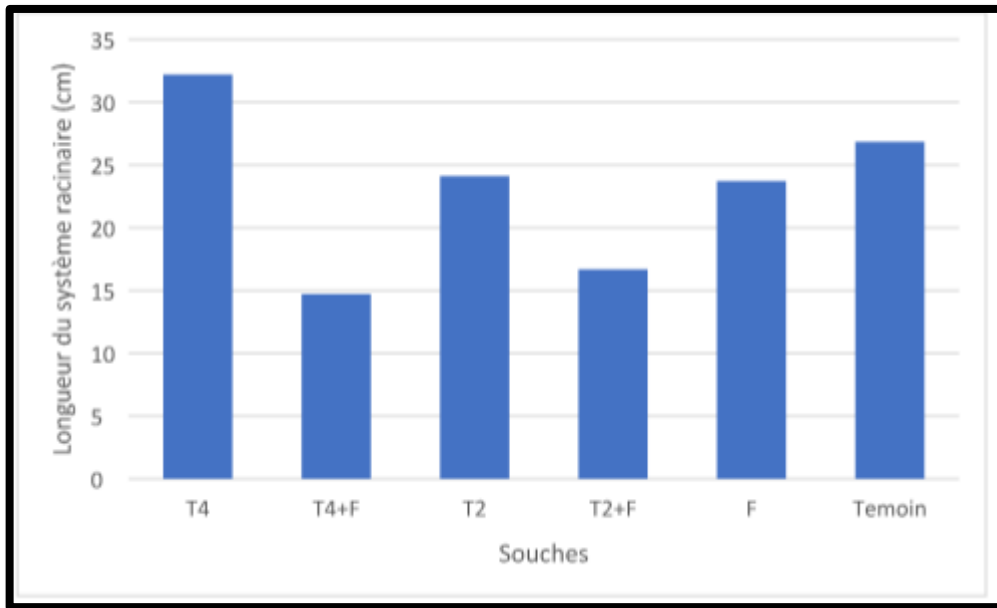
Les racines arrachées délicatement du sol et lavées ont été mesurées. Les résultats ont permis de constater que la longueur de système racinaire était meilleur pour les souches fongiques T2 avec 9.85cm et T4 avec 9.75cm suivi des plantes traitées par la T4 en présence de *Fusarium* (8.8 cm) puis de T2 en présence du *Fusarium* (7.65cm) . En dernier lieu, on remarque que le lot traité avec *Fusarium sp* seul a donné les plus faibles résultats (6.6 cm) (Figure 38).



**Figure 38 :** La longueur de la racine principale (cm) de la tomate en fonction des souches Inoculées

## 5.3. Longueur du système racinaire

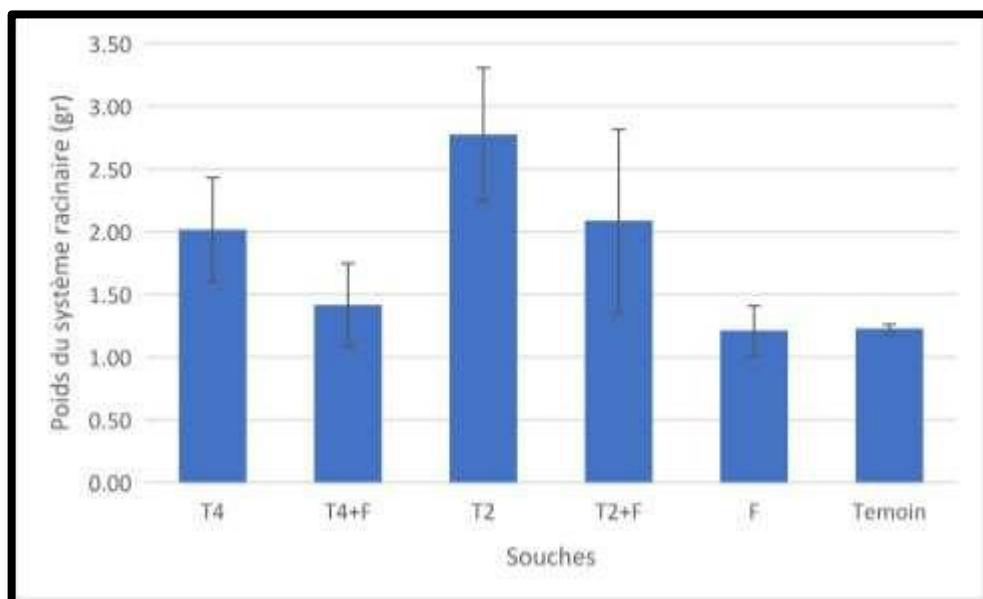
Les résultats de ce paramètre ont permis de constater que la longueur du système racinaire a été fortement stimulée par la souche fongique T4 avec 32.5cm suivi du témoin non traité avec 8.05 cm et T2 avec 9.8 cm. En dernier lieu on remarque que les pots traités avec les deux souches de *Trichoderma sp.* en présence de *Fusarium sp.* ont donné des résultats plus faibles (Figure 39).



**Figure 39** : La longueur de système racinaire (cm) de la tomate en fonction des souches inoculées

#### 5.4. Poids de système racinaire

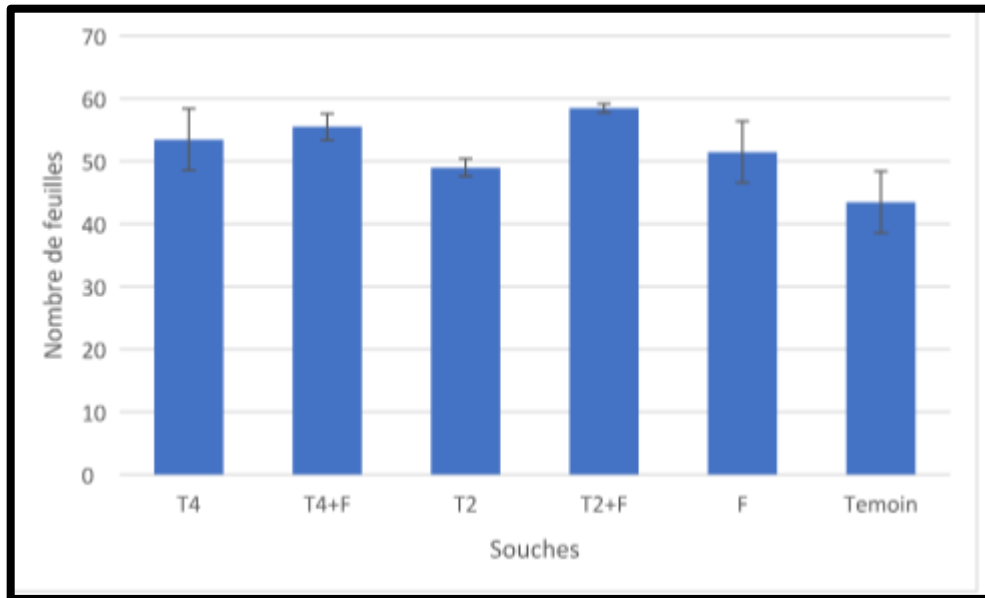
Les résultats du poids du système racinaire des plants de tomate juste après arrachage, ont permis de constater le meilleur effet chez la souche T2 même en présence de *Fusarium* avec 2.54g et 1.83g respectivement, suivi de la T4 ( 2.03g). En dernier, on constate que *Fusarium sp.* Seul a engendré une perte du poids des racines des plantes (Figure 40).



**Figure 40** : Le poids du système racinaire (g) de la tomate en fonction des souches inoculées

### 5.5. Nombre de feuilles

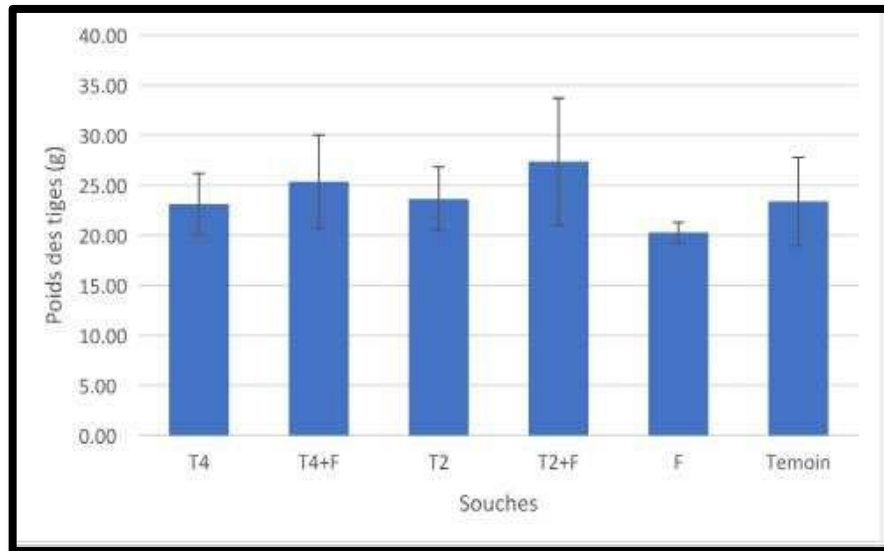
Les feuilles de toutes les plantes inoculées ont été dénombrées. Les résultats démontrent l'efficacité de l'inoculation des souches fongiques T2 et T4 sur l'augmentation du nombre de feuilles. Le meilleur effet a été trouvé avec la souche T2 en présence de *Fusarium sp* avec 58 feuilles suivi de la souche T4 en présence de *Fusarium sp* avec 55.5 feuilles. (Figure 41)



**Figure 41** : le nombre des feuilles de la tomate en fonction de différentes souches inoculées

### 5.6. Poids frais des tiges

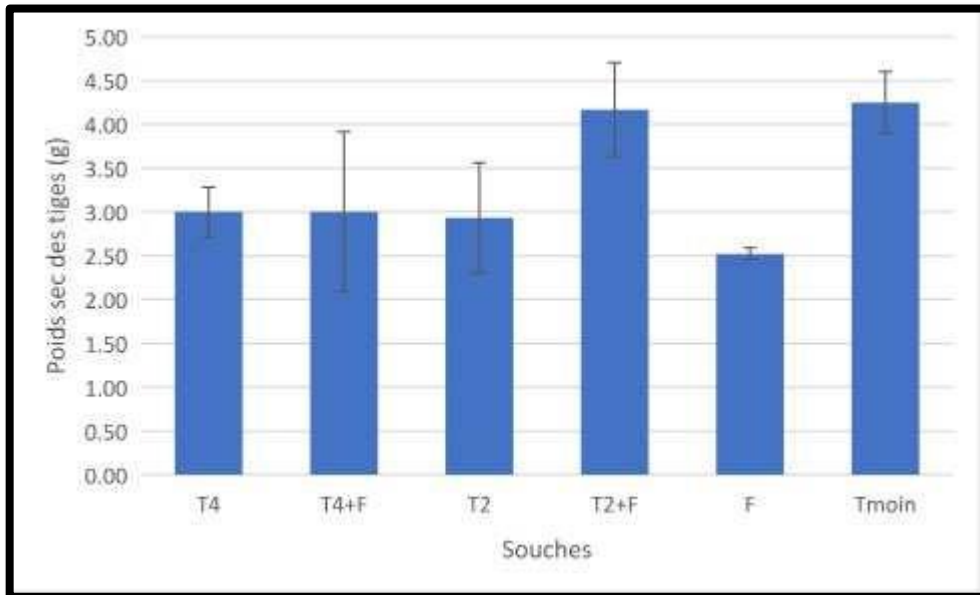
Les résultats du poids des tiges juste après arrachage, ont permis de constater le meilleur effet chez la souche T2 en présence de *Fusarium sp*. dont le poids des tiges atteint 26.17g suivi de la souche T4 en présence de *Fusarium sp* avec un poids qui atteint 25.25g suivi par les plantes traitées avec *Trichoderma sp* et en dernier lieu le *Fusarium sp*. qui a engendré une perte du poids des tiges des plantes comparativement aux témoins (Figure 42).



**Figure 42 :** le poids des tiges de la tomate en fonction de différentes souches inoculées

### 5.7. Poids sec des tiges

Les résultats ont montré que l'effet le plus marqué s'observe chez la souche T2 en présence de *Fusarium sp* avec 4.17g suivi de près par la souche T4 , en dernier lieu le *Fusarium sp*. qui a montré le moins bon résultat (Figure 43)



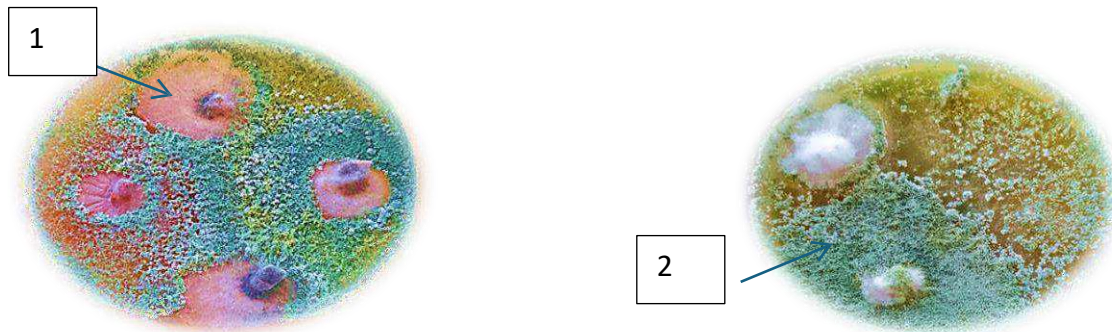
**Figure 43 :** Poids sec des tiges en fonction des souches

Les observations régulières ont indiqué une stimulation plus significative de la croissance chez les plantes traitées avec les souches fongiques antagonistes de *Trichoderma sp* en présence de la souche fongique phytopathogène *Fusarium sp*. par rapport au témoin non traité. En

revanche, les plantes traitées uniquement avec la souche fongique phytopathogène ont montré un ralentissement de leur croissance.

### 5.8. Vérification de l'endophytisme

La culture sur milieu PDA des fragments racinaires des plantes traitées aux champignons T2 et T4 mis en confrontation avec le *Fusarium sp* pendant plus de 20 jours , a permis d'observer la formation de colonies fongiques autour des fragments racinaires que ça soit ceux prélevés de 1 cm à partir de l'extrémité racinaire ou ceux prélevés de 4 cm à partir de l'extrémité racinaire. Une densité élevée a été constatée dans le milieu après 6 jours d'incubation des racines traitées avec les champignons. Le résultat indique que les souches inoculées sont des endophytes et correspondent à l'apparence macroscopique observé précédemment, cela est illustré dans la figure suivante (Figure 44).



**Figure 44 :** culture des fragments racinaires après arrachage des plants inoculées par T4 et T2 en confrontation avec le *Fusarium sp*. 1: *Fusarium sp*. Le 2: *Trichoderma sp*.

## 6. Discussion

Selon Blancard (2009), la fusariose vasculaire de la tomate causée par le champignon tellurique *Fusarium oxysporum*, est une maladie dévastatrice et très répandue dans les différentes zones de production de la tomate dans le monde. Elle a été rapportée dans plus de 32 pays (Cai *et al.* 2003), y compris en Algérie (Henni *et al.* 1994 ; Mezaache-Aichour *et al.* 2012 et Toua *et al.* 2013). Les effets des traitements sur la progression de la fusariose en plein champ montrent que la souche de *Trichoderma viride* a eu un effet antagoniste sur *F. oxysporum* ralentissant ainsi l'apparition et la progression de la fusariose (Howell 2003).

Dans ce contexte, notre étude avait comme objectif, la caractérisation des deux champignons *Trichoderma* et *Fusarium* avec l'étude des potentialités de quelques souches de *Trichoderma* au tant qu'un agent de lutte biologique et PGPF.

En effet, les résultats des tests d'antagonisme des souches de *Trichoderma* vis-à-vis de l'isolat fongique de *Fusarium* spp. dans le cas de la confrontation direct montrent une réduction significative de la croissance mycélienne des colonies phytopathogènes confrontés aux souches de *Trichoderma* par rapport aux témoins. Nos résultats sont en accord avec les résultats de Rajendiran (2010) qui a montré l'effet inhibiteur de *Trichoderma* vis-à-vis de *Fusarium* .

Dans notre étude, l'inhibition se produit de manière différente dépendamment des souches. T1 T2 T3 montrent l'apparition d'une zone d'inhibition autour du *Fusarium* ce qui semble pas être le cas avec T4 qui a inhibé *Fusarium* par contact direct cela laisse supposer que le pouvoir antagoniste de T1 T2 T3 est principalement lié à la sécrétion de substances à activité antifongique en cohérence avec Debbi (2019). Alors que T4 semble privilégié le mycoparasitisme pur où il s'enroule dans le mycélium phytopathogène soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui injectant des enzymes qui le détruisent tel que démontré par Elad *et al.* (1983)

La confrontation a distance en revanche a aussi a démontré des résultats positifs quand à l'inhibition des phytopathogènes par *Trichoderma* en dépit de l'absence de contact ce qui rejoint l'étude de Daami-Remadi (2001) malgré que toutes les souches de *Trichoderma* n'ont pas toutes accomplis cet antagonisme, en effet T3 et T1 montrent l'absence de l'inhibition qui plus au moins s'accorde avec les résultats de Daami-Remadi et El Mahjoub (2001) qui ont remarqué une inhibition quasi absente sur des souches *Pythium* spp utilisant *Trichoderma* comme antagoniste .

Les résultats des tests effectués sur les souches *Trichoderma* T2,T4 sont similaires à ceux de Roquebert, (1996 ) et de Esposito et Silva, (1998) qui affirment que Le genre *Trichoderma* se distingue par sa capacité d'adaptation étendue aux diverses conditions environnementales, qu'elles soient terrestres ou marines. Il préfère des températures de croissance optimales entre 20°C et 28°C, avec une tolérance allant de 6°C à 32°C, bien que des cas exceptionnels de croissance à 37°C aient été notés.

Quant aux conditions physico-chimiques de croissance mycélienne des deux champignons *Fusarium* et *Trichoderma*, le pH idéal se situe entre 4,5 et 5,5, avec une plage de tolérance de 5 à 9. Les longueurs d'onde de lumière entre 430-490 nm et/ou 320-380 nm favorisent la sporulation. Une concentration élevée de sel inhibe la germination des conidies mais n'entrave pas la croissance du mycélium. De plus, le développement de *Trichoderma* dépend des niveaux

de carbone et d'azote dans le sol, soulignant l'importance de la matière organique pour exprimer pleinement ses capacités antagonistes (Alabouvette *et al.*, 1983). D'autre part, les espèces de *Fusarium* sont des champignons filamenteux cosmopolites, comprenant des pathogènes opportunistes infectant les plantes du monde entier, mais pouvant également se développer en tant que saprophytes dans diverses zones climatiques (Stępień *et al.* 2019) ce qui en fait un champignon moins strict et adaptatif, mais d'après Castegnaro et Pfohlleszkowicz (2002) il favorise une température comprise entre 22 et 37 °C pour une croissance optimale ce qui plus au moins correspond à nos résultats. La meilleure croissance étant dans cette rangé de températures mais aussi la plus mauvaise ainsi que l'observation des bons résultats dans des température moins élevée.

La mesure de l'activité enzymatique des souches *Trichoderma* démontre des résultats positifs pour la majorité des enzymes testés sauf pour la production d'amylase et lipase ce qui concorde avec Mohamed-Benkada (2006) qui lie leur capacité à survivre dans des conditions difficiles et leur abondance dans le sol à leur aptitude à produire diverses substances bioactives et des enzymes.

De ce fait, parmi les enzymes lytiques positives, la production des  $\beta$  glucanases et de la chitinase est en conformité avec l'étude Elad *et al* (1982) et Lorito (1998) qui les indique comme des déterminants majeurs de l'activité antagoniste de *Trichoderma*. En outre, une production positive de cellulase par les souches *Trichoderma* est aussi habituelle considérant que *Trichoderma reesei* est considéré comme l'organisme le plus performant dans la production de cellulases selon Roquebert (1996), de même pour la production de protéases ainsi que la totalité des enzymes lytiques positives mentionnées précédemment car ils sont parmi les métabolites impliqués dans le mécanisme d'antibiose exercé par *Trichoderma* (Howell ,2003 ; Harman *et al.*2004; Eziashi *et al.*, 2006 ; De Castro *et al.*, 2010).

En outre, dans le cas des enzymes liés à l'endophytisme seule la production de la pectinase est positive ce qui a été aussi observé chez *Trichoderma longibrachiatum* (Sandhu et Kalra, 1982)

Par ailleurs, la synthèse du HCN est négative dans toutes les souches de l'antagoniste ce qui ne se conforme pas avec Vizscaino *et al.* (2005), Benkada (2006) qui indique le cyanure d'hydrogène comme un métabolite volatile produite par *Trichoderma*.

Tous les trait PGPFs se sont démontré être positifs pour toutes les souches *Trichoderma* que ce soit la solubilisation du phosphore comme dans l'étude de Altomare *et al* (1999) et Harman

(2006) ou la fixation d'azote ainsi que la production d'ammoniac malgré de faibles quantités mesurées par rapport aux résultats dans l'étude de Reghmit *et al.* (2022).

D'autre part, les résultats des essais *in situ* consistant à l'inoculation des plants de tomate par deux souches antagonistes de *Trichoderma* et une souche phytopathogène de *Fusarium*, montrent que les souches de *Trichoderma* sont parvenues à stimuler les paramètres de croissance des plants de tomate à des degrés variables. Cette stimulation s'est traduite essentiellement par une meilleure croissance axiale et une biomasse plus importante. La stimulation de la biomasse a été observée non seulement dans les parties aériennes, mais aussi dans les parties racinaires qui ont augmenté de 1.23 g (témoin) jusqu'à 2.87 g avec T2 et 2,02g avec T4 par rapport au témoin.

Cette augmentation a été notée aussi bien pour les poids frais que pour les poids secs, ce qui montre qu'il s'agit d'un accroissement général du métabolisme et non seulement d'une absorption excessive d'eau.

Cette augmentation a concerné non seulement les plants sains inoculés par les souches antagonistes mais aussi par ceux qui sont infestés par le phytopathogène.

Ceci est en accord avec les travaux de Windham *et al.* (1986) qui ont démontré que l'addition de *T. harzianum* et de *T. koningii* Oudermans à un sol préalablement autoclavé augmentait le poids sec des racines ainsi que de la partie aérienne de la tomate et du tabac de 213 à 291 % par rapport au témoin non traité. De même, les travaux de Baker *et al.* (1984) ont montré que le poids sec de plantes de radis avait augmenté de plus de 274 % après traitement par la souche T-95 de *T. harzianum*. En outre, Gravel *et al.* (2005) ont démontré que l'inoculation de la tomate avec une souche de *T. atroviride* P. Karst permettait d'augmenter significativement la surface racinaire et le poids des plantules de tomate ainsi que le rendement commercialisable en serre.

Mieux encore, Hibar *et al.* (2005) ont comparé l'état des plants de tomate inoculés par une souche pathogène de *F. oxysporum* Schlechtend.:Fr. et par *T. harzianum* avec des plants témoins sains non inoculés et non traités. Ils ont constaté que les plants traités par le pathogène et l'antagoniste présentaient un développement végétatif et racinaire plus important que les plants témoins.

Par rapport à la vérification de l'endophytisme, une des caractéristiques essentielles chez un agent de lutte biologique est son aptitude à survivre dans un milieu différent de son milieu d'origine et à coloniser les racines des plantes afin de les protéger contre les pathogènes Nemes

*et al.* (1996). Dans notre étude, les souches du *Trichoderma* testées ont pu coloniser les racines des plantes inoculées. Ces résultats confirment les travaux de Kleifeld et Chet (1992) qui ont rapporté que la stimulation de croissance des plantes par le *T. harzianum* serait due à l'augmentation du transfert des nutriments à partir du sol jusqu'aux racines grâce à la colonisation de celles-ci par le *Trichoderma*.

# **Conclusion**

## **Conclusion et Perspectives**

Notre étude avait pour objectif de trouver un agent efficace pour lutter contre la fusariose vasculaire, une maladie dévastatrice pour la culture de tomate en Algérie. Nous avons focalisé notre travail sur l'effet antagoniste *in vitro* et *in situ* de quatre isolats de *Trichoderma* sp. (T1, T2, T3, et T4) sur un isolat de *Fusarium* sp. La caractérisation macroscopique et microscopique de ces cinq isolats fongiques a confirmé leur classification dans leurs genres respectifs.

Nous avons également évalué l'impact de divers paramètres physiologiques de croissance (comme le pH, la salinité, la température, le milieu de culture et la lumière) pour déterminer les conditions optimales de développement de chaque souche. Nous avons constaté que toutes les souches testées, qu'elles soient antagonistes ou phytopathogènes, présentaient une grande tolérance à ces paramètres, sauf la souche T2 de *Trichoderma* sp., qui montre des exigences spécifiques en ce qui concerne la concentration en sel, la température et l'éclairage, limitant ainsi son utilisation.

L'analyse de l'activité enzymatique des souches de *Trichoderma* a montré des résultats positifs pour la plupart des enzymes testées, à l'exception de l'amylase et de la lipase. Cette diversité enzymatique confère à notre collection de souches des qualités recherchées en tant qu'agents de biocontrôle efficaces grâce à leurs métabolites secondaires variés.

Notre étude a clairement démontré l'effet antagoniste de *Trichoderma* contre *Fusarium* et sa capacité à renforcer la défense des plants de tomate contre ce phytopathogène, notamment par la production d'enzymes diverses.

La fusariose de la tomate est connue comme la maladie fongique la plus destructrice pour les plants de tomate en conditions chaudes, particulièrement sous serre. Nos tests *in vivo* ont confirmé l'efficacité de *Trichoderma* en réduisant significativement l'incidence de cette maladie lorsque cet antagoniste est introduit dans le substrat de culture des plants de tomate, empêchant ainsi le développement de *Fusarium*.

En conclusion, nos recherches *in vitro* et *in situ* soulignent l'importance de *Trichoderma* en tant qu'antagoniste efficace contre *Fusarium*. Cette approche pourrait révolutionner les pratiques agronomiques en proposant des solutions durables pour

renforcer la résilience des cultures de tomates tout en réduisant l'impact environnemental de l'agriculture moderne. Ces avancées pourraient non seulement promouvoir une production alimentaire plus durable, mais aussi ouvrir de nouvelles perspectives pour une utilisation plus efficace et respectueuse de l'environnement des ressources microbiennes disponibles dans l'agriculture.

Ainsi, il est crucial de promouvoir l'utilisation de *Trichoderma* comme agent de lutte biologique contre la fusariose de la tomate, surtout à une époque où la dépendance excessive aux pesticides chimiques dans l'agriculture présente des risques pour la santé humaine et l'environnement. En Algérie, par exemple, la commercialisation de biopesticides contenant des microorganismes tels que *Trichoderma harzianum* (B97) représente une avancée significative dans le traitement des maladies fongiques des semences.

Le potentiel de *Trichoderma* en tant qu'agent de lutte biologique semble évident sur la plante de la tomate ainsi que ses aptitudes en tant que PGPF. En perspective, son exploitation dans le domaine agronomique est donc recommandée mais nécessite quand même des études complémentaires pour élargir son potentiel commercial telles que :

- Identification moléculaire de nos souches par les moyens de biologie moléculaire pour chercher de nouvelles souches spécifiques à notre pays.

- Déterminer la nature exacte des substances inhibitrices sécrétées par *Trichoderma* afin d'évaluer leur potentiel en tant qu'éventuel biopesticide ;

- Expérimenter avec d'autres espèces de plantes de manière à élargir son champ d'action ;

- Etudier le profil enzymatique des phytopathogènes potentiellement inhibés par *Trichoderma* ;

- Exposer *Trichoderma* à des facteurs abiotiques plus extrêmes pour évaluer son potentiel dans les régions du monde les plus extrêmes qui sont souvent celles des pays les plus pauvres ainsi que sa persistance dans les sols ;

- Déterminer les niches occupées par *Trichoderma* au niveau du sol et de la racine pour caractériser les changements produits par son introduction dans la flore du sol .

- Essai de bioformulation à base de *Trichoderma*, avec des espèces endogènes et un produit 100% local.

# **Références Bibliographiques**

## Références bibliographiques

- ABBAYES. H et autre.** , 1963. Botanique anatomie cycle évolutifs systématique, Masson et Cie
- A.D.A.B.** – *Tomate – Fiche technique en agriculture biologique – année 2001*
- Adesemoye AO, Kloepper JW.** 2009 – Interactions plantes-microbes pour améliorer l'efficacité de l'utilisation des engrais. *Microbiologie appliquée Biotechnologie* 85, 1–12.
- AGRIOS G., 2005.** - *Plant Pathology*. 5th Edition. Academic Press, 952 p ??.
- Alabouvette C., Couteaudier Y., & Louvet J. 1983.** Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, 7-16. In «Les antagonismes microbiens. Modes d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes». 24e Coll. soc. *Fr. Phytopathol., Bordeaux*.
- Altomare C., Norvell W.A., Bjorkman T. and Harman G.E.,** 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Appl Environ Microbiol*, 65: 292–293
- Andanson A (2010).** Evolution de l'agressivité des champignons phytopathogènes, couplage des approches théorique et empirique. Thèse de doctorat. Biologie végétale et Forestière. Montpellier. L'Université Nancy I - Henri Poincaré. P05-08.
- Andrabi, M., Vaid, A., Razdan, V.K.,** 2011. Evaluation of different measures to control wilt causing pathogens in chickpea. *J Plant Prot. Res.* 51:5-59.
- Aouar .L.** 2012. Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Université Mentouri-Constantine, 5-25p
- Aranega-Bou P, de la O Leyva M, Finiti I, García-Agustín P, González-Bosch C.** 2014 – Amorçage de la résistance des plantes par des composés naturels. L'acide hexanoïque comme modèle. *Frontières de la science végétale* 5, 488.
- Arie T, Takahashi H, Kodama M and Teraoka T (2007)** Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology* 24: 135–147
- Askun T (2018).** Introductory Chapter: Fusarium - Pathogenicity, Infections, Diseases, Mycotoxins and Management. P 01-06.
- Bakker AW, Schippers B (1987)** Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.-mediated plant growth-stimulation. *Soil Biol Biochem* 19:451–457
- Baker, R.** 1988. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants, *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 7 (2) : 97-106. Baker, R., Y. Elad et I. Chet. 1984. The controlled experiment in the scientific method with special emphasis on biological control. *Phytopathology* 74 : 1019-1021
- Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR.** 2014 – Progrès dans la technologie des inoculants bactériens favorisant la croissance des plantes : formulations et perspectives pratiques) 1998–2013 (. *Plant Soil* 378, 1–33
- Beauchamp, C.** (1993). Mode d'action des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection*, 74(1), 19–27. <https://doi.org/10.7202/706033ar>
- Bedine Boat MA, Sameza ML, Iacomi B, Tchameni SN, Boyom FF (2020)** Screening, identification and evaluation of *Trichoderma* spp. for biocontrol potential of common bean damping-of pathogens. *Biocontrol Science and Technology* 30(3):228–242
- Ben Abidj,** 1977. Etude expérimentale de la croissance et production, thèse Magister. Institut National d'agronomie, Alger, 69 p.
- Benhamou, N. et M. Nicole.** 1999. Cell biology of plant immunization against microbial infection: the potential of induced resistance in controlling plant diseases. *Plant Physiol. Biochem.* 37 : 703-719.

- N. Benhamou et K. Picard**(1999) La résistance induite : une nouvelle stratégie de défense des plantes contre les agents pathogènes. La revue Phytoprotection .Volume 80, numéro 3, 1999, p. 137–168
- Benhamou N., Rey P., Cherif M.HockenhuillJ.,TirillyY.**(1997).Treatment with the mycoparasite *Pythium ligandrum* triggers induction of defence-related reactions in tomato roots when challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* .Phytopathology 87, p. 108–121
- Benkada M.** (2006). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : Substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, 139p.
- Bent, E.** (2006). Induced systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungi (PGPF). In: Tuzun S, Bent E (eds) Multigenic and induced systemic resistance in plants. Springer, New York, pp 225–258.
- Berg, G., & Smalla, K.** (2009). Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere.FEMS Microbiology Ecology, 68(1), 1-13
- Berg G, Krechel A, Ditz M, Sikora RA, Ulrich A, Hallmann J** (2002) Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. FEMS Microbiol Ecol 51(2):215–229
- Blancard D., 2009.** Les maladies de la tomate, identifier, connaître, maîtriser. Edition : Quæ, Paris, 691p.
- Bouzaata. Ch., 2016.** Valorisation des sous-produits de quatre variétés de tomates industrielles (*Solanum esculentum* L) dans l'est algérien. Thèse De Doctorat Univ Badji Mokhtar - Annaba. 141 p. in MADR. , 2009. Ministère de l'agriculture et du développement Rural, Direction des statistiques. 21 p
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y. and Veau P.**(1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industriels. Edn. Masson. Paris.
- Bulgarelli D, Garrido-Oter R, Munch PC, Weiman A et al.** 2015 – Structure et fonction du microbiote bactérien des racines de l'orge sauvage et domestiquée. Microbe hôte cellulaire 17, 392-403.
- Cai G, Gale LR, Schneider RW, Kistler HC, Davis RM, Elias KS and Miyao EM** (2003) Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. Phytopathology 93: 1014–1022.
- Chabasse D, Bouchara JP , De Gentile L , Brun S , Cimon B et Penn P** (2002). Les moisissures d'intérêt médical , cahier de formation en biologie médicale n°25. P 29 , 78-84.
- Carlesse F., Amaral A.P.C., Gonçalves S. S., Xafranski H., Lee M. L. M., Zecchin V., Petrilli A. S., Al Hatmi A., Hagen F., Meis J. F. Et Colombo A. L., 2017.** - Outbreak of *Fusarium oxysporum* infections in children with cancer: an experience with 7 episodes of catheter-related fungemia. Antimicrobial Resistance and Infection Control, 6 (93)
- Caron, J ; Laverdière, L ; Thibodeau, P.O and Bélanger, R.R.** (2012). Utilisation d'Une Souche Indigène de *Trichoderma Harzianum* Contre Cinq Agents Pathogènes Chez Le Concombre et La Tomate de Serre Au Québec. Phytoprotection, 83(2):73–87.
- Castro A. M., Pedro K. C., Cruz J. C., Ferreira M. C., Leite S. G.,Pereira N.,** (2010). *Trichoderma harzianum* IOC-4038 : a promising strain for the production of a cellulolytic complex with significant b-glucosidase activity from sugarcane bagasse. Appl. Biochem.Biotechnol., 162 :2111-2122.
- Chaux C.L. et Foury C.L., 1994.** Cultures légumières et maraichères. Tome III :

Légumineuses potagères, légumes fruit .Tec et Doc Lavoisier, Paris. 563p.

**CHIBANE, A.** (1999). La tomate sous serre ; bulletin mensuel d'information et de liaison du programme national de transfert de technologie en agriculture. Ed : la MADRPM/DERD, Maroc, N°57, pp1-4.

**Corbineau. F. Et CORE. A.** 2006. Dictionnaire de biologie de semences et des plantules. Ed. Tec Et Doc. Lavoisier

**Cong Z, Lingyun Z.** 2019 – Un compte rendu des outils d'identification in silico des protéines effectrices sécrétées par les bactéries et des défis futurs. Briefings en bioinformatique 20, 110-129.

**Cournut. B.** 1984. Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Th. : Pharmacie :Marseille; 77 p.

**Gupta V., Schmoll M., Herrera-Estrella A., Dr. Upadhyay R.S., Druzhinina I. Et Tuohy M., 2014.** - Biotechnology and Biology of *Trichoderma*. 1st Edition. Elsevier, 650p.

**Daami-Remadi M. (2001).** Lutte biologique contre les *Fusarium* spp. agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre.

**Daami-Remadi M., El Mahjoub M. (2001).** Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. l'INRAT 74, p. 167–186.

Mémoire de Diplôme d'Études Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Tunisie :École supérieure d'Horticulture et d'Élevage de Chott Mariem, 72 p

**Dahmani, M. (1993).** Normes de production de semences de tomate industrielle. Pp12-17

**Davet P., 1983** – Introduction et conservation de *Trichoderma* dans le sol. Les antagonistes microbiens, mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes, pp. 159-168. ACTA, INRA- ENSAM- Montpellier (FR).

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

**De la Cruz-Quiroz R, Roussos S, Rodríguez-Herrera R, Hernandez-Castillo D, Aguilar CN (2018)** Growth inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Phytophthora capsici* by native Mexican *Trichoderma* strains. Karbala International Journal of Modern Science 4(2):237–243

**Desmas. S., 2005.** Analyse comparative de compétitivité : le cas de la filière Tomate dans le contexte euro- méditerranéen. Thèse ING. AGR., insti. Agr. Méditerranéen. Montpellier. France

**Deacon J (2005).** Fungi as plant pathogens. In: Fungal Biology, 4 thedition. Blackwell Publishing. P 279-308.

**D. Djigal. 2003.** Interactions entre la communauté microbienne du sol

(Bactéries et champignons mycorhizes) et les nématodes bactériovores: effet sur la nutrition minérale et la croissance de différentes plantes. Université cheikh antadiop de Dakar ,19-22p

**Doehlemann G, Ökmen B, Zhu W et Sharon A (2017).** Plant Pathogenic Fungi. Microbiol Spectr. 2017 Jan;5(1). P23

**Elad, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1982.** Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichodemaharzianum*. Canadian Journal of Micobiology 28: 719-725

- Elad Y., Chet I., BOYLE P.** (1983). Parasitism of *Trichoderma* sp. on *Rhizoctonia solanii* and *sclerotium rolfsii*. scanning electron microscopy and fluorescens microscopy .phytopathology, 73 :85-88
- Eziashi, E.I., Uma, N.U., Adekunle, A.A. and Airede, C.E.** (2006). Effect of metabolites produced by *Trichoderma* species against *Ceratocystis paradoxa* in culture medium, African Journal of Biotechnology. 5: 703-706.
- Espasito E., da Silva M.**,1998. Systematics and environmental application of the genus *trichoderma*. Critical reviews in microbiology, 24(2), 89-98.
- Fuchs J. G, Biophyt. S. A.** 1999. Les produits biologiques: bien les connaître pour mieux les utiliser, 6-7p.
- Gams, W., Bissett, J.**, 1998. Morphology and Identification of *Trichoderma*. In: Kubicek, C.P., Harman, G.E., editors. *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 1. Basic Biology, Taxonomy and Genetics. London: Taylor and Francis Ltd. pp.3-34
- Gallais A et Bannerot H., (1992).** Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères de sélection. INRA, Paris. 765p.
- Geraldine A.M., Lopes F.A.C., Carvalho D.D.C., Barbosa E.T., Rodrigues A.R., Brandão R.S., Ulhoa C.J. et Junior M.L., 2015.** – Cell wall-degrading enzymes and parasitism of sclerotia are key factors on field biocontrol of white mold by *Trichoderma* spp. Biological Control, 67 : 308-316.
- Grasselly DB and Letard M.**, 2000. Tomate : pour un produit de qualité EDCTIL, P222
- Gravel, V., C. Martinez, H. Antoun et R.J. Tweddell.** 2005. Stimulation de la croissance de plants de tomate en hydroponie par le *Pseudomonas putida* et le *Trichoderma atroviride*. 97e Assemblée annuelle de la Société de protection des plantes du Québec, 9 et 10 juin 2005. Phytoprotection 86 : 71-79
- Grubben G.J.H. et Denton O.A., 2004.** Plant resources of Tropical Africa 2. Nordic journal of botanic. 298p.
- Guevara-Gonzalez R G et Feregrino-Perez A A** (2018). Fusarium mycotoxins and Metabolites that modulate their production. p23-24.
- Hajiegharai B, Torabi-giglou M, Mohammadi MR, Davari M** (2008) Biological potential of some Iranian *Trichoderma* isolates in the control of soil born plant pathogenic fungi. Afr J Biotech 7(8):967–972
- 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.
- Harman, G. E., Bjorkman, T.**, 1998. Potential and existing uses of *Trichoderma* and *Gliocladium* for plant disease control and plant growth enhancement. In: Kubicek, C.K., Harman, G.E., editors. *Trichoderma* and *Gliocladium*. London, England: Taylor and Francis; pp. 229-265.
- Harman, G.E.**, 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96, 190–194.
- Henni JE, Boisson C and Geiger JP** (1994) Variability in the pathogenicity of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Phytopath. Medit. 33: 10–16 (Original Article in French)
- Hermosa R., Viterbo A., Chet I. et Monte E., 2012.** - Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158 (1) :17-25.
- Hermosa R, Rubio MB, Cardoza RE, Nicolás C, Monte E, Gutiérrez S.**(2013) The contribution of *Trichoderma* to balancing the costs of plant growth and defense. *Int Microbiol.* 2013 Jun;16(2):69-80. doi: 10.2436/20.1501.01.181. PMID: 24400524
- Hibar K, Daami-Remadi M, Khiareddine H and El Mahjoub M** (2005) In vitro and in vivo inhibitory effect of *Trichoderma harzianum* on *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Radicis-lycopersici*. *Biotechnologie Agronomie Société et Environnement* 9:

163-171(Original Article in French).

**Hiltner, L.**, 1904. Über neuere erfahrungen und probleme auf dem gebeit der bodenbakteriologie und unter besonderer berucksichtigung der grundung und

brache. Arbeit und Deutsche Landwirtschaft Gesellschaft 98, 59-78

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

**Hussain J, Chen J, Locato V.** 2016 – L'accumulation cyclique constitutive de GMP chez *Arabidopsis thaliana* compromet la résistance systémique acquise induite par un agent pathogène avirulent en modulant les signaux locaux.

Rapports scientifiques 6 : 36423.

**Hu Y, Zhang W, Zhang P, Ruan W, Zhu X.** 2013 – Activité nématocide de la chaetoglobosine A produite par *Chaetomium globosum* NK102 contre *Meloidogyne incognita*. Journal de chimie agricole et alimentaire 61(1), 41–6.

**Huguenin B** (1966). Cours de phytopathologie. Nouméa : ORSTOM, 37 p. multigr.

**Hyakumachi, M.** (1994). Plant-growth-promoting fungi from turf grass rhizosphere with potential for disease suppression. Soil Microorg 44:53–68

**Ignjatov M., Milosevic D., Nikolic Z., Gvozdanic-Varga J., Jovicic D. Et Zdjelar G.**, 2012. - *Fusarium oxysporum* as Causal Agent of Tomato Wilt and Fruit Rot Pestic. Phytomed. (Belgrade), 27 (1) : 25-31.

**I.T.M.A.S.** Timimoune, 2023 Institut de technologie Moyenne agricole spécialisé en agriculture saharienne.

**ITDAS SBAA** ,2023 Institut de développement de l’Agronomie saharienne

**ITCMI** (2022).INSTITUT TECHNIQUE DES CULTURES MARAICHES ET INDUSTRIELLES. Fiches techniques valorisées des cultures maraîchères et Industrielles. La culture de Tomate Industrielle.

**Jelen, H., Blaszczyk, L., Chelkowski, J., Rogowicz, K., Strakowska, J.**, 2013. Formation of 6-n- pentyl-2H- pyran-2-one (6-PAP) and other volatiles by different *Trichoderma* species. Mycol. Prog, 13:589-600

**Jeunot B** 2005. Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d’exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.

**Jijakli, H.** 2003. La lutte biologique en phytopathologie. Pp : 289-311. In : Lepoivre, P. phytopathologie. Ed.les presses agronomiques des Gembloux

**Jimenez-Garcia S N, Garcia-Mier L, Garcia-Trejo J F, Ramirez-Gomez X S, JUDD, Walter S.; Campbell Christopher S.,; Kellogg Elisabeth Anne,; Bouharmont, Jules; Évrard, Charles-Marie**, 2002. Botanique systématique : une perspective phylogénétique de Boeck université.

**Kleifeled, O. et I. Chet.** 1992. *Trichoderma harzianum* -Interaction with plants and effects on growth response. Plant Soil 144 (2) : 267-272

**Klein D., Eveleigh D.E.**, 1998. Ecology of *Trichoderma*In *Trichoderma and Glicoladium*; Basic biology, taxonomy and genetics, pp.57- 74. Taylor and Francis Ltd, London, UK.

**KIRDI, B.** (2011). Rôle des PGPR «Plant Growth Promoting Rhizobacteria» dans la croissance végétale et la lutte contre les phanérogame parasites (Doctoral dissertation).

**Kirdi, B., Zermane, N.**, (2010). Rôle des PGPR dans la stimulation de la croissance végétale et la lutte contre les phanérogame parasites : *Orobanche crenata* Forsk. et *Cuscuta campestris* Yuncker / “Role of PGPR in Plant Prowth Promotion and control of the parasitic weeds: *Orobanche crenata* Forsk. and *Cuscuta campestris* Yuncker”.

- Kolev N., 1976.** Les cultures maraichères en Algérie : Légumes fruits, Ed, Ministère de l'agriculture et de la réforme agraire, T.1, 207p.
- Kubicek, C.P. ;Bissett, J. ; Druzhinina, I., Kullnig-Gradinger, C. and Szakacs, G., 2003.** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma sp.*: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biology*, 38 (3) : 310-319
- Lee S, Hung R, Yap M et Bennett JW.** 2015 – L'âge compte : les effets des composés organiques volatils émis par *Trichoderma atroviride* sur la croissance des plantes. *Archives de microbiologie* 197, 723–7.
- Leslie, J.F. and Summerell, B.A (2006).** The Fusarium Laboratory Manual. Ames, IA: Blackwell Publishing.
- Lindsey, D. et R. Baker., (1967).** Effect of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 338: 1262-1263
- Lorito, M. 1998.** Chitinolytic enzymes and their genes. In: Harman G.E., Kubicek C.P. (eds.). *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 2. Enzymes, biological control and commercial application, pp. 73-99. Taylor and Francis, London UK.
- Lopez-Seijas, J ; García-Fraga ; Silva, d and Sieiro, C. (2019).** Wine Lactic Acid Bacteria with Antimicrobial Activity as Potential Biocontrol Agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*
- Leuchtmann, A. ; petrini, O. et samuels, g., (1996).** Isozymes subgroups in *Trichoderma section Longibrachiatum*. *Mycologia*, 1996, 88 (3) : 384-394
- Landreau, A., (2001).** Métabolites d'une souche de *Trichoderma Koningii* Oudemans isolée du milieu marin : Etude chimique, Biologie et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes :, 201p.
- Madr, 2009.** (Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural), Direction des statistiques. 21p.
- Mezaache-Aichour S, Guechi A, Nicklin J, Drider D, Prevost H and Strange RN (2012)** Isolation, identification and antimicrobial activity of Pseudomonads isolated from the rhizosphere of potatoes growing in Algeria. *Journal of Plant Pathology* 94 (1): 89-98
- Mohamed-benkada Mustapha. 2006.** Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Th. : Pharmacie : Nantes : 9,10,11,12,13,p
- Morán-Diez, María E., Ángel Emilio Martínez de Alba, M. Belén Rubio, Rosa Hermosa, and Enrique Monte. 2021.** "Trichoderma and the Plant Heritable Priming Responses" *Journal of Fungi* 7, no. 4: 318. <https://doi.org/10.3390/jof7040318>
- Moretti, A., Belisario, A., Tafuri, A., Ritieni, A., Corazza, L. and Logrieco, A. (2002).** Production of beauvericin by different races of *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis, the *Fusarium* wilt agent of muskmelon. *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 661–666.
- Munees A., Mulugeta K. (2014).** Mechanisms of application of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. 26(1): 1-20
- Munkvold G P (2017).** *Fusarium* species and their associated mycotoxins. Antonio Moretti and Antonia Susca (eds.), *mycotoxigenic fungi: methods and protocols, methods in molecular biology*, vol. 1542. 52p.
- Naika, S., Van Dam, B., Florijn, A., 2005.** La culture de la tomate : production transformation et commercialisation. Edition Agromisa Foundation, coll. Agrodok, Wageningen. 150p.
- Nakayama K., Waki T., Aoki T., Morishima M. Et Fukuda T., 2010. -** Pathogenicity of *Fusarium solani* f. sp. *eumartii*, the causal pathogen of foot rot of tomato, on flowers, fruits and stems of tomato plants. *Japanese Journal of*

- Phytopathology (Annals of the Phytopathological Society of Japan), 76 (3) : 135-141.
- Nemec, S., L. Datnoff et J. Strandberg.** 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. *CropProt.* 15:735-742.
- Peters, J.C., Lees, A.K., Cullen, D.W., Sullivan, L., Stroud, G.P. and Cunnington, A.C** (2008). Characterization of *Fusarium* spp. responsible for causing dry rot of potato in Great Britain. *Plant Pathol.* 57: 262–271.
- Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., and Bakker, P. A.** (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52, 347–375.
- Pieterse, C.M.J., van Wees, S.C.M., Ton, J., van Pelt, J.A., van Loon, L.C.,** 2002. Signaling in rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Biol.* 4:535-544??
- Pitt, J.I., Hocking, A.D., Miscamble, B.F., Dharmaputra, O. S., Kuswanto, K.R., Rahayu, E.S., and Sardjono** (1997). The mycoflora of food commodities from Indonesia. *J. Food Mycol.* 1: 41–60.
- Pitt JI and Hocking AD** (2009). *Fungi and food spoilage*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York. Third edition. P 89-122
- Prasad MR, Sagar BV, Devi GU, Triveni S et al.** 2017 – Isolement et criblage d'isolats bactériens et fongiques pour les propriétés favorisant la croissance des plantes de la tomate) *Lycopersicon esculentum* Mill. (*International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6, 753–761.
- POLESE J. M.** 2007. *La Culture des tomates*. Amazon France Paris. Édité, n1, valortemis, polliladel tomate, Tuta absoluta. *Phytoma Espaneno.* 16- 23 – 194
- Polese J.M., au BOUZAATA Chouhaira** 2007. *La culture de tomate*. Ed Artémis. 95p.
- Proctor, R.H., Plattner, R.D., Brown, D.W., Seo, J.A. and Lee, Y.W.** (2004). Discontinuous distribution of fumonisin biosynthetic genes in the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycol. Res.* 108: 815–822.
- Raaijmakers, J.M., 2009.** The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil* 321, 341-361.
- Raaijmakers, J.M., Vlami, M. de Souza, J.T., 2002.** Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek* 81(1-4), 537-547.
- Ramírez-Cariño, H., Guadarrama, P., Sánchez, V., Cuervo-Parra, J.,
- Rahmouni. A.** 2019. Contribution à l'étude des bio-agresseurs aux cultures des tomates dans la wilaya d'Adrar, mémoire, Master, systèmes de production agro écologie Univ- Adrar
- Rajendiran R ; Jegadeeshkumar D; Sureshkumar B T ; Nisha T.** 2010. In vitro assessment of antagonistic activity of *Trichoderma viride* against post harvest pathogens. *Journal of Agricultural Technology* .6 : 31-35.
- Ramírez-Reyes, T., Dunlap, C and Valadez-Blanco, R.** (2020). Biocontrol of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma asperelloides* and *Bacillus paralicheniformis* in tomato plants. *Antonie van Leeuwenhoek.* 113.12471261.10.1007/s10482-020-01433-2.
- Reghmit, Abdenaceur, Benzina-tihar Farida, Djeziri Mourad, Hadjouti Rima, Oukali Zahia, et Sahir-Halouane Fatma.** 2022. « Effective Biofertilizer *Trichoderma* Spp. Isolates with Enzymatic Activity and Metabolites Enhancing Plant Growth ». <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1310274/v1>.
- Rey Y. et Costes C., 1965.** *La physiologie de la tomate, étude bibliographique*. Ed. INRA. 111p.
- Rijavec T, Lapanje A.** 2016 – Cyanure d'hydrogène dans la rhizosphère : ne supprime pas les agents pathogènes des plantes, mais régule plutôt la disponibilité du phosphate. *Frontières en microbiologie* 7, 1785.
- Rifai, M.A.m1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycologia. Papers*, 116:1-

- Roquebert, M-F.** 1996. Interaction antagonistes de *Trichoderma* sp dans les systèmes tellurique: systématique compte-rendu de 4<sup>eme</sup> rencontre en Toxicologie, Paris, 1996, 13-15
- Rouxel, F., Alabouvette, C. et Louvert, J.** (1979). « Recherches sur la résistance des sols aux maladies. II- Incidence de traitements thermiques sur la résistance microbiologique d'un sol à la Fusariose vasculaire du melon », *Ann Phytopathol.*, 183-192
- Sallam, N., Eraky, A., Sallam, A.** (2019). Effect of *Trichoderma* spp. On Fusarium wilt disease of tomato. *Molecular Biology Reports*.doi:10.1007/s11033019- 04901-9.
- Sandhu, D. K., et M. K. Kalra.** 1982. « Production of cellulase, xylanase and pectinase by *Trichoderma longibrachiatum* on different substrates ». *Transactions of the British Mycological Society* 79 (3): 409-13. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(82\)80034-X](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(82)80034-X).
- Samuels, G.J.,** (1996). *Trichoderma: Systematics, the Sexual State, and Ecology.* *Phytopathology* 96:195-206.
- Sciortino CV** (2017). *Atlas of Clinically Important Fungi.* Wiley & Sons, Inc. P 195-216
- Singh R, Singh S, Parihar P, Mishra RK et al.** 2016 – Espèces réactives de l'oxygène )ROS( : bénéfique Compagnons des processus de développement des plantes. *Frontières de la science végétale* 7, 1299. 113. ISSN0976-4585.
- Shankara N., Jeude J. V. L., Goffau M., Hilmi M., Dam B. V., 2005.** La culture de la tomate production, transformation et commercialisation. Ed. Prota, 105p.
- Suleiman A. S., Gambo, M. S and Sunusi, M.** (2019). An in vitro antagonistic effect of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *International Journal of Fruit Science* 0:0. Federal University Dutse. Vol. 3 No. pp 369 -374
- Shankara N., Jeude J. V. L., Goffau M., Hilmi M., Dam B. V., 2005.** La culture de la tomate production, transformation et commercialisation. Ed. Prota, 105p.
- Smith, S. E., & Read, D. J. (2008) *Manuel de microbiologie et biologie des champignons . Mycorrhizal Symbiosis* (3rd ed.). Academic Press
- Snoussi S., 2010.** Rapport de mission étude de base sur la tomate. Edition :GTFS/REM/070/ITA. Algérie.52p.
- Stępień L, Lalak-Kańczugowska J, Witaszak N, et Urbaniak M** (2019). Fusarium secondary metabolism biosynthetic Pathways: so close but So Far Away. J.-M. Mérellon, K. G. Ramawat (eds.), *Co-Evolution of Secondary Metabolites*.01-04
- Strange, R. N., & Scott, P. R.** (2005). Plant disease: a threat to global food security. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 83-116.
- Subramanian C.V.,** 1998 - *Hyphomycetes. Taxonomy and Biology.* Londres : Academic Press Inc., 1983, pp. 340-347, 502 p.
- Takahashi H, Shimizu A, Arie T, Rosmalawati S, Fukushima S, KikuchiM, Hikichi Y, Kanda A, Takahashi A, Kiba A, Ohnishi K, Ichinose Y, TaguchiF, Yasuda C, Kodama M, Egusa M, Masuta C, Sawada H, Shibata D, Hori K and Watanabe Y** (2005) Catalog of Micro-Tom tomato responses to common fungal, bacterial, and viral pathogens. *J Gen Plant Pathol.* 71: 8–22.
- Toua D, Benchabane M, Bensaid F and Bakour R** (2013) Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax. *African Journal of Microbiology Research* 7 (48): 5449-5458
- Van Der Does, H. C., Lievens, B., Claes, L., Houterman, P. M.,Cornelissen, B. J. Cand Rep, M.** (2008). The presence of a virulence locusdiscriminates *Fusarium oxysporum* isolates causing tomato wilt from otherisolates. *Environmental Microbiology*, 10(6), 1475– 1485. doi:10.1111/j.1462-2920.2007.

- Verma M., Brar S.K., Tyagi R.D., Surampalli R.Y. Et Valero J.R., 2007.** - Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp. : Panoply of biological control  
Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp. : Panoply of biological control. Biochemical Engineering Journal, 37 : 1-20.
- Viron, N., 2010.** Identification et validation de nouveaux gènes candidats impliqués dans la régulation du développement du fruit de la tomate. Thèse de doctorat en biologie végétal. Université de Bordeaux. 1. 140p.
- Vinale, Francesco & Sivasithamparam, K. & Ghisalberti, Emilio & Marra, Roberta & Barbetti, M.J. & Li, Hua & Woo, Sheridan & Lorito, M.. (2008).** A novel role for The Trichoderma–plant interaction Trichoderma secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 72. 80-86. 10.1016/j.pmpp.2008.05.005.
- Vizcaíno JA, Sanz L, Basilio A, Vicente F, Gutiérrez S, Hermosa MR, Monte E (2005)** Screening of antimicrobial activities in Trichodermaisolates representing three trichoderma sections. *Mycol Res* 109:1397–1406
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., van der Putten, W.H. & Wall, D.H. (2004)** Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304.
- Windham, M.T., Y. Elad et R. Baker. 1986.** A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76 : 518-521.
- Yedidia, I., N. Benhamou, Y. Kapulnik et I. Chet. 2000.** Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant Physiology and Biochemistry*, 38: 863-873.
- Yedidia, I., A.K. Srivasta, Y. Kapulnik et I.Chet.,(2001).** Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant soil*, 235: 235-242.
- Yedidia I., Benhamou N., Chet I. (1999).** Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus*L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, p. 1061–1070.

## Annexes

### Annexe 01 : Composition des différents milieux de cultures utilisés (Composants g/ litre)

<b>Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)</b> Pomme de terre 200 g Dextrose 20 g Agar 20 g	<b>Milieu de Czapek–Dox</b> NaNO <sub>3</sub> 2g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1g MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 0,5g KCl 0,5g Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 0,01g Saccharose 30g Agar 20g
<b>Milieu des chitinases</b> Glucose 5 g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 3g NH <sub>4</sub> Cl 1g NaCl 0,5 g CaCl <sub>2</sub> 0,1 g MgSO <sub>4</sub> 0,12g Chitine colloïdale 1% (p:v) Agar 20g	<b>Gélose Tryptone de soja (TSA) additionné de glycine</b> Trypticase 17g Soytone 3g Chlorure de sodium 5g Glycine 4,4g Agar 20g
<b>Milieu de Czapek–Dox</b> NaNO <sub>3</sub> 2g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1g MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 0,5g KCl 0,5g Fe <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 0,01g Saccharose 30g Agar 20g	<b>Milieu Richards</b> KNO <sub>3</sub> 10g MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 2,5g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 5g Saccharose 50g Agar 20g
<b>Milieu MEA (Malt- Extract- Agar)</b> Extrait de malt 20g Agar 20g	<b>Milieu des glucanase (MSM additionné de la farine d'orge)</b> MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,2g K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,9g KCl 0,2g FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O 0,002g MnSO <sub>4</sub> 0,002g ZnSO <sub>4</sub> 0,002g NaNO <sub>3</sub> 1g Farine d'orge 10g Agar 20g
<b>Milieu Waksman</b> K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1g MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O 0,5g Peptone 5g Glucose 10g Agar 20g	<b>Milieu des pectinases</b> Pectin 10g (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 3g MgSO <sub>4</sub> 0,1g Agar 20g
<b>Milieu des lipases</b> Tween 20 10 mL	<b>Milieu des protéases</b> Lait allégé (non gras) 300 mL

## Annexes

Peptone 10 g NaCl 5 g CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O 0,1 g Agar 20 g	Agar 20 g
<b>Milieu des amylases</b> Extrait de levure 3 g Peptone 5 g Amidon soluble 2 g Agar 20 g	<b>Milieu de culture OGA</b> Extrait de levure 5g Glucose 20g Agar 20g Oxytétracycline 0,10g
<b>Milieu des cellulases</b> -Activité endoglucanase Carboxy-méthyl-cellulose(CMC) 20 g Agar 20g	<b>Milieu Sabouraud</b> Peptone 10g Glucose 20g Agar 20g
<b>Milieu pour le test de fixation d'azote</b> KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0.2 g CaCO <sub>3</sub> 5 g MgSO <sub>4</sub> ·7 H <sub>2</sub> O 0.2 g NaCl 0.3 g Mannitol 10 g CaSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O 0.1 g agar 20 g	

### Annexe 02

#### Tampon aux phosphates (Sorensen, 1909)

- A : Solution de phosphate monosodique 0.2M (soit 27.8 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> dans 1000 ml d'eau distillée).
- B: Solution de phosphate de sodium dibasique 0.2M (soit 53.55 g de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dans 1000 ml d'eau distillée).

pH	x (ml)	y (ml)
5	98.3	1.7
6	87.7	12.3
7	39	61
8	5.3	94.7
9	00	100

Mélanger x ml de A et y ml de B auxquels on ajoute 100 ml d'eau distillée stérile pour obtenir les valeurs suivantes.

## Annexes

### Annexe 03



**FIGURE 01: centrifugeuse**



**FIGURE 02 : Etuve**

Annexes



FIGURE 03: pH-mètre

## Résumé

### Résumé

*Fusarium* est un champignon tellurique ubiquiste capable de provoquer des maladies sur de nombreuses espèces végétales d'intérêt économique. L'utilisation de *Trichoderma* contre *Fusarium* constitue une alternative écologiquement durable et efficace.

En effet, après la confrontation directe et indirecte contre *Fusarium*, les deux souches les plus performantes T2 et T4 ont été sélectionnées pour l'étude de l'effet de différents facteurs abiotiques (température, pH, salinité, milieu de culture, lumière) sur la croissance mycélienne de deux souches locales de *Trichoderma*. Cette étude montre que le milieu PDA permet une meilleure croissance des souches de *Trichoderma*. La température optimale de croissance est de 30 °C avec un pH 6 et une concentration de sel (NaCl) allant jusqu'à 4%.

La mesure de l'activité enzymatique des souches *Trichoderma* démontre des résultats positifs pour la majorité des enzymes recherchées, les résultats montrent la capacité des isolats de *Trichoderma* à solubiliser le phosphate, de fixer l'azote et de produire de l'ammoniaque.

L'étude *in situ* sur les plants de tomate a révélé la capacité des *Trichoderma* à stimuler la croissance des diverses plantes traitées en augmentant la biomasse végétative et racinaire par rapport aux plants témoins. Les souches de *Trichoderma* ont amélioré la défense des plantes contre le phytopathogène. De plus, elles ont maintenu une colonisation élevée des racines dans la rhizosphère par rapport aux conditions observées chez les témoins.

**Mots clé :** *Trichoderma, Fusarium, tomate, inoculation, croissance végétative, défense.*

### Abstract

*Fusarium* is a ubiquitous soil-borne fungus capable of causing diseases in many economically important plant species. The use of *Trichoderma* against *Fusarium* provides an ecologically sustainable and effective alternative.

Indeed, after direct and indirect confrontation with *Fusarium*, the two most effective strains, T2 and T4, were selected for studying the effect of different abiotic factors (temperature, pH, salinity, culture medium, light) on the mycelial growth of two local strains of *Trichoderma*. This study shows that the PDA medium allows better growth of *Trichoderma* strains. The optimal growth temperature is 30 °C with a pH of 6 and a salt (NaCl) concentration of up to 4%.

The measurement of the enzymatic activity of *Trichoderma* strains demonstrates positive results for most of the targeted enzymes. The results show the ability of *Trichoderma* isolates to solubilize phosphate, fix nitrogen, and produce ammonia.

The *in situ* study on tomato plants revealed the ability of *Trichoderma* to stimulate the growth of various treated plants by increasing vegetative and root biomass compared to control plants. *Trichoderma* strains improved plant defense against the phytopathogen. Additionally, they maintained high root colonization in the rhizosphere compared to the conditions observed in the controls.

**Keywords:** *Trichoderma, Fusarium, tomato, inoculation, vegetative growth, defense.*

## المخلص

يعتبر الفيوزاريوم من الفطريات المنتشرة في كل مكان في التربة والقادرة على التسبب في إصابة العديد من الأنواع النباتية ضد الفيوزاريوم بديلاً مستداماً وفعالاً من الناحية Trichoderma المهمة اقتصادياً بالأمراض. ويُعد استخدام التريكوديرما البيئية لدراسة تأثير T2 و T4 بعد إجراء مقارنات مباشرة وغير مباشرة ضد الفيوزاريوم، تم اختيار السلالتين الأفضل أداء العوامل اللاأحيائية المختلفة درجة الحرارة، ودرجة الحموضة، والملوحة، ووسط الاستزراع، والضوء على نمو حسن من نمو سلالات التريكوديرما كانت PDA الفطريات السلالتين محليتين من التريكوديرما أظهرت الدراسة أن وسط درجة الحرارة المثلى للنمو 30 درجة مئوية مع درجة حموضة 6 وتركيز ملح كلوريد الصوديوم يصل إلى 4%.

وأظهر قياس النشاط الإنزيمي السلالات التريكو ديرما نتائج إيجابية لغالبية الإنزيمات التي تم فحصها. أظهرت النتائج قدرة سلالات التريكوديرما على إذابة الفوسفات وتثبيت النيتروجين وإنتاج الأمونيا، كشفت الدراسات الموضوعية على نباتات الطماطم عن قدرة التريكوديرما على تحفيز نمو مختلف النباتات المعالجة من خلال زيادة الكتلة الحيوية النباتية والجذرية مقارنة بالنباتات الخاضعة للمراقبة. وحسنت سلالات التريكو ديرما من دفاع النباتات ضد مسببات الأمراض النباتية بالإضافة إلى ذلك، حافظت هذه السلالات على مستوى عالٍ من استعمار الجذور في الغلاف الجذري مقارنة بالظروف التي لوحظت في النباتات الضابطة.

**الكلمات المفتاحية:** التريكوديرما، الفيوزاريوم الطماطم، التلقيح، النمو الخضري، الدفاع