

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة قاصدي مرباح - ورقلة
UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA

كلية علوم الطبيعة والحياة
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم العلوم الفلاحية
Département des Sciences Agronomiques



THESE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} Cycle
Spécialité : Phytoprotection et environnement

**Isolement et identification de quelques agents responsables des maladies
fongiques de la tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) dans la région de Oued
Righ et essais de lutte biologique (*In Vitro* et *In Vivo*) en utilisant
Trichoderma asperellum contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***

Présentée et soutenue publiquement le 01/ 07/2021

Par : **BENLAMOUDI Wiam**

Devant le jury composé de :

Président	IDDER Mohamed Azzedine	Professeur	Univ. K.M. Ouargla
Directeur de thèse	GUEZOUL Omar	Professeur	Univ. K.M. Ouargla
Co-Directrice de thèse	DEHLIZ-LAKHDARI Wassima	M. R. A.	I.N.R.A.A. Touggourt
Examineur	SEKOUR Makhlof	Professeur	Univ. K.M. Ouargla
Examineur	BENSALAH Mohamed Kamel	M. R. A.	C.R.S.T.R.A. Biskra
Examineure	IDDER - IGHILI Hakima	M. C. A.	Univ. K.M. Ouargla

Année Universitaire : 2020/2021

Dédicace

A :

Ma très chère mère

Toute ma famille

Remerciements

Je voudrais dans un premier temps remercier très spécialement, mon directeur de thèse **Mr. GUEZOUL Omar** pour sa patience, son encouragement, sa disponibilité et surtout d'avoir stimulé mon potentiel à travers ses bouffées d'espoir. Veuillez trouver ici l'expression de mes profonds sentiments de respect.

Je tiens à remercier **Mme. DEHLIZ-LAKHDARI Wassima** pour le partage de ses connaissances et expériences dans le domaine des champignons et d'avoir me faire en découvrir. Veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

Mes remerciements vont certainement au président de ce jury, **Mr. IDDER Mohamed Azzedine**. Merci de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider ce jury et en faire partie.

J'adresse également mes sincères remerciements à **Mme IDDER-IGHILI Hakima**, **Mr. SEKOUR Makhlouf** et **Mr. BENSALAH Med. Kamel**. Qu'ils trouvent ici mon grand respect. Je vous suis énormément reconnaissante de bien vouloir porter intérêt à ce travail.

Comme je remercie pleinement **Mr. BELAROUSSI Mohamed**. Merci pour le soutien qu'il n'avait cessé de me porter pendant toute mes années d'études. Qu'il trouve ici une grande reconnaissance.

J'aimerais exprimer ma gratitude à tous les chercheurs et cadres de l'INRAA (station Touggourt), trop nombreux pour les citer, pour leur encouragements. Ils étaient tous un grand soutien dans l'élaboration de ce travail. Merci spécialement aux opportunités offertes par les Ex-directeurs **Mr. HAFOUDA Lamin** et **Mr. DEHLIZ Abderrahmène** pour me rendre si privilégiée en assurant la majeure partie pratique de la thèse. Ainsi, des vifs remerciements à **Mr. BERREKBIA Mohamed** pour le temps qu'il a consacré à m'aider à tenir une bonne conduite statistique et à **Mr. OUARGLI Djamel** pour son aide technique et pratique continu.

Je tiens à remercier également toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
FAO	Food and Agriculture Organization
FAOSTAT	Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database
OMS	Organisation mondiale de la santé
OILB	Organisation Internationale de Lutte Biologique
ONID	Office National d'Irrigation et de Drainage
INRAA	Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie
CFVA	Centre de Formation et de Vulgarisation Agricole
CRAPC	Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-Chimiques
DPVCT	Direction de la Protection des Végétaux et des Contrôles Techniques
ITCMI	Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles
NIST	National Institute of Standards and Technology
ITS	Régions transcrites d'espacement
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
1-alpha (tef1)	Facteur d'élongation de traduction
f. sp.	<i>Formae specialis</i>
spp.	Les espèces
sp.	Espèce
NaCl	Chlorure de sodium
NPK	N : Azote ; P : Phosphore ; K : Potassium
PDA	Gélose nutritive dextrosée à la pomme de terre
PDB	Bouillon dextrosée à la pomme de terre
pH	Potentiel hydrogène
p	Niveau de signification
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
Fig.	Figure
Tab.	Tableau
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
eV	Électronvolt

Liste des photographies

Photos	Titre	Pages
1	Un site d'échantillonnage composé de différentes variétés de tomate cultivées à l'ONID	16
2	Séchage des fragments infectés.....	17
3	Culture de lame menée sur une espèce fongique.....	19
4	Préparation des plantules de tomate (Hybride Tafna).....	20
5	Désinfection du fumier organique.....	21
6	Empotage du substrat désinfecté	21
7	Préparation d'une suspension de spores de <i>Fusarium</i> sp.	22
8	Inoculation de la fusariose dans les plantes de tomate.....	23
9	Inoculation de la fusariose dans les fruits de tomate	24
10	Test de compétition	26
11	Test de mycoparasitisme	26
12	Test d'antibiose	27
13	Mise en culture de <i>T. asperellum</i> sur différents milieux carbohydratés	28
14	Pigmentation produite par <i>T. asperellum</i> sous différents traitements	30
15	Production en masse de <i>T. asperellum</i> sur substrat de palmes sèches	32
16	Produit chimique de référence, BELTANOL-L	32
17	Application de différents traitements sur les plantules de la tomate	34
18	Extraction des métabolites volatiles de <i>T. asperellum</i>	35
19	Colonies fongiques formées sur PDA.....	39
20	Symptômes de la fusariose sur les plants de tomate.....	40
21	Caractères morphologiques de <i>Fusarium</i> spp.....	41
22	Symptômes de la rhizoctonie sur les plants de tomate.....	41
23	Caractères morphologiques de <i>Rhizoctonia</i> spp.	42
24	Symptômes de la sclérotiniose sur les plants de tomate	43
25	Caractères morphologiques de <i>S. sclerotiorum</i>	44
26	Caractères morphologiques de <i>Monilinia</i> sp.	45
27	Symptômes d'agents phytopathogènes aériens sur la tomate	45
28	Symptômes de l'alternariose sur les plants de la tomate	46
29	Caractères morphologiques d' <i>Alternaria</i> spp.	48
30	Caractères morphologiques de <i>Didymella</i> spp.	49
31	Caractères morphologiques d' <i>Ulocladium</i> sp.	50
32	Symptômes de la cladosporiose sur les plants tomate	51
33	Caractères morphologiques de <i>Cladosporium</i> sp.	52
34	Caractères morphologiques de <i>Stemphylium</i> spp.	53
35	Caractères morphologiques de <i>T. roseum</i>	54
36	Pourriture grise produite sur des attaques nécrotiques	54
37	Caractères morphologiques de <i>B. cinerea</i>	55
38	Caractères morphologiques de <i>Trichoderma</i> spp.	56
39	Caractères morphologiques de <i>Neotyphodium</i> sp.	57

40	Caractères morphologiques de <i>Bipolaris</i> sp.	58
41	Caractères morphologiques de <i>Penicillium</i> sp.	58
42	Caractères morphologiques d' <i>A. niger</i>	59
43	Caractères morphologiques d' <i>A. flavus</i>	60
44	Caractères morphologiques de <i>Rhizopus</i> sp.	61
45	Caractères morphologiques de <i>Cladophialophora</i> sp.	61
46	Caractères morphologiques de l'isolat de <i>Fusarium oxysporum</i>	65
47	Symptômes de <i>F. oxysporum</i> sur les plants de tomate	66
48	Symptômes de <i>F.oxysporum</i> sur les fruits de tomate	67
49	Récupération de <i>F.oxysporum</i> à partir de tomates inoculées.....	68
50	Culture de <i>T. asperellum</i> sur milieux de cultures.....	71
51	Structures microscopiques de <i>T. asperellum</i>	71
52	Effet inhibiteur de <i>T. asperellum</i> vis-à-vis <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> dans les conditions contrôlées, après 6 jours d'incubation.....	72
53	Altérations morphologiques de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> provoquées à la suite de son exposition à <i>T. asperellum</i>	74
54	Développement mycélien de <i>T. asperellum</i> sur différentes sources glucidiques.....	78
55	Croissance mycélienne de <i>T. asperellum</i> sous différents traitements de salinité et de température.....	80
56	Chlamydo-spores de <i>T. asperellum</i> sous les conditions salines du milieu.....	81
57	Plantes de tomate soumises à différents traitements après 24 jours d'inoculation de la fusariose	87
58	Plantes de tomate soumises à différents traitements après 31 jours d'inoculation de la fusariose	88
59	Plantes de tomate soumises à différents traitements après 55 jours d'inoculation de la fusariose	89

Liste des figures

Figures	Titre	Pages
01	Développement mycélien (cm) de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en présence directe et indirecte de <i>T. asperellum</i>	73
02	Croissance mycélienne de <i>T. asperellum</i> (cm/ j) sur différentes source carbohydratées....	79
03	Développement mycélien moyen (cm) de <i>T. asperellum</i> sous différents traitements (salinité et température).....	81
04	Taux d'absorbance de <i>T. asperellum</i> sous différents traitements (salinité et température).....	82
05	Composés volatiles de l'extrait hexanolique de <i>T. asperellum</i> identifiés par GC-MS.....	93
06	Composés volatiles de l'extrait méthanolique de <i>T. asperellum</i> identifiés par GC-MS.....	94
07	Composés volatiles de l'extrait butanolique de <i>T. asperellum</i> identifiés par GC-MS.....	94

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Pages
01	Métabolites volatiles identifiés à partir d'un extrait butanolique de <i>T. asperellum</i>	95
02	Métabolites volatiles identifiés à partir d'un extrait hexanolique de <i>T. asperellum</i>	95
03	Métabolites volatiles identifiés à partir d'un extrait méthanolique de <i>T. asperellum</i> ...	96

Table des matières

	Pages
Dédicace	
Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des photographies	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction.....	2
Données bibliographiques	
I.- Données bibliographiques.....	6
I.1.- Interaction plante/ champignons.....	6
I.1.1.- Cas de <i>Fusarium oxysporum</i>	6
I.1.1.1.- Fusariose de la tomate.....	6
I.1.1.2.- Caractérisation de la fusariose de tomate.....	7
I.1.1.3.- Moyens de lutte contre la fusariose de la tomate.....	8
I.1.1.4.- Concept de lutte biologique.....	8
I.1.2.- Cas de <i>Trichoderma</i> spp.	9
I.1.2.1.- Caractérisation de <i>Trichoderma</i> spp.	10
I.1.2.2.- Habitat de <i>Trichoderma</i> spp.	10
I.1.2.3.- Relation <i>Trichoderma</i> / plante	11
I.1.2.4.- Modes d'action de <i>Trichoderma</i> spp.	11
I.1.2.5.- Optimisation de l'utilisation de <i>Trichoderma</i>	12
I.1.2.6.- Faciès clinique de <i>Trichoderma</i> ...	12
Matériel et méthodes	
II.- Matériel et méthodes.....	14
II.1.- Flore fongique isolée de la tomate.....	14
II.1.1.- Stations d'étude.....	14
II.1.2.- Echantillonnage des sujets infectés.....	15
II.1.3.- Isolement des agents fongiques	17
II.1.3.1.- Désinfection et séchage.....	17
II.1.3.2.- Ensemencement des fragments végétaux.....	17
II.1.3.3.- Incubation des boîtes de culture.....	17
II.1.3.4.- Purification des colonies	18
II.1.4.- Identification des isolats obtenus.....	18
II.1.4.1.- Culture de lame	18
II.1.4.2.- Observation macro et microscopique	19
II.1.4.3.- Clés dichotomiques	19
II.2.- Tests de pathogénicité de la fusariose de tomate.....	19
II.2.1.- Préparation des supports végétaux.....	20
II.2.1.1.- Préparation des plantules	20
II.2.1.2.- Préparation des fruits.....	20
II.2.2.- Préparation du substrat	20
II.2.3.- Préparation de l'inoculum.....	21
II.2.3.1.- Matériel fongique	22
II.2.3.2.- Préparation de la suspension de spores.....	22
II.2.4.- Postulats de Koch.....	22
II.2.4.1.- Inoculation de la fusariose sur les plants	23
II.2.4.2.- Inoculation de la fusariose sur les fruits	23

II.2.5.-Estimation des symptômes.....	24
II.2.6.- Récupération de l'agent phytopathogène.....	25
II.3.-Screening du potentiel antagoniste de <i>T.asperellum</i> à l'égard de <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	25
II.3.1.-Isolement et identification de l'isolat de <i>T. asperellum</i>	25
II.3.2.- Effet <i>In Vitro</i> antagoniste de <i>T. asperellum</i> à l'égard de la fusariose	25
II.3.2.1.- Compétition (confrontation directe).....	26
II.3.2.2.- Mycoparasitisme (diffusion de composés non volatils)	26
II.3.2.3.- Antibiose (émission de composés volatils)	27
II.3.3.- Taux d'inhibition du champignon phytopathogène.....	27
II.4.- Enquête sur l'écophysiologie de <i>T. asperellum</i>	28
II.4.1.- Effet de quelques milieux carbohydratés sur la croissance de <i>T. asperellum</i>	28
II.4.2.- Effet de la température et la salinité sur la croissance de <i>T. asperellum</i>	29
II.4.3.- Estimation de quelques paramètres de croissance de <i>T. asperellum</i>	29
II.4.3.1.- Cinétique de croissance mycélienne de <i>T. asperellum</i>	29
II.4.3.2.- Diffusion de pigments	29
II.5.- Potentiel <i>In Vivo</i> de <i>T. asperellum</i> dans la lutte contre la flétrissure fusarienne...	30
II.5.1.-Matériel végétal.....	30
II.5.2.-Désinfection du substrat	31
II.5.3.-Préparation de l'inoculum phytopathogène.....	31
II.5.4.-Optimisation à l'application de <i>T. asperellum</i>	31
II.5.5.-Produit de référence.....	32
II.5.6.-Exécution des traitements sur les plants de tomate.....	33
II.5.7.-Notation des symptômes de la fusariose	34
II.6.- Profil métabolique de <i>T. asperellum</i>	34
II.6.1.- Préparation de la culture liquide	34
II.6.2.- Méthodes d'extraction.....	34
II.6.3.- Conditions de chromatographie.....	35
II.7.- Analyses statistiques.....	

Résultats et discussions

III.- Résultats et discussions.....	39
III.1.- Flore fongique isolée de la tomate.....	39
III.1.1.- Champignons phytopathogènes.....	39
III.1.1.1.- Agents fongiques telluriques	39
III.1.1.2.- Agents fongiques aériens.....	45
III.1.2.- Champignons non contaminants	55
III.1.2.1.- Agents fongiques endophytes.....	55
III.1.2.1.- Agents fongiques saprophytes.....	57
III.1.3.- Discussion des résultats	62
III.2.- Pathogénicité de la fusariose envers la tomate.....	65
III.2.1.- Description de l'agent phytopathogène.....	65
III.2.2.- Confirmation de <i>F. oxysporum</i>	66
III.2.2.1.- Inoculation sur plants.....	66
III.2.2.2.- Inoculation sur fruits.....	67
III.2.3.- Récupération de l'agent phytopathogène.....	68
III.2.4.- Discussion des résultats.....	68
III.3.- Potentiel de <i>T. asperellum</i> à l'égard de <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	71

III.3.1.- Description de l'agent antagoniste.....	71
III.3.2.- Résultats de tests d'antagonisme.....	72
III.3.3.- Discussion des résultats.....	74
III.4.- Pouvoir éco-physiologique de la souche de <i>T. asperellum</i>	78
III.4.1.- Effet de différentes sources de carbone sur la croissance de <i>T. asperellum</i>	78
III.4.2.- Effet de la salinité et la température sur la croissance de <i>T. asperellum</i>	79
III.4.2.1.- Effet de la salinité et la température sur le développement mycélien de <i>T. asperellum</i>	82
III.4.2.2.- Effet de la salinité et la température sur la sporulation de <i>T. asperellum</i>	82
III.4.3.- Discussion des résultats.....	81
III.5.-Potentiel <i>In Vivo</i> de <i>T. asperellum</i> dans la lutte contre la flétrissure fusarienne	86
III.5.1.-Essai d'efficacité biologique de <i>T. asperellum</i> vis-à-vis la fusariose.....	86
III.5.2.-Discussion des résultats.....	90
III.6.- Profil métabolique de <i>T. asperellum</i>	93
III.6.1.- Métabolites volatils extraits de <i>T. asperellum</i>	93
III.6.2.- Discussion des résultats.....	96
Conclusion et perspectives.....	98
Références bibliographiques.....	101
Annexes	

Introduction

Introduction

En Algérie, la production de la tomate poursuit sa progression en battant son plein en 2019, soit une valeur de 1 477 878 qx qui s'établit pour des superficies arables en consacrées de 24 496 ha. Parmi toutes les cultures maraichères stratégiques du pays, ce produit s'est classé en troisième position après la pomme de terre et les oignons secs (FAOSTAT, 2021).

En effet, différentes ressources agro-climatiques et techniques (variétés adaptées, climat, superficies, maîtrise des itinéraires techniques et disponibilité hydrique) sont réunies pour réaliser un rendement prépondérant. Cet avantage augmente vers le sud du pays qui est doté naturellement de potentialités solaires élevées ou les serres ne nécessitent pas de chauffage en culture d'hiver (ZELLA et SMADHI, 2009 ; BOUZID et BEDRANI, 2013). Etant donné que les régions sahariennes approvisionnent de 43% la production nationale totale de la tomate (REKIBI, 2015), ceci leur permet pratiquement de participer d'une grande part à la sécurité alimentaire du pays et pourquoi pas de s'intégrer dans le marché international. Autrement dit, le véritable défi de ce grenier agricole ne se cantonne pas seulement à cet enjeu économique mais il sera vraiment relevé si les efforts sont consentis dans un cadre de préservation de l'environnement où les produits seront conformes aux normes alimentaires internationales.

Néanmoins, la tomate demeure un terrain propice pour l'apparition et le développement de nombreux bio-agresseurs dont les champignons phytopathogènes occupent une place primordiale. Ces pathotypes ne pourraient être aussi contrôlés par les agriculteurs locaux si les moyens de prophylaxie n'ont pas été intervenus en amont de la culture. D'ailleurs, certains agents fongiques sont hyper-virulents car ils se conservent dans la rhizosphère dans des formes de conservation quand ils se retrouvent sous des conditions délicates (BLANCARD, 2012). Ce caractère, dénommé fongistase (LISBOA et *al.*, 2015) aide quelques agents fongiques à se résister et subsister dans le sol puis se vitaliser lorsque une nouvelle plante hôte se présente. A titre d'exemple, les espèces de *Fusarium* sont incontournables et ne cessent de provoquer de sérieux dégâts directs sur la tomate à n'importe quel stade de développement du végétal. En absence d'un hôte spécifique, elles se conservent sous forme de chlamydospores (LESLIE et SUMMERELL, 2006).

D'ailleurs, l'indisponibilité des méthodes de lutte efficaces, offertes aux producteurs, aggrave la situation dans les zones de production. C'est pourquoi les maladies

cryptogamiques, essentiellement vasculaires, sont généralement traitées en se servant de produits phytosanitaires de synthèse qui semblent perçus uniques et récurrents. Alors que ces formulations chimiques se montrent souvent quasi inefficaces si elles ne sont pas appliquées en préventif puis à plusieurs occasions. Il va de soi de mentionner que ceci engendre des accumulations de résidus toxiques à haut niveau dans l'environnement et les aliments destinés aux êtres humains. Ce débat international ne s'est pas échappé à un organe conjoint l'OMS/FAO (2018) qui a récemment dicté les directives et les normes alimentaires de rigueur, en matière de traitements chimiques, tout en illustrant une prise de conscience culturelle continuelle et mettant davantage l'accent sur la santé du consommateur.

En réalité, cette situation doit faire l'objet d'un exemplaire à activer sur le plan national. Il s'avère indispensable d'intégrer des alternatives efficaces et sûres dans les stratégies de lutte contre les bio-agresseurs de cultures pour faire face aux dangers écologiques et sanitaires tout en réduisant les applications non justifiées des intrants phytosanitaires chimiques.

D'une part, l'une de plus faisable méthode de lutte préventive se représente dans la sélection génétique des variétés où la production des hybrides résistants aux maladies (BOUREGHDA, 2009). Tandis, ceci ne peut pas être appliqué car ces deux procédés sont encore méconnus à l'échelle nationale ce qu'il fait que la majorité des semences de tomate sont continuellement importées à un coût très élevé (REKIBI, 2015). D'autre part, l'essor mondial de la lutte biologique qui se déploie par l'utilisation des moyens naturels prometteurs, à l'image des champignons antagonistes, peut être copié et adapté dans les stratégies nationales de lutte.

Dans ce contexte, les espèces appartenant au genre de *Trichoderma* ont déjà déclenché une révolution biologique depuis des décennies. Elles sont dotées d'une vive attention dans les recherches scientifiques internationales où elles sont considérées comme l'avenir des bio-fongicides les plus efficaces contre les maladies fongiques les plus répandues et sur les cultures les plus stratégiques (WOO et *al.*, 2014).

Dans le but de contribuer au développement de la lutte biologique contre les maladies cryptogamiques, ce travail porte sur la vérification de la potentialité antagoniste d'un isolat de *Trichoderma asperellum* en inhibant la croissance d'un pathotype virulent de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Le document est axé autour de trois parties majeures. La 1^{ère} est une synthèse bibliographique qui avance l'interaction des champignons avec la tomate et met en évidence la lutte biologique en utilisant les espèces de *Trichoderma*. La seconde est réservée aux essais expérimentaux détaillés avec les moyens et techniques utilisées. Quant au dernier axe, il présente en premier lieu les résultats obtenus de l'identification de la flore fongique (phytopathogène, saprophyte et endophyte) isolée de la tomate dans la région d'Oued Righ. Outre, il comporte les résultats de l'évaluation du pouvoir antagoniste (compétition, mycoparasitisme et antibiose) de *T. asperellum*, dans les conditions contrôlées puis *In Vivo* contre le flétrissement fusarien sur une variété hybride de tomate (Tafna) placée sous serre à Touggourt. Cette partie est maintenue après une vérification du pouvoir éco-physiologique, dans les conditions contrôlées, de l'antagoniste à l'égard de quelques facteurs abiotiques (salinité et température) caractéristiques à la région saharienne. L'ensemble des essais est enfin suivi par une caractérisation métabolique de l'espèce antagoniste en question afin de justifier son potentiel fonctionnel. Ainsi, une conclusion générale, portant quelques perspectives, est présentée à la fin du document.

Données bibliographiques

I.- Données bibliographiques

Cette partie décrit l'interaction de *Fusarium oxysporum* avec la tomate en mettant en évidence certaines méthodes de lutte. Comme elle comporte la caractérisation de la relation de *Tichoderma* spp. avec les plantes et les champignons phytopathogènes en tant qu'agent de lutte biologique efficace.

I.1.- Interaction plante/ champignons

Les champignons sont des eucaryotes hétérotrophes ubiquistes vivant en air ainsi que dans le sol et les espaces aquatiques (DIGHTON, 2003 ; WATANABE, 2010). Leur caractère multi-physiologique les confère une infection de divers types d'hôtes tels que les plantes, les animaux et les êtres humains (HOWARD, 2003 ; KAVANAGH, 2018).

L'infection des plantes par les champignons phytopathogènes s'attribue généralement selon la spécificité et l'âge de l'hôte, sensibilité/ résistance des variétés aux différentes races physiologiques du champignon, influence des conditions environnementales ainsi que le potentiel virulent du micro-organisme phytopathogène (ESQUERRE-TUGAYE, 2001 ; AGRIOS, 2005).

I.1.1.- Cas de *Fusarium oxysporum*

Celle-ci est l'espèce ascomycète la plus répandue et virulente sur les cultures (LESLIE et SUMMERELL, 2006). Elle 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 plusieurs mycotoxines dont lui confèrent des rôles antifongiques, antibactériens, cytotoxiques et parfois un pouvoir cancérogène (CARLESSE et *al.*, 2017 ; PERINCHERRY et *al.*, 2019).

I.1.1.1.- Fusariose de la tomate

Déjà elle sévit mondialement sur plusieurs biotopes (sol, cultures horticoles et vivrières), 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 sur les cultures sous serre. 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).

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). Quant au cas particulier de *F. oxysporum*, il contient deux différentes formes spéciales consécutives à des symptômes distincts : la pourriture des racines et du collet causée par *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* Jarvis & Shoemaker, (1978) et la flétrissure fusarienne causée par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen, (1940) (BLANCARD, 2012). Ce dernier est également noté comme l'une des maladies fongiques les plus courantes des tomates stockées (BLANCARD, 2012 ; IGNJATOV et al., 2012).

Outre, sous la même forme spéciale, il existe des races physiologiques classées selon la résistance de différents cultivars de tomate vis-à-vis d'un isolat phytopathogène (SMITH, 2007 ; VAN DAM et al., 2016) dont *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en possède trois (CHANG et al., 2018).

I.1.1.2.- Caractérisation de la fusariose de tomate

Cette opération s'avère aisée mais la diversité en espèces, formes spéciales et races physiologiques est l'un des problèmes rencontrés. La difficulté d'identification est due essentiellement aux caractères morphologiques étroits des colonies fongiques sur différents milieux de culture (LESLIE et SUMMERELL, 2006). Sur le support nutritif PDA, où *Fusarium* spp. s'épanouissent en diverses couleurs, beaucoup d'espèces qui se ressemblent superficiellement peuvent être de nature différente (MCGOVERN, 2015). De même, des pathotypes qui semblent être de morphologie diversifiée, ils peuvent être originaires de la même espèce (LESLIE et SUMMERELL, 2006). Non seulement la morphologie des colonies mais aussi l'aspect microscopique qui rend l'identification des espèces plus au moins complexe à cause de la ressemblance très proche des macroconidies.

En fait, l'identification préliminaire des formes spéciales de *F. oxysporum* se fait à travers les postulats de Koch (SMITH, 2007). Ces principes reposent essentiellement sur l'inoculation de l'agent phytopathogène dans la plante hôte (HIRANO et ARIE, 2006 ; KAVANAGH, 2018). Néanmoins, les tests de pathogénicité pour le déterminer sont soumis à des conditions environnementales et prennent du temps à se réaliser (CHANG et al., 2018 ; SRINIVAS et al., 2019). De ce fait, l'approche moléculaire devient indispensable pour l'identification exacte et fiable de l'espèce. Elle se fait, sur ce genre, par l'analyse des régions transcrites d'espacement (ITS1 et ITS 4) des gènes codant de l'ARN et de séquence de gènes

codage pour le facteur d'élongation de traduction 1-alpha (tef1) (NIRMALADEVI *et al.*, 2016 ; SINGHA *et al.*, 2016 ; CHANG *et al.*, 2018).

I.1.1.3.- Moyens de lutte contre la fusariose de la tomate

Une fois installé dans le sol, ce champignon tellurique ne peut être éradiqué avec l'emploi simple des fongicides de synthèse. Ainsi, la lutte curative n'a pas une efficacité si la maladie a déjà hébergé les tissus de la plante (semences où tissus vasculaires).

En réalité, l'utilisation des variétés assez résistantes et l'amélioration génétique des organismes semblent être les moyens les plus efficaces pour éviter le déploiement de l'agent phytopathogène (TAKKEN et REP, 2010 ; MCGOVERN, 2015). En Algérie, il existe peu de variétés fixes de tomate à l'image de Rio grande, Elgon, Castlong, Heintz 1350, Pico De Aneto, Sabra et Giaron (ITCMI, 2018). D'une part, le profil génétique réel de ces variétés demeure méconnu pour caractériser celles qui sont résistantes à la fusariose ou encore améliorer et créer des génotypes recherchés. D'autre part, l'indisponibilité de ces variétés aux agriculteurs locaux incite le recours continu à plusieurs hybrides non résistants de caractère phénotypique récessif et instable sur les générations consécutives.

D'autres approches de lutte s'avèrent prometteuses. Les sols dits suppressifs sont considérés comme des moyens de lutte préventive très efficace contre la fusariose car ils hébergent parfois des souches saprophytes fongiques ou bactériennes qualifiées (DE CORATO, 2020). Néanmoins, cette méthode nécessite une vérification méta-génomique sérieuse du sol afin d'éviter l'existence d'autres organismes indésirables.

I.1.1.4.- Concept de lutte biologique

L'idéologie mondiale actuelle s'évolue vers la limite des produits chimiques et l'introduction d'autres homologues naturels facilement adaptables. Ceci fait certainement appel à la lutte biologique qui se base, selon l'OILB, sur l'emploi d'organismes vivants ou de leurs produits pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les ravageurs aux productions végétales. Dans le cadre de lutte intégrée, ce moyen biologique doit être parallèlement et stablement introduits avec ceux de l'agriculture conventionnelle afin d'éviter l'incompatibilité avec les intrants synthétiques.

Par ailleurs, il ne faut pas négliger le potentiel des agents biologiques car ils renferment également leurs modes d'action et principes actifs. D'ailleurs c'est bien pour cela

qu'ils sont utilisés. En réalité, certains agents naturels sont considérés offensifs car ils présentent des risques à vérifier (DELFOSSÉ, 2005 ; DONG et CONG, 2014). Donc, le caractère naturel des agents biologiques n'est pas une garantie d'innocuité s'il n'était pas vérifié et utilisé conformément à certaines restrictions bien étudiées et contrôlées, parlant essentiellement de dose et de fréquence.

En Algérie, la lutte biologique contre les maladies fongiques en utilisant des agents biologiques est pleinement recommandée à travers beaucoup de travaux de recherche, menés dans différentes régions du pays, conscients de problématique avancée. Néanmoins, plusieurs résultats issus de ces études ne sont pas encore concrétisés sur le terrain vu le coût très cher des investissements qui constitue la seule imperfection pour commercialiser un bioproduit qui soit à la portée des agriculteurs locaux avec des coûts amoindris.

I.1.2.- Cas de *Trichoderma* spp.

L'un des agents de lutte biologique les plus reconnus et mondialement utilisés en lutte biologique est bien le champignon *Trichoderma*. Un nombre exponentiel de recherches ont maintes fois démontré que ce micro-organisme présente des performances considérables en inhibant le développement de différents agents phytopathogènes (MOÏSE et *al.*, 2018 ; KUZMANOVSKA et *al.*, 2018 ; DRUZHININA et *al.*, 2011). Ce succès mondial réalisé est déjà traduit dans la création de plusieurs bio-fongicides à base de cet outil biologique. 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 Algérie, le nombre de recherches qui s'intéressent au potentiel antifongique de quelques souches autochtones appartenant à cet ascomycète augmentent significativement mais elles sont le plus souvent effectuées dans les conditions contrôlées (KERROUM et *al.*, 2015 ; BENLAMOUDI, 2016 ; SIDAOUÏ et *al.*, 2018 ; AYAD et *al.*, 2018 ; LAKHDARI et *al.*, 2018). Cependant, le nombre des travaux effectués *In Vivo* demeure si timide. On cite à

titre d'exemple le travail de DEBBI et *al.* (2018) qui ont confirmé la capacité de différents isolats de *Trichoderma* à lutter contre la fusariose inoculée sur tomate car les semences de la plante ont été préalablement enrobées par ledit agent biologique.

I.1.2.1.- Caractérisation de *Trichoderma* spp.

La reconnaissance de ce genre fongique se réalise, sur malt gélose ou PDA, à l'aide des descriptions disponibles dans les clés taxonomiques et la littérature (WATANABE, 2010 ; HOYOS-CARVAJAL et BISSETT, 2011 ; SCIORTINO, 2017). *Trichoderma* se caractérise par une croissance rapide avec un mycélium d'abord blanc qui vire rapidement vers le vert. Quelques espèces forment des cercles concentriques réguliers correspondant à la conidiogénèse. Alors que l'identification préliminaire de *Trichoderma* se base essentiellement sur la morphologie des conidiophores et les conidies (SAMUELS, 2006 ; JAKLITSCH, 2009). Certaines espèces produisent même des chlamydospores abondantes (SAMUELS et *al.*, 2006 ; SIDIQUEE, 2018). Néanmoins, les caractères morphologiques et microscopiques n'aboutissent jamais à l'identification exacte de l'espèce car *Trichoderma* spp. présentent si peu de différences inter-espèce (LIECKFELDT et *al.*, 2000). De ce fait, l'identification se fait principalement en faisant essentiellement recours à la biologie moléculaire dont les régions (ITS1 et ITS2) de l'ADN et 1-alpha (*tef1*) sont suffisantes pour une identification exacte (DRUZHININA et KUBICEK, 2015 ; SARAVANAKUMAR et WANG, 2020).

I.1.2.2.- Habitat de *Trichoderma* spp.

Les anamorphes en question ont une forte adaptabilité sur les différents biotopes terrestres ou aquatiques, y compris l'antarctique (ROCHA et *al.*, 2012 ; REN et *al.*, 2009 ; GUPTA et *al.*, 2014). Ils peuvent coloniser aussi parfaitement des différents substrats naturels et vivre sur les débris de végétaux en décomposition (ligneuse et/ ou cellulosique), tout particulièrement la litière des forêts et la fumure organique (SAMUELS, 2006 ; KUBICEK et *al.*, 2008 ; BLASZCZYK et *al.*, 2011). D'ailleurs, il existe des espèces qui sont largement limitées aux régions tempérées froides, d'autres sont caractéristiques aux climats chauds et certaines sont ubiquistes largement répandus (SAMUELS, 2006 ; GUPTA et *al.*, 2014).

En nord d'Afrique, SADFI-ZOUAOUI et *al.* (2009) ont isolé 53 espèces de *Trichoderma* à partir de quatre différents types du sol issus de différentes zones bioclimatiques et édaphiques (forêts, champs cultivés et oasis). En Algérie, BOUREGHDA

et *al.* (2009) ont rapporté trois espèces (*T. longibrachiatum*, *T. harzianum* et *T. atroviride*) isolées à partir de la rhizosphère du pois chiche. Outre, DEBBI et *al.* (2018) a identifié trois espèces saprophytes (*T. asperellum*, *T. harzianum* et *T. ghanense*) à partir de quatre zones algériennes côtières (Tipaza, Boumerdes, Jijel et Skikda).

I.1.2.3.- Relation *Trichoderma*/ plante

Trichoderma spp. sont toujours avirulents et symbiotes de plantes mais jamais parasites (SAMUELS, 2006 ; GUPTA et *al.*, 2014). La relation peut être saprophyte ou endophyte car l'agent biologique peut cohabiter les tissus végétaux vivants (HOYOS-CARVAJAL et BISSETT, 2011). En réalité, il s'interagit autrement en modifiant systématiquement l'expression de nombreux gènes de plantes pour activer leur système immunitaire et les protéger de l'attaque parasitaire (HOYOS-CARVAJAL et BISSETT, 2011 ; HERMOSA et *al.*, 2012; MUKHERJEE et *al.*, 2013). Certaines espèces améliorent même la survie et la tolérance des plantes qui se retrouvent sous stress environnemental tel que la salinité, la température critique et le déficient de l'eau (HARMAN, 2000 ; BAE et *al.*, 2009 ; GAL-HEMED et *al.*, 2011). Cela s'explique par l'aptitude polyvalente à produire les phytohormones et les métabolites ainsi que solubiliser les éléments nutritifs disponibles sur terrain (GUPTA et *al.*, 2014 ; SARAVANAKUMAR et WANG, 2020).

I.1.2.4.- Modes d'action de *Trichoderma* spp.

Les mécanismes exercées par *Trichoderma* (mycoparasitisme, antibiose et compétition) sont mis en évidence pour la première fois dans les conditions contrôlées par DENNIS et WEBSTER (1971, a, b, c). En effet, l'étude de la capacité inhibitrice au laboratoire est une approche essentielle pour présélectionner les espèces à fort pouvoir antagoniste qui seront aptes par la suite à éliminer efficacement une maladie fongique sur terrain. DRUZHININA et *al.*, (2011) ont bien détaillé le processus d'antagonisme de ce parasite. En réalité, le mycoparasitisme présente une phase initiale de reconnaissance de l'hôte cible grâce à ses enzymes, une phase intermédiaire pour surmonter la réponse simultanée de l'agent phytopathogène (par la synthèse de nouveaux métabolites) et une phase finale de parasitisme où *Trichoderma* s'enroule autour du mycélium adverse pour dissoudre de l'intérieur ses cellules en introduisant des mycotoxines et d'enzymes de fort pouvoir.

I.1.2.5.- Optimisation de l'utilisation de *Trichoderma*

Il est important de noter que des nombreux agents qui sont efficaces dans les conditions expérimentales contrôlées s'avèrent inefficaces sur le terrain (HOWELL, 2002 ; MUKHERJEE et *al.*, 2013). Dans l'environnement complexe qui entoure la rhizosphère, le succès ou l'échec de l'introduction d'un ou plusieurs antagonistes est fortement influencé par les facteurs biotiques (virulence du champignon cible, potentiel de l'antagoniste etc...) et abiotiques (pH, température, humidité du sol, salinité, etc...) d'où vient la difficulté à simuler les mêmes interactions biologiques réussites dans un milieu contrôlé (HOWELL, 2002). En d'autres termes, les travaux doivent s'orienter pour développer des moyens biologiques qui doivent surmonter la plupart des conditions critiques de terrain. KAVANAGH (2018) suggère qu'il est absolument précieux d'exploiter *Trichoderma* à l'environnement d'où il est déjà isolé ou à un habitat similaire. De ce fait, l'espèce efficace qui a réussi à surmonter les conditions extrêmes de terrain répondra parfaitement aux objectifs attendus.

I.1.2.6.- Faciès clinique de *Trichoderma*

Généralement, les espèces de *Trichoderma* sont connues pour leur caractère hors danger. Cependant, certaines sont rapportées comme des producteurs de mycotoxines d'infections chez les patients immunodéprimés (GUPTA et *al.*, 2014 ; MUKHERJEE et *al.*, 2014). De la sorte, TANG et *al.* (2003) ont rapporté que *T. longibrachiatum* est l'espèce la plus pathogène aux êtres humains.

Néanmoins, KORNIENKO et *al.* (2015) ainsi que GOMEZ-RODRIGUEZ et *al.* (2018) ont trouvé que le Wortmannin et le Trichostatine, métabolites secondaires issus de *T. virens* et *T. atroviride*, sont des médicaments antimicrobiens et des anticancéreux de fort potentiel. Cette situation paradoxale recommande une véritable fouille scientifique en mettant l'accent sur le vrai profil clinique au sein de chaque espèce.

Matériel et méthodes

II.- Matériel et méthodes

Ce travail porte sur l'identification des espèces cryptogamiques isolées de la tomate, l'évaluation de la pathogénicité d'un isolat de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* ainsi que l'investigation sur le potentiel (dans les conditions de laboratoire et *In Situ*) d'une souche de *Trichoderma asperellum* à surmonter l'effet de la fusariose et quelques facteurs limitants. L'étude s'ensuit par une caractérisation métabolique de l'espèce antagoniste.

II.1.- Flore fongique isolée de la tomate

Ce travail porte principalement sur l'identification de quelques agents phytopathogènes, endophytes et saprophytes répertoriés sur différentes variétés (ronde, cerise, grappe, cœur de bœuf et allongée).

II.1.1.- Stations d'étude

Il est à noter que très peu d'agriculteurs et d'instituts locaux ont cultivé la tomate pendant les différentes campagnes agricoles de la période allant de 2016 jusqu'à 2020 ce qui a vraiment limité cette étude. Ceci est dû essentiellement à l'orientation des agriculteurs locaux à d'autres spéculations vivrières. La culture de tomate a été conduite sous serre et en plein champs dans quelques stations d'Oued Righ à savoir :

- **Oum T'your** : L'exploitation se situe à 125 km du Nord-Ouest de Touggourt vers le bas d'Oued Righ. Elle est dotée d'une superficie de 18 ha dont un est consacré pour la tomate qui est cultivée en plein champs. L'échantillonnage a été fait en 2016 (saison) ;
- **Nezla** : la station est localisée au Sud de Touggourt (haut de d'Oued Righ). Elle a une surface de 2 ha où une petite parcelle, estimée de 27 m², est cultivée de tomate en plein champs. La composante biotique est prélevée en Février 2016 ;
- **Zaouia Abidia** : cette localité se situe au Nord du Touggourt. L'exploitation est d'une surface de 2 ha dont une parcelle estimée de 54 m², en maximum, a été cultivée de tomate en plein champs. Le matériel végétal a été sélectionné en Février 2016 ;
- **Timacine** : le site est localisé sur le périmètre 7 appelé « les grands » vers le haut d'Oued Righ. L'exploitation ayant une surface de 2 ha dont deux parcelles estimées de 6 m² sont réservées à ladite culture. Le prélèvement des sujets a été procédé en Février 2016 ;

- **Megarine** : l'échantillonnage a été fait dans une ferme de 4 ha située en aval d'Oued Righ. L'exploitation possède d'au moins un demi-hectare ayant peu de parcelles estimée de 54 m² en maximum. Le matériel végétal a été choisi en Février 2016 ;
- **Sidi Mehdi** : l'échantillonnage au sein de cette station a été effectué sur deux sites juxtaposés ayant les mêmes conditions agro-climatiques à savoir : CFVA et INRAA (station expérimentale de Touggourt). Ceux-ci se situent au secteur Sud-Est à une distance de 7 km du chef-lieu de la wilaya de Touggourt. Au CFVA, l'opération a été réalisée sous serre (400 m²) pendant deux campagnes agricoles : 2017/ 2018 et 2020. Quant à l'INRAA, elle a été faite sous serre (250 m²) pendant trois différentes périodes : 2017/ 2018, 2018/ 2019 et 2019/ 2020 ;
- **Barkadjia** : la culture est conduite sous serre (400 m²) situant à une distance de 112 km du Nord-Ouest de Touggourt. L'échantillonnage a eu lieu à Février 2016 ;
- **Ghamra** : la culture est menée sous serre multi-chapelle, de 2,5 ha, à l'ONID qui se situe au secteur Nord-Ouest de Touggourt. L'échantillonnage a été fait en Janvier 2020.

II.1.2.- Echantillonnage des sujets infectés

Afin d'obtenir un meilleur diagnostic, il est important d'échantillonner au moment où la composante biotique cible serait la plus visible, généralement dans les périodes où la température est relativement importante. Les tissus vivants de tomate (racines, tiges, feuilles et fruits), surtout qui présentent des symptômes d'attaques (déformations morphologiques ou chlorotiques, pourriture, nécrose ... etc.), sont considérés comme un excellent choix. Ils sont ramenés au laboratoire dans des papiers journaux pour éviter leur dessiccation. Toutes les informations nécessaires sont mentionnées pour chaque échantillon à savoir : les plans de collecte, organe infecté ... etc (Annexe 1).

Les plans d'échantillonnage adoptés dans la présente étude ont été basés sur les méthodes décrites dans les travaux de FROGER *et al.* (2016) et ARNAB (2017). Ils ont pour objectif de caractériser judicieusement un stress biotique représentatif selon les conditions de terrain imposées. Il s'agit de type :

- **Subjectif** (sans caractère aléatoire) : un prélèvement réfléchi est appliqué juste sur les organes infectés. Ceux-ci appartiennent aux plantes qui sont caractérisées par des attaques fongiques assez limitées. De ce fait, les organes présumés idéaux sont déjà prédéterminés ;

- **Aléatoire simple** : l'effet du hasard a été respecté au moment de l'échantillonnage. Ceci a été procédé indépendamment sur les organes, parfois la plante entière. Il a été adopté lorsqu'une certaine uniformité de terrain se dispose, à l'image de même variété cultivée présentant les mêmes symptômes ;
- **Aléatoire stratifié simple** : le terrain a été d'abord découpé en intra-strates qui sont hétérogènes, en matière de la variété cultivé. En cas de ressemblance inter-strate, l'échantillonnage a fait ensuite l'objet de quelques-unes seulement d'une façon aléatoire simple ;
- **A plusieurs degrés** : ceci est appliqué sur le terrain largement étendu et multi-structuré en terme de variétés. Chacune de celles-ci se répartie spatialement sur différents niveaux. Un seul niveau a été sélectionné d'une façon aléatoire dont chacun est ensuite découpé en strates homogènes. Un nombre limité de ces découpes a été sélectionné où les prélèvements des plantes sont aléatoirement réalisés (Photo 1) ;
- **Composite** : à chaque fois il est appliqué, tout le matériel végétal est collecté en un même échantillon. Il a été procédé au cas où se trouve une indisponibilité d'informations sur la population cible à savoir : variétés inconnues associées sur la même parcelle.



Photo 1. Un site d'échantillonnage composé de différentes variétés de tomate cultivées à l'ONID. **a et b** : Deux degrés espacés qui sont de la même variété (un seul a été choisi pour l'échantillonnage) ; **c** : Strate d'une variété de tomate cerise ; **d** : Strate d'une variété de tomate ronde

II.1.3.- Isolement des agents fongiques

Différentes opérations ont été suivies dans cette partie selon les méthodes adoptées dans les travaux de WATANABE (2010). Il s'agit de la désinfection, séchage, ensemencement et incubation des fragments végétaux, portants des symptômes malades, ainsi que la purification et l'identification des isolats fongiques obtenus.

II.1.3.1.- Désinfection et séchage

Les sujets échantillonnés ont été d'abord rincés à l'eau courante puis découpés en petits fragments d'en moins de 5 mm de diamètre. Ces derniers ont été ensuite désinfectés à l'hypochlorite de sodium (eau de Javel à 2%) pendant trois minutes afin d'éliminer la flore saprophyte et augmenter le privilège d'isoler en maximum les micro-organismes présumés. Les fragments ont été ensuite rincés deux fois à l'eau distillée puis bien séchés sur un papier absorbant stérilisé, près du bec Bunsen, pour réduire le risque d'une contamination de levures (Photo 2).



Photo 2. Séchage des fragments infectés

II.1.3.2.- Ensemencement des fragments végétaux

Les tissus obtenus de pieds de tomate ont été aseptiquement placés en boîtes de Pétri coulées de PDA, à raison de quatre à cinq fragments/ boîte. Le milieu de culture PDA (Annexe 2) sert à l'ensemencement et la purification des souches fongiques. Les boîtes ont été ensuite hermétiquement scellées à l'aide d'un parafilm.

II.1.3.3.- Incubation des boîtes de culture

La croissance et la sporulation des agents fongiques ont été présumées optimales, après six à sept jours, sur une température de 25° C et sous un régime héméroperiodique (12 heures d'obscurité suivies d'une 12 heures de de lumière).

II.1.3.4. - Purification des colonies

Quelques pratiques expérimentales ont été procédées afin d'obtenir des isolats purs facilement identifiables. Il s'agit de repiquages successifs et des cultures monospores.

➤ Repiquage

Des explants de colonies pures sélectionnés dans la zone périphérique des colonies, parfois seulement les mycéliums, ont été aseptiquement et successivement prélevés. Ils ont été ensuite redéposés soigneusement, à l'aide d'un scalpel ou d'une pipette Pasteur, sur d'autres boîtes de Pétri contenant le PDA.

➤ Culture monospore

La colonie fongique a été raclée sur 10 ml de l'eau distillée stérilisée. La suspension conidienne mère obtenue a été successivement diluée en préparant deux à dix gammes de solutions (selon la densité des spores). Une gouttelette (un μ l) prélevée de la dernière dilution, à l'aide d'une micropipette, a été étalée sur une lame de Malassez pour repérer seulement une à deux spores. Celles-ci ont été ensuite captées à l'aide d'un papier absorbant stérilisé, sous un microscope optique, puisensemencées sur PDA. L'ensemble a été mis en culture pendant 7 jours à 25 °C.

II.1.4.- Identification des isolats obtenus

Avant d'acquérir une identification définitive des agents fongiques, on a fait appel à la technique de culture de lame afin d'obtenir une disposition de différentes structures microscopiques du champignon.

II.1.4.1.- Culture de lame

Cette technique est suivie, sous les conditions aseptiques, selon les travaux de CAMPBELL et *al.* 2013 ainsi que SIDDIQUEE (2017). Un peu de mycélium fongique a été inoculé aux quatre extrémités d'un petit mince cube propre de PDA. La lame a été ensuite recouverte d'une lamelle puis maintenue sur un petit support (trois lames croisées ou une pipette Pasteur incurvée en trois) pour éviter le contact direct de l'ensemble avec la base (Photo 3). Cette dernière a été munie d'un papier absorbant légèrement imbibé par l'eau distillée. L'ensemble a été mis à l'incubation à 26 °C pendant 48 heures. Une fois qu'une sporulation adéquate s'est produite, la lamelle en dessous a été retirée et placée sur une autre

lame, dotée d'une gouttelette de l'eau distillée stérilisée et parfois de bleu de méthyle, puis redéposé sous le microscopique.



Photo 3. Culture de lame menée sur une espèce fongique

II.1.4.2.- Observation macro et microscopique

Les microorganismes ont été décrits sur la base de l'aspect colonial produit en culture pure de PDA. Des critères morphologiques ont été pris en compte dans l'identification à savoir : couleur de colonie (pigmentation du mycélium où teinte sur la surface ou le revers de la boîte) et texture des mycéliums (surface cotonneuse, poudreuse, duveteuse, veloutée ...etc.). De plus, les structures microscopiques, qui caractérisent précisément le genre et parfois l'espèce, ont été notées à savoir : conidies (segments, forme, taille et couleur) ; absence ou présence des cloisons des hyphes ; organes fructifères porteurs de spores (pycnides et conidiophores) et formes de conservation (chlamydospores ou sclérotés).

II.1.4.3.- Clés dichotomiques

La nomenclature des espèces a été validée selon la forme asexuée. Les caractères cultureux de chaque champignon ont été validés selon des clés de détermination disponibles à savoir ceux de WATANABE (2010) ; BLANCARD (2012) ; CAMPBELL *et al.* (2013) ainsi de SCIORTINO (2017).

II.2.- Tests de pathogénicité de la fusariose de tomate

Des tests de pathogénicité ont été réalisés, à travers l'application des postulats de Koch, dans le but de caractériser précisément l'espèce d'un isolat de *Fusarium* ainsi que vérifier sa virulence envers les plantules et les fruits de tomate.

Les symptômes ont été reproduits sur une variété de tomate (hybride Tafna) cultivée sous serre à l'INRAA (station de Touggourt). Le choix de cet hybride vient sur la base qu'il est déjà réussi sous serre au CFVA, situé dans la même région. Le cultivar se caractérise par sa

sensibilité aux espèces de *Fusarium* ce qui permet de générer rapidement et facilement des symptômes typiques lors des essais menés sur le matériel végétal.

II.2.1.- Préparation des supports végétaux

Afin d'assurer une réalisation bien structurée de cet essai, certaines mesures permettant une bonne conduite ont été prélevées.

II.2.1.1.- Préparation des plantules

Les semences de tomate (Tafna) ont été désinfectées, afin d'éliminer les résidus de traitements pesticides, en les trempant dans une solution d'hypochlorite de sodium (2%) puis dans l'éthanol pendant trois minutes pour chaque opération (LESLIE et SUMMERELL, 2006). Les sujets ont été ensuite rincés à l'eau distillée stérilisée et semés sur un plateau alvéolé contenant de la tourbe noire (Photo 4). Le plateau a été recouvert pendant quatre jours, à l'aide d'un film plastique, pour favoriser la germination des semences.



Photo 4. Préparation des plantules de tomate (Hybride Tafna). **a** et **b** : Semi de la variété de Tafna ; **c** : Début de la levée ; **d** : Plantules en stade de quatre feuilles bien étalées

II.2.1.2.- Préparation des fruits

Des fruits mûrs et indemnes ont été également obtenus de même variété mené sous serre (compagne 2017/ 2018) à l'INRAA. Ils ont été sélectionnés pour leur uniformité de taille et de stade de maturité.

II.2.2.- Préparation du substrat

La transplantation des plantules a été réalisée sur un substrat de mélange fertile (2/3 de sable et 1/3 de fumier organique). Le choix de sable a été fait grâce à son caractère indemne de microorganismes car il ne retient pas l'humidité ni les éléments nutritifs. Alors que

la fumure a été désinfectée par la méthode Bergerac (ITCMI, 2015). Cette technique (Photo 5) consiste à :

- Placer le fumier sur une tôle de métal au-dessus d'un feu bien alimenté ;
- Bien humidifier en ajoutant à chaque fois des volumes d'eau puis remuer pendant 20 minutes, à l'aide d'une pelle ce qui est en mesure d'écartier toutes les sources phytopathogènes ;
- Poser et recouvrir le terreau obtenu en utilisant un film plastique.



Photo 5. Désinfection du fumier organique. **a** : Arrosage ; **b** et **c** : Remuement du fumier

Ensuite, le mélange a été enfin amendé par un apport de NPK (15.15.15) avant l'empotage (Photo 6) afin d'assurer une croissance adéquate des plantes.



Photo 6. Empotage du substrat désinfecté

II.2.3.- Préparation de l'inoculum

Cette étape consiste à isoler l'agent phytopathogène à partir des plantes malades et le multiplier en cultures pures afin de préparer une suspension sporale capable à reproduire les symptômes de la maladie fongique définis au départ.

II.2.3.1.- Matériel fongique

Un pathotype de *Fusarium* a été isolé à partir des feuilles fraîches de tomate (hybride Chifa) portant des symptômes maladiques (flétrissement des feuilles ainsi que dessèchement des parties nécrosées). Ceux-ci ont été manifestés, sur une culture conduite en plein champ dans la région d'Oum T'your, suite d'une averse ayant lieu en Septembre (2018).

II.2.3.2.- Préparation de la suspension de spores

Afin d'obtenir un inoculum abondant de *Fusarium* sp., trois cultures pures (âgées de deux semaines) appartiennent à l'isolat fongique ont été raclées avec une lamelle et des gouttelettes d'eau distillée stérilisée. La suspension sporale (Photo 7), contenue dans un Erlenmeyer portant 100 ml de PDB, a été recouverte par un coton puis un papier d'aluminium. Pour favoriser encore la sporulation, la nouvelle culture a été placée sous agitation magnétique (100 tours/ minute) dans un incubateur à 25 °C (BOUZOUMITA et al., 2016). Après cinq jours, la culture a été filtrée à travers quatre couches de gaze stérile (MOURIA et al., 2013) et transférée dans un flacon. Une série de dilution a été enfin faite pour ajuster une concentration de 1.5×10^5 spores / ml à l'aide d'une cellule de Malassez placée sous un microscope optique.

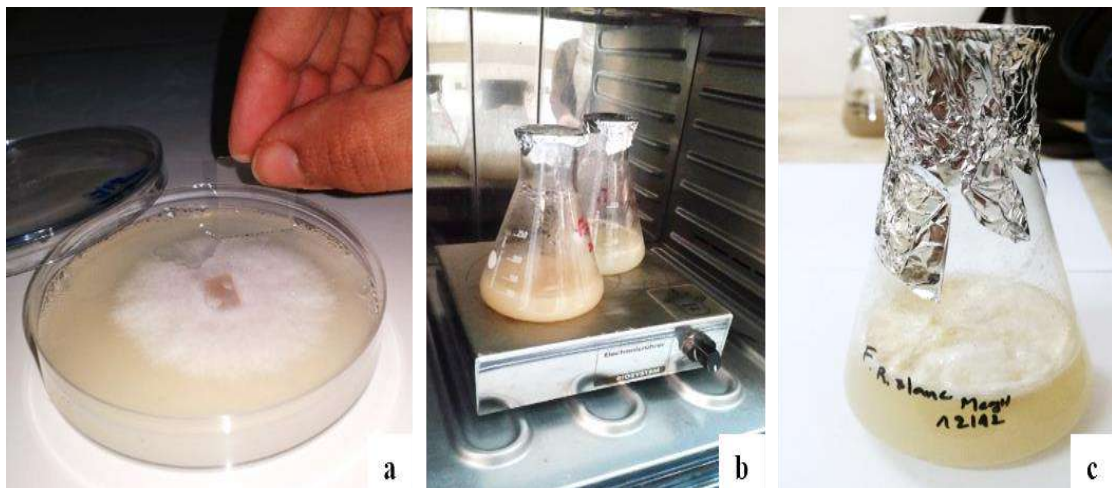


Photo 7. Préparation d'une suspension de spores de *Fusarium* sp. **a** : Raclage d'une colonie ; **b** : Agitation dans une étuve ; **c** : Suspension de spores phytopathogènes

II.2.4.- Postulats de Koch

Deux méthodes d'inoculation ont été procédées afin de vérifier la pathogénicité de l'agent phytopathogène et confirmer ses dégâts.

II.2.4.1.- Inoculation de la fusariose sur les plants

L'opération a été faite selon une méthode développée de différents travaux (MOURIA *et al.*, 2013 ; ÇAKIR *et al.*, 2014 ; MANZO *et al.*, 2016 ; LOPEZ-BENITEZ *et al.*, 2018). L'inoculation de la fusariose a été assurée par une submersion de racines de cinq plants (en stade de quatre feuilles bien étalées), y compris la tourbe qui les entoure, dans la suspension de spores (250 ml) pendant 30 minutes. Quant aux racines des plantes témoins ont été inoculées dans de l'eau distillée. L'ensemble du matériel végétal a été à nouveau mis en pot (à raison d'une plantule/ pot) et placé sous serre pendant 30 jours (Photo 8). Les mesures de prophylaxie (piège phéromone Delta et assiette jaune) ont été maintenues afin de prévenir de toute attaque de ravageurs.



Photo 8. Inoculation de la fusariose sur les plantes de tomate. **a** : Trempage des racines ; **b** et **c** : Transplantation ; **d** et **e** : Emplacement sous serre

II.2.4.2.- Inoculation de la fusariose sur les fruits

Cette étape a été assurée selon une méthode développée à partir de travaux de TAVGA *et al.* (2018) ainsi que ŽIVKOVIC (2010). L'inoculation a été faite à raison de cinq répétitions, sur des fruits détachés après une désinfection préalable des sujets. La surface de ceux-ci a été désinfectée avec une solution d'hypochlorite de Sodium (2%). Ensuite, les supports ont été blessés superficiellement à l'aide d'une lamelle stérilisée puis inoculés avec 20 μ l de la suspension de spores en utilisant une micropipette. Les fruits témoins ont été traités de la même méthode mais avec 20 μ l d'eau distillée stérilisée.

L'ensemble a été placé sur des grilles métalliques dans des boîtes en plastique fermées (chaque traitement à part) contenant de l'eau chaude au fond afin de favoriser une certaine humidité. Les boîtes ont été finalement incubées à une température ambiante (Photo 9).



Photo 9. Inoculation de la fusariose dans les fruits de tomate. **a** : Blesseure sur la surface de fruit ; **b** et **c** : Inoculation de l'inoculum phytopathogène ; **d** : Emplacement des sujets sur les grilles métalliques

II.2.5.- Estimation des symptômes

L'évaluation des symptômes induits par *Fusarium* sp. sur les plants de tomates inoculés a été réalisée après 15, 21 et 30 jours. La notation de la maladie vasculaire a été faite selon une échelle de sévérité proposée par RODRIGUES et MENEZES (2006) :

0 : Aucune infection ; **1** : Infection légère (une ou deux feuilles ont été devenues jaunes) ; **2** : Infection modérée (deux ou trois feuilles ont été devenues jaunes, 50% des feuilles ont été flétries) ; **3** : Infection étendue (toutes les feuilles de la plante ont été devenues jaunes, 75% des feuilles ont été flétries et la croissance de la plante entière a été inhibée) ; **4** : Infection complète (les feuilles de la plante entière ont été devenues jaunes, 100% des feuilles ont été flétries avec une mortalité de la plante).

Sur la base de cet indice visuel, la sévérité de la maladie (%) a été enfin estimée par la formule de SONG et *al.* (2004) :

$$Infection (\%) = \frac{\Sigma \text{ de toutes les évaluations}}{\text{Note maximale} \times \text{Nombre total d'observations}} \times 100$$

Par ailleurs, la gravité de la maladie sur les fruits a été évaluée sur une échelle réadaptée de ROSERO-HERNANDEZ et *al.* (2019) :

0 : aucun symptôme visible sur fruits ; **1** : (légère infection) 1 à 25% de la zone inoculée est couverte d'une légère lésion nécrotique ou imbibée d'eau ; **2** : (infection modérée) 26 à 50% de la zone inoculée est couverte de mycélium nécrotique ou de lésion aqueuse ; **3** : (infection grave) 51 à 75% des fruits sont nécrotiques ; **4** : (très grave) > 76% des tissus sont nécrotiques mous, aqueux et pourris.

II.2.6.- Récupération de l'agent phytopathogène

Les plantes (inoculées et témoins) ont été examinées à nouveau pour récupérer les colonies du champignon. Seuls les tissus infectés des plants inoculés, avec notation maximale de maladie, ont été désinfectés et transférés sur PDA afin de confirmer le champignon de départ.

II.3.- Screening du potentiel antagoniste de *T. asperellum* à l'égard de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Une approche, dans les conditions contrôlées, vient pour confirmer la capacité inhibitrice de *T. asperellum* d'entraver la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* dans les confrontations directes et indirectes.

II.3.1.- Isolement et identification de l'isolat de *T. asperellum*

L'espèce antagoniste, utilisée dans les tests qui poursuivent, est une endophyte de feuilles de tomate saine (Hybride Berberana). Celle-ci a été conduite dans des plateaux alvéolés à une ferme située à Biskra. La souche fongique a été isolée en PDA, soumise à des repiquages successifs hebdomadaires à 26 °C. Une culture monospore est nécessairement attribuée à cette souche afin d'obtenir un isolat génétiquement pur. Ceci est enfin identifié, à travers les deux régions d'IT1 et ITS2, en tant que *T. asperellum*, par le laboratoire d'Apical Scientific Sdn. Bhd. (Selangor, Malaisie) (Annexe 3).

II.3.2.- Effet antagoniste de *T. asperellum* à l'égard de la fusariose sous les conditions contrôlées

Trois tests menés sous les conditions contrôlées enquêtant les différents mécanismes d'antagonisme ont été appliqués à savoir : compétition, antibiose et mycoparasitisme.

II.3.2.1.- Compétition (confrontation directe)

Ce mécanisme a été testé selon la méthode décrite par IULIANA *et al.* (2016). Elle consiste à transférer, dans une boîte de Pétri de 90 mm contenant du PDA, deux explants mycéliens de 5 mm de diamètre pour chacun, l'un portant *T. asperellum* et l'autre portant le champignon phytopathogène. Ces derniers ont été placés simultanément suivant un axe diamétral de 30 mm à équidistance du centre de la boîte (Photo 10).

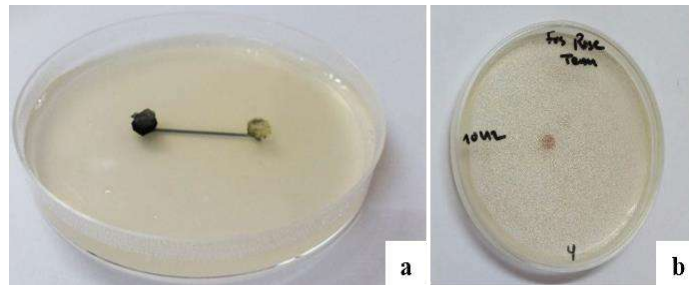


Photo 10. Test de compétition. **a** : Confrontation directe de *T. asperellum* à *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **b** : Témoin

II.3.2.2.- Mycoparasitisme (diffusion de composés non volatiles)

Ce test d'antagonisme a été effectué selon la méthode détaillée dans le travail de KHALILI *et al.* (2012). Une feuille stérilisée de cellophane a été déposée sur une boîte de Pétri, contenant le PDA. Sur laquelle, un explant de *T. asperellum* de 5 mm de diamètre a été mis sur la feuille de cellophane, au centre de la boîte. Celle-ci a été hermétiquement fermée et reposée pendant trois jours afin de permettre à la souche antagoniste d'excréter et diffuser les composés non volatils, à travers la feuille de cellophane, dans le milieu (avant l'installation de l'agent phytopathogène). Au-delà de cette période, la cellophane portant l'explant de *T. asperellum* a été retirée et le disque de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (5 mm) a été immédiatement posé (Photo 11).

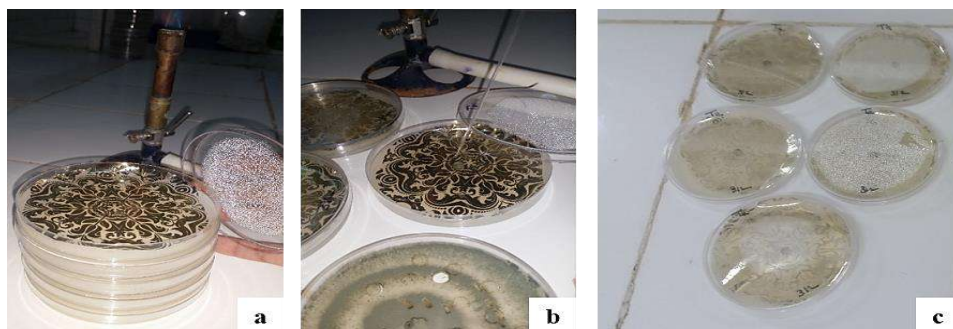


Photo 11. Test de mycoparasitisme. **a** : Dépôt de la cellophane sur le PDA ; **b** et **c** : Dépôt de l'explant de *T. asperellum*

II.3.2.3.- Antibiose (émission de composés volatiles)

Ce test a été réalisé selon la méthode décrite dans l'étude de HIBAR et *al.* (2005). Un disque mycélien (5 mm), issu d'une culture pure de *T. asperellum*, a été déposé au centre d'un fond de la boîte de Pétri contenant le PDA. La même procédure est réalisée pour l'agent phytopathogène dans un autre fond. Les deux sont ensuite attachés l'un à l'autre à l'aide d'un parafilm.

Outre, un témoin pour les trois tests a été effectué par l'emplacement d'un disque phytopathogène (5 mm) au centre de la boîte de Pétri contenant préalablement du milieu PDA (Photo 12). Cinq répétitions ont été retenues par test, autant pour le témoin, dont l'incubation a été faite à 26 ° C. Le test s'achève lorsque les mycéliums couvrent l'ensemble des lots témoins.

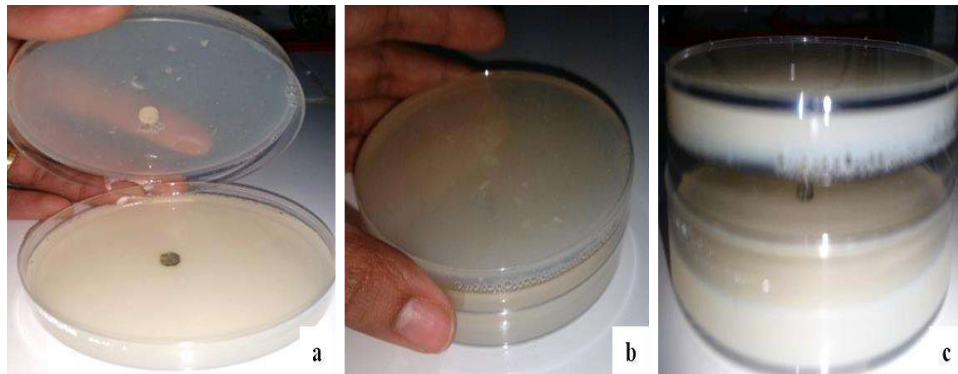


Photo 12. Test d'antibiose. **a** : confrontation indirecte de *T. asperellum* vis-à-vis *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ; **b** et **c** : enfermement de la boîte de Pétri

II.3.3.- Taux d'inhibition du champignon phytopathogène

L'activité inhibitrice de *T. asperellum* a été révélée en mesurant la croissance mycélienne, radiale et quotidienne de l'agent phytopathogène de la tomate (y compris le diamètre du disque) en présence et en absence de l'antagoniste. Elle a été calculée par la formule rapportée dans le travail d'IULIANA et *al.* (2016) :

$$I (\%) = \frac{(C_n - C_0)}{C_0} \times 100$$

Où :

I(%) : pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne ;

C_n (mm) : diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste ;

C₀ (mm) : diamètre moyen des colonies témoins.

II.4.- Enquête sur l'écophysiologie de *T. asperellum*

Afin de lutter contre la fusariose de la tomate dans les conditions *In Vivo*, une investigation, menée *In Vitro*, sur le potentiel éco-physiologique de *T. asperellum* s'est avérée indispensable. Elle a été effectuée pour vérifier la capacité de l'espèce antagoniste à surmonter quelques facteurs abiotiques limitants de la croissance à savoir : salinité, température et statut trophique. L'importance de ce précédé vient en raison de quelques conditions critiques caractéristiques à la région d'étude (faible niveau de matière organique, température élevée, hyper-salinité du sol et de l'eau d'irrigation), biotope similaire à celui dans l'agent de *T. asperellum* sera à nouveau introduit.

II.4.1.- Effet de quelques milieux carbohydratés sur la croissance de *T. asperellum*

Différents types de milieux ont été préparés pour examiner la croissance de *T. asperellum* en cultures solides de différentes natures carboniques. Celles-ci se représentent sous forme de sucres monosaccharides ou disaccharides.

Les préférences trophiques de l'antagoniste ont été vérifiées *In Vitro* selon le travail de RAJPUT et SHAHZAD (2015). Des explants (5mm) de cultures pures, âgées de 07 jours en milieu sélectif, ont été ensemencés au centre des boîtes de Pétri (90 mm) contenant les substrats nutritifs. Il s'agit de milieux produits à base de carotte, avoine, dattes (Robb), betterave ainsi que PDA et un milieu sélectif de *Trichoderma* (Annexe 4). L'évaluation a été faite dans les conditions aseptiques sous une hôte bactériologique à 26 °C. Chaque milieu de culture ayant une valeur du pouvoir hydrogène (pH) spécifique prédéterminé. Ce dernier a été revérifié à la fin du test sur le fait que sa variation renseigne sur la présence d'une certaine activité métabolique du champignon. Cinq répétitions ont été retenues pour chaque traitement et l'incubation a été conduite dans une étuve à 26° C. Le test s'achève lorsque les mycéliums couvrent l'ensemble d'un seul lot (Photo 13).

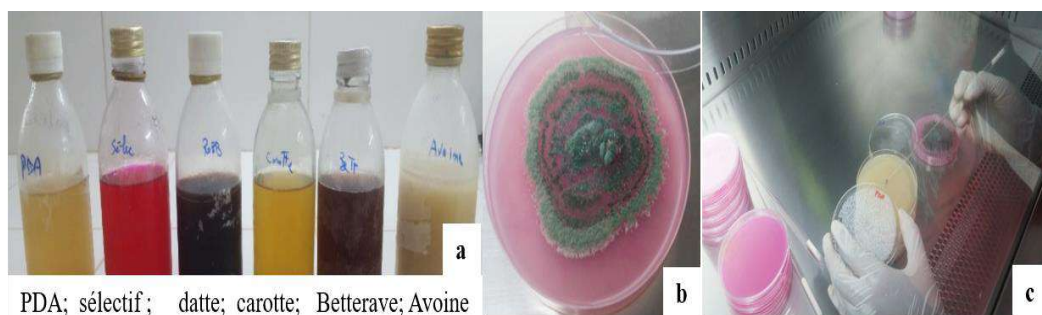


Photo 13. Mise en culture de *T. asperellum* sur différents milieux carbohydratés. **a** : Milieux nutritifs utilisés ; **b** et **c** : Ensemencement de l'antagoniste

II.4.2.- Effet de la température et la salinité sur la croissance de *T. asperellum*

La capacité de l'agent antagoniste à se développer dans les conditions restrictives du terrain a été évaluée *In Vitro* en faisant pousser les cultures de ce champignon à différents niveaux de température et salinité. D'une part, les deux limites extrêmes de la température a été sélectionnée sur la base de la température minimale du sol superficiel (sur 30 cm) qui est de 11,48 °C enregistrée en Janvier (HAFOUDA, 2005) et celle maximale de l'air qui est de 42,4 °C notée en Juillet de l'année 2020 à Touggourt (TUTTIEMPO, 2020).

D'autre part, les valeurs des niveaux salins ont été déterminées selon la salinité du sol (de nature sodique) et de l'eau d'irrigation (complexe terminal) qui sont de 2 et 5 à 6 g/l enregistrées respectivement dans la même région (HAFOUDA, 2005).

Le test de la tolérance a été fait selon les travaux modifiés de SINGH et *al.* (2019). Il consiste à inoculer un disque mycélien (5 mm de diamètre) au centre d'une boîte de Pétri coulée (90 mm) de PDA. Il s'agit de deux facteurs à étudier (salinité et températures) dont cinq traitements salins, induits par NaCl, ont été retenus à savoir : 0 (Témoin), 0,5, 2, 6 et 10 g/l. l'ensemble a été exposé ensuite à un stress thermique de trois degrés de température à savoir : 9, 16, 40 °C pendant trois jours puis laissé développer à 27, 30, 35 °C respectivement. Trois répétitions ont été attribuées à chaque niveau salin. Le test s'achève lorsque les mycéliums couvrent l'ensemble d'un seul lot et les prélèvements du pH sur les différents milieux ont été faits quotidiennement.

II.4.3.- Estimation de quelques paramètres de croissance de *T. asperellum*

Deux paramètres de vitalité physiologique du champignon ont été vérifiés dans cette étude. Il s'agit de la croissance mycélienne et la production des spores. Ces critères ont été estimés à travers les mesures centimétriques des colonies ainsi que l'absorbance optique de l'espèce fongique.

II.4.3.1.- Cinétique de la croissance mycélienne de *T. asperellum*

Des prélèvements radiaux quotidiens correspondant au développement de l'agent antagoniste ont été effectués, à l'envers de la boîte, à l'aide d'une règle millimétrique.

II.4.3.2.- Diffusion de pigments

La sporulation a été évaluée, selon la méthode modifiée de SCHÜTZ et *al.* (2020), par l'estimation de l'absorbance optique des spores de *T. asperellum*. Le tapis

mycélien d'une culture a été raclé par une lamelle stérilisée en utilisant 10 ml d'eau distillée. L'ensemble a été transféré à un Erlenmeyer, ajusté à 500 ml et agité à 200 tours/ minute pendant une minute pour briser les agrégats des spores. La suspension conidienne a été ensuite filtrée à travers quatre couches de gaze (stérilisée à 150 °C), afin de se retirer des mycéliums, puis rincée avec 100 ml de l'eau distillée (Photo 14). La dilution des volumes denses a été faite en transférant un millilitre de chaque suspension obtenue à un tube à essai contenant neuf millilitres de l'eau distillée. Trois lectures de l'absorbance optique à 700 nm ont été assurées à chaque solution des spores en utilisant un spectrophotomètre. L'étalonnage a été fait par un blanc de l'eau distillée.

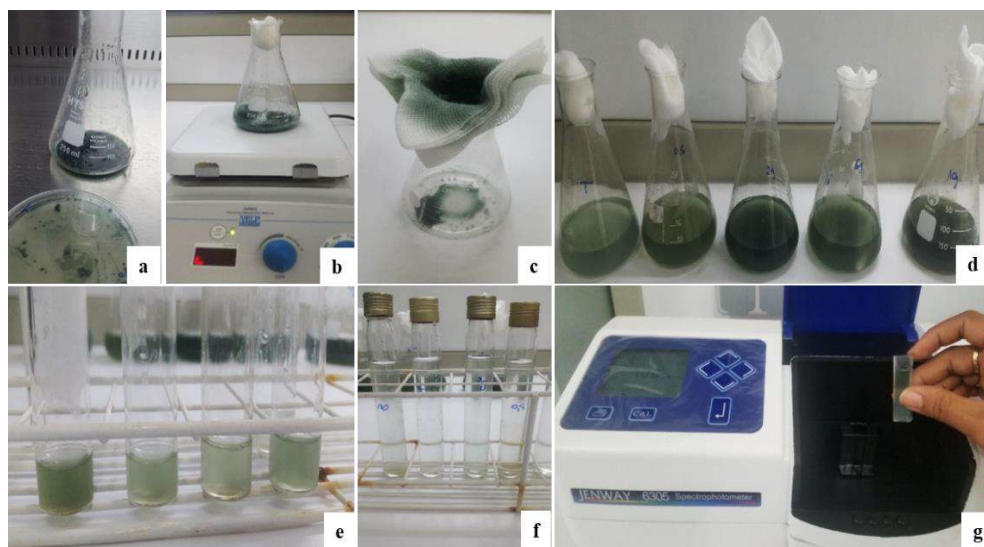


Photo 14. Pigmentation produite par *T. asperellum* sous différents traitements. **a** : Raclage de la colonie ; **b** : Agitation ; **c** : Filtration ; **d**, **e** et **f** : Dilution ; **g** : Spectrophotométrie de l'échantillon

II.5.- Potentiel *In Situ* de *T. asperellum* dans la lutte contre la flétrissure fusarienne

L'objectif de ce travail est l'essai d'efficacité biologique de *T. asperellum*, produit sur un substrat lignino-cellulosique, dans la lutte préventive et curative de la fusariose sur les plants de tomate. Les essais ont été menés sous serre, à l'INRAA (station de Touggourt), afin de maintenir les conditions favorables au développement des plantes et des champignons. Quelques plantes témoins ont également reçu un traitement chimique en tant que produit de référence.

II.5.1.- Matériel végétal

Les semences de la tomate (Tafna) ont été désinfectées en les trempant dans l'hypochlorite de sodium (2%) pendant 3 minutes, puis rincées abondamment à l'eau distillée.

Les sujets ont été ensuite semés dans un plateau alvéolé contenant de la tourbe noire humide. Le repiquage des plantules de tomate a été réalisé en stade de deux feuilles bien étalées.

II.5.2.- Désinfection du substrat

Un substrat mélange (2/3 du sol sableux et 1/3 du fumier) a été utilisé dans cet essai. La fumure organique a été préalablement désinfectée par la méthode de Bergerac (ITCMI, 2015).

II.5.3.- Préparation de l'inoculum phytopathogène

Une suspension sporale de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a été préparée, selon le protocole expérimental de MOURIA *et al.* (2013) ainsi que BOUZOUMITA *et al.* (2016), pour obtenir une concentration cellulaire finale de 10^5 spores/ ml. Celle-ci s'est déjà montrée virulente au cultivar de Tafna dans les tests de pathogénicité.

II.5.4.- Optimisation à l'application de *T. asperellum*

Afin d'assurer un bon maintien sous-sol de l'antagoniste, l'adaptation de celui-ci a été d'abord garantie sur un pré-substrat solide lignino-cellulosique. Ce dernier a fait l'objet de notre choix vu de sa richesse en cellulose (CHEHMA et LONGO, 2001) et sa disponibilité en tonnage très important dans la région d'étude. Le protocole expérimental a été suivi selon la méthode modifiée de SINGHANIA *et al.* (2006). La fermentation de *T. asperellum* (Photo 15) a été procédée en suivant quelques mesures à savoir :

- Préparation d'une suspension de conidies (1250 ml) de *T. asperellum* de $1,30 \times 10^6$ spores/ ml ;
- Inoculation de la suspension sporale sur 3,5 kg de palmes sèches, rincées et broyées de 5 mm de taille, autoclavées à 120 °C pendant une heure pour éliminer toute source phytopathogène ;
- Enfermement du substrat inoculé, dans son état humide, dans un container transparent pour garantir la présence de la lumière ;
- Incubation de l'ensemble sous une température relativement importante (sous serre) pour une période de 16 jours afin de favoriser le développement du champignon.



Photo 15. Production en masse de *T. asperellum* sur substrat de palmes sèches. **a** : Lavage de broyats ; **b** : Autoclavage ; **c** et **d** : Ajout de la suspension ; **e** et **f** : Fermentation anaérobique de l'antagoniste

II.5.5.- Produit de référence

A titre comparatif, un fongicide chimique systémique, BELTANOL-L 50% (QUINOZOL 500 g/l), s'est servi comme un témoin. Le produit est homologué en Algérie sous le N°07 45 072 sur les cultures maraichères dont il est conçu à être appliqué contre les champignons vasculaires tels que : *Fusarium*, *Pythium*, *Verticilium*, *Rhizoctonia* (DPVCT, 2017). La dose recommandée de ce produit est de 1 l/ ha. Ce produit (Photo 16), absorbé par les racines, fonctionne soit par la voie préventive ou curative sur la fusariose. Il est sélectionné sur la base qu'il est autorisé nationalement.



Photo 16. Produit chimique de référence, BELTANOL-L

II.5.6.- Exécution des traitements sur les plants de tomate

Cinq traitements ont été appliqués pour vérifier la capacité *In Vivo* de *T. asperellum* dans la lutte contre le flétrissement fusarien de la tomate. Ils renferment trois modalités de lutte (préventive, simultanée et curative) avec deux témoins dont un a été inoculé seulement par l'agent phytopathogène et un autre traité chimiquement par le BELTANOL-L. Le protocole expérimental a été conçu à raison de dix plants/ traitement.

L'inoculation de la fusariose a été effectuée en trempant les racines des plantes dans la suspension sporale phytopathogène. Quant à l'application de l'agent antagoniste a été assuré sous-sol à travers la litière des palmes sèches inoculées selon la méthode de COLLAO (2007). L'exécution des traitements a été procédée sous forme de cinq modalités à savoir :

- **Préventive** : une quantité, estimée de 100g, du substrat inoculé par *T. asperellum* a été mise en pot, à une profondeur de 10 cm de la surface, une semaine avant le repiquage des plantules afin de permettre une bonne colonisation du champignon. Au-delà de cette période, les racines des plantes (y compris la tourbe) ont été trempées dans la suspension phytopathogène de *F. oxysporum* pendant 30 minutes puis transplantées ;
- **Simultanée** : l'inoculation de deux agents fongiques a été réalisée au même temps ;
- **Curative** : les plants de tomate ont été inoculés préalablement par la fusariose. Dès l'apparition des premiers symptômes maladifs (flétrissement ou jaunissement des feuilles), une suspension antagoniste a été introduite dans le sol par irrigation ($1,2 \times 10^6$ conidies/ ml) ;
- **Témoin chimique** : les plantes ont reçu le fongicide BELTANOL-L juste après l'inoculation de la maladie vasculaire. Il a été appliqué par irrigation à raison de 400 µl/ dix plant (soit 40 ml/ 1000 plants/ 400m²) ;
- **Témoin non traité** : les plantes ont été inoculées uniquement par l'agent phytopathogène.

Le traitement chimique a exigé une deuxième application (400 µl/ dix plant) pour éviter que la maladie fongique développe une résistance. De ce fait, une deuxième application de *T. asperellum* ($2,6 \times 10^6$ spores/ ml) a été exécutée par irrigation, au même titre que le traitement chimique. L'application de ces traitements a été effectuée après 20 jours de la transplantation des plants. Les pots ont été placés, chaque traitement à part, sous serre et irrigué deux fois par semaine (Photo 17). Des moyens de prophylaxie ont été maintenus pour éviter la présence des autres ravageurs.



Photo 17. Application de différents traitements sur les plantules de la tomate. **a** : Introduction de l'antagoniste ; **b** : Trempage des racines dans la suspension sporale ; **c** : Transplantation ; **d** : Piège jaune ; **e** : Dispositif de l'essai

II.5.7.- Notation des symptômes de la fusariose

L'efficacité de l'ensemble des traitements a été estimée en calculant l'incidence de la maladie vasculaire qui se base sur l'indice visuel de SONG et *al.* (2004). L'évolution de l'effet de la maladie a été suivie après deux jours de la dernière application des traitements. L'évaluation des symptômes typiques à la maladie vasculaire a été faite trois fois au cours de l'essai.

II.6.- Profil métabolique de *T. asperellum*

Cette étude porte sur la caractérisation maximale des métabolites volatiles secrétés par *T. asperellum*. L'évaluation a été assurée, sur des cultures liquides, à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Le travail a été effectué à CRAPC (station de Bousmail).

II.6.1.- Préparation de la culture liquide

La fermentation liquide anaérobie et la méthode d'extraction ont été adoptées selon la méthode de SIDDIQUEE et *al.* (2012). Cinq explants de 5 mm de *T. asperellum*, cultivé sur PDA, ont été transférés sur 300 ml de milieu PDB tiède. L'ensemble a été renfermé dans un flacon transparent. Il est ensuite fermé hermétiquement par un coton

enveloppé d'un papier d'aluminium puis scellé avec du parafilm. L'incubation du flacon a été faite, pendant 07 jours, dans l'étuve à 35 °C.

II.6.2.- Méthodes d'extraction

Un volume de 225 ml d'acétate d'éthyle a été ajouté au milieu fermenté de *T. asperellum*. La solution a été laissée pendant une nuit pour extraire le maximum des cellules fongiques. Le mélange a été passé à un homogénéiseur disperseur pendant 10 minutes pour la destruction complète des cellules. Ensuite, une filtration sous vide de la solution a été assurée à l'aide d'un entonnoir Büchner durant laquelle les débris cellulaires ont été jetés. Deux filtrats ont été obtenus, à l'aide d'une ampoule à décanter, à savoir : celle contenant de la phase d'acétate d'éthyle et une phase aqueuse du milieu.

Enfin, l'extraction des composés bioactifs du milieu a été faite en se servant de trois solvants de différente polarité à savoir : polaire (méthanol), moyennement polaire (butanol) et apolaire (hexane). D'abord, la phase d'acétate d'éthyle a été traitée par 100 ml de méthanol (90%) et autant de l'hexane. Le mixte a été ensuite filtré en utilisant un papier filtre puis décanté pour séparer chaque phase (méthanolique et hexanoïque) à part. De plus, la phase aqueuse (eau du milieu de culture) a été également extraite en ajoutant 100 ml de butanol. Tous les solvants ont été évaporés, en utilisant un évaporateur rotatif, à 24 °C en appliquant 180 tour/minute pour obtenir 5 ml de chaque solvant (Photo 18).

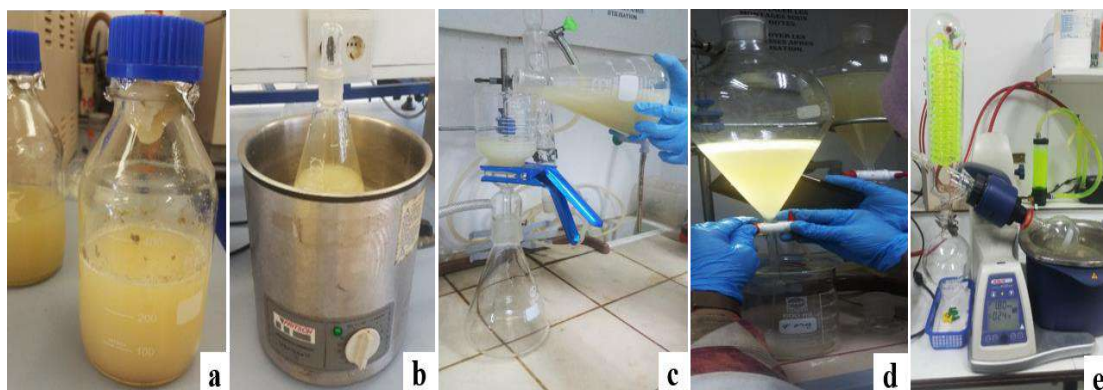


Photo 18. Extraction des métabolites volatiles de *T. asperellum*. **a** : Fermentation liquide du champignon ; **b** : Homogénéisation/ dispersion ; **c** et **d** : Séparation de deux phases ; **e** : Evaporation rotative

II.6.3.- Conditions de chromatographie

La séparation des composés volatiles a été assurée avec un GC équipé d'un détecteur sélectif de masse. Les analyses GC-MS ont été faites avec une énergie d'ionisation à

une intensité du filament de 70eV. L'identification putative des métabolites volatiles a été réalisée par un essai chromatographique d'un volume de 1µl de l'échantillon en utilisant une colonne capillaire apolaire ayant des dimensions de 30 m × 0,25 mm × 0,25 0.25 µm.

De plus, la programmation du four a été commencée par une température initiale de 60 °C pendant 01 minute, puis de 10 °C / minute jusqu'à un maintien final de 300 °C pendant 5 minutes (mode d'injection : Splitless). Ainsi, le détecteur de masse a été sur 194 °C et la durée de chaque analyse de solvant a poursuivi jusqu'à 30 minutes. Enfin, les composés extraits ont été présumés identifiés par une comparaison automatique avec la base de données NIST (2002).

II.7. - Analyses statistiques

Tous les résultats obtenus dans ce travail ont été confirmés statistiquement en utilisant le logiciel SPSS (v.20.0.).

Afin d'assurer une bonne démarche analytique, un test de normalité de Shapiro-Wilk, à un niveau de signification de ($p \geq 0,05$), a été mené avant de détecter la différence de variance entre les groupes de traitements.

En ce qui concerne l'analyse de variance, les données qui ont assumé une distribution normale sont évaluées, selon le nombre de facteurs, par un test t de Student (deux modalités) ou une ANOVA (\geq trois modalités). Celles qui sont non normales sont analysées en appliquant un test de Kruskal-Wallis. Tous les tests sont assurés à un niveau de signification de ($p \leq 0,05$).

De plus, l'évolution temporaire de traitements a été vérifiée, en se servant d'un test de Friedman (en cas de la distribution non normale des données).

Outre, un test de Levène a été appliqué, à un niveau de signification de ($p \geq 0,05$), afin d'analyser l'homogénéité de variance. Sur la base de ce test, la comparaison multiple des moyennes, en appliquant un test de Tukey, sert par la suite à générer les groupes homogènes suite à l'application de traitements.

Résultats
et discussions

***Flore fongique
isolée de la tomate***

III.- Résultats et discussions

Ce chapitre met en évidence les résultats globaux de l'identification de la flore fongique isolée de la tomate ainsi que ceux de la pathogénicité de la fusariose. Il contient également les résultats des essais du potentiel (*In Vitro* et *In Vivo*) de *T. asperellum* vis-à-vis *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* et quelques facteurs abiotiques limitants. Il est divisé en cinq parties dont chacune comporte les résultats des tests avec une discussion de chaque test à part.

III.1.- Flore fongique isolée de la tomate

Les composantes fongiques isolées de la tomate (Photo 19), dans la région d'Oued Righ, ont été identifiées à travers leurs caractères macroscopiques et microscopiques obtenus sur PDA. Elles sont ensuite listées en deux grands groupes à savoir : phytopathogènes (telluriques ou foliaires) et non contaminants (endophytes et saprophytes).

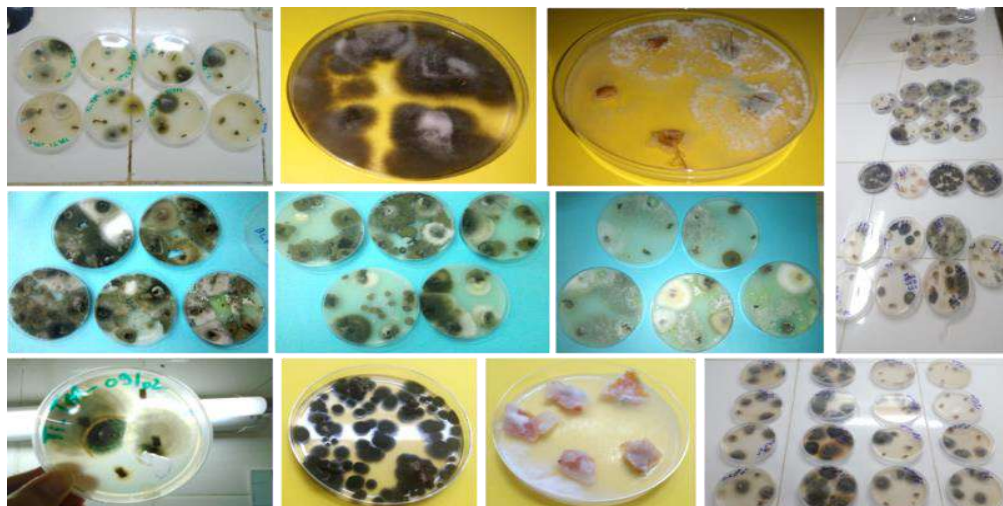


Photo 19. Colonies fongiques formées sur PDA

III.1.1.- Champignons phytopathogènes

Ce groupe comporte les agents phytopathogènes telluriques et aériens. Des illustrations de symptômes typiques de quelques maladies cryptogamiques sur la tomate sont jointes avec une brève description.

III.1.1.1.- Agents fongiques telluriques

Les champignons de ce sous-groupe représentent les agents fongiques ayant une transmission via les tissus vasculaires de la tomate.

- ***Fusarium oxysporum* Schlechtendahl (1824): Flétrissement fusarien**

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Sordariomycetes*

Sous classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreales*

Famille : *Nectriaceae*

Ce champignon vasculaire est très fréquent et dommageable sur la tomate. Les symptômes (Photo 20) se présentent dans le brunissement des tissus vasculaires, jaunissement et incurvation des vieilles feuilles ainsi qu'un flétrissement rapide suivi par un dessèchement voire une croissance réduite ou la mort de la plante. Le signe le plus typique de la fusariose se présente dans le flétrissement chlorotique et longitudinal d'un seul côté de l'organisme végétal qui poursuit progressivement son développement sur l'autre côté.



Photo 20. Symptômes de la fusariose sur les plants de tomate

Sur des cultures pures, *F. oxysporum* forme un mycélium aérien blanc cotonneux (Photo 21. A1) ou floconneux de couleur blanc au début qui vire progressivement vers le jaune (Photo 21. B1) ou la violette pâle (Photo 21. C1). Le caractère morphologique le plus important de *Fusarium* se présente dans ses scolécospores fusiformes et cloisonnées d'extrémité distale pointue. Alors que les microconidies sont abondantes ovoïdes elliptiques ou réniformes (Photo 21. C2).

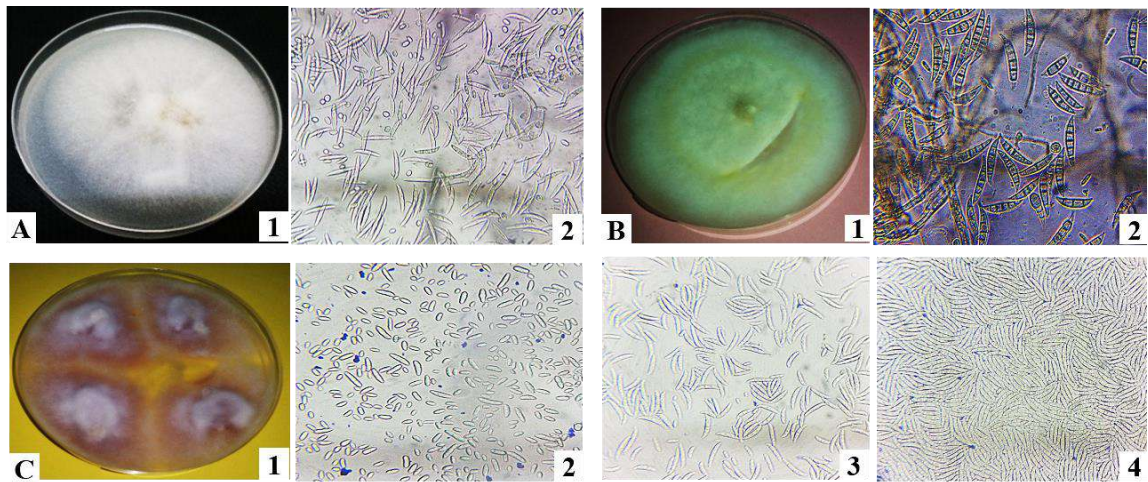


Photo 21. Caractères morphologiques de *Fusarium* spp. **A1, B1 et C1** : Colonies fongiques sur PDA ; **A2, B2, C2, C3 et C4** : Micro et macroconidies (G × 40)

➤ ***Rhizoctonia* spp. : Pourriture brune**

Division : *Basidiomycètes*

Classe : *Agaricomycète*

Sous classe : *Agaricomycetidae*

Ordre : *Cantharellales*

Famille : *Ceratobasidiaceae*

Cet agent phytopathogène vasculaire provoque des altérations sur les organes de la plante. Les symptômes sur la tige sont en forme de motifs concentriques bruns et circulaires (Photo 22). Leurs contours sont bien délimités et prennent souvent une apparence plutôt sèche. A l'état grave de l'infection, il amincie tout le corps végétal avec la diffusion d'une pourriture brune sur l'organisme végétal. Ce champignon est fréquemment associé à d'autres bioagresseurs ce qui est bien le cas de la rhizoctonie, isolée à INRAA (station Touggourt), qui a formé un complexe fongique tellurique avec *F. oxysporum*.



Photo 22. Symptômes de la rhizoctonie sur les plants de tomate

La culture jeune de ce champignon est incolore devenant, selon l'espèce, brune (Photo 23. A1 ; A4) ou marron foncé (Photo 23. B1). Le mycélium d'isolats est relativement compact au début qui peut produire des cercles concentriques sur la surface de la boîte de Pétri (Photo 23. A4). L'aspect microscopique se caractérise par des hyphes cloisonnés hyalins à bruns qui se trouvent détachés ou réunis en cordons (Photo 23. A2 ; B4 ; B5) avec la présence des septums dolipores (Photo 23. A3). Les hyphes sont stériles, caractère typique de ce champignon, ne produisant pas les spores. Néanmoins, ils forment des cellules moniloïdes faites d'articles ramifiés en barillets qui présentent des constriction au niveau de chaque cloison (Photo 23. A5 ; A6 ; B2). Ces structures sont considérées comme des ébauches de pseudo-sclérotés responsables de la reproduction sexuée. Celles-ci peuvent ensuite être visibles à l'œil nu sous forme d'un feutrage abondant (masse compacte) sur la surface de la culture (Photo 23. A1 ; A4).

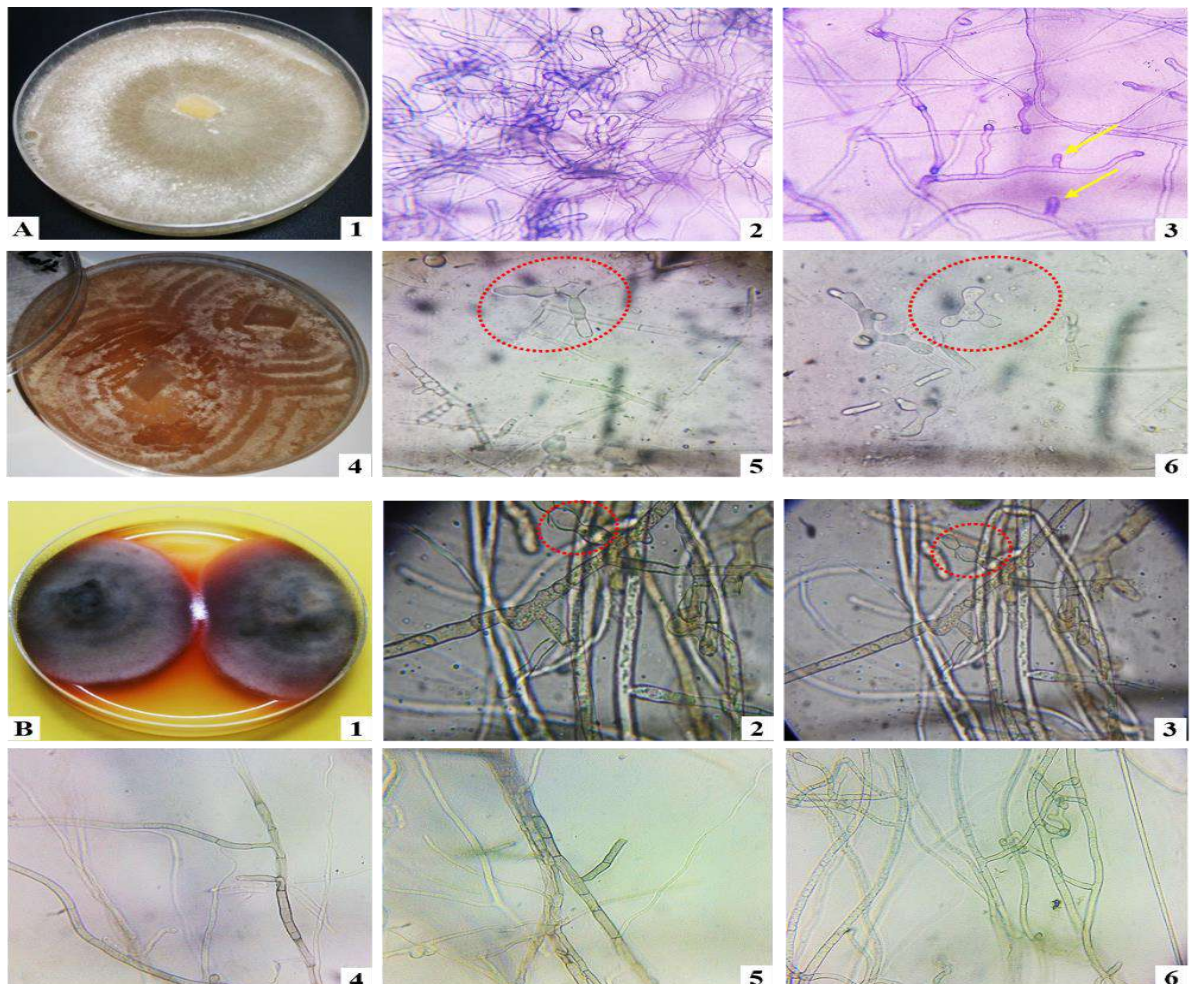


Photo 23. Caractères morphologiques de *Rhizoctonia* spp. **A1, A4 et B1** : Colonies fongiques sur PDA ; **A2, B4, B5 et B6** : Hyphes cloisonnés ; **A3** : Septums dolipores ; **A5, A6, B2 et B3** : Cellules moniloïdes (G × 40)

➤ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary (1884) : Pourriture blanche

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Leotiomycetes*

Sous classe : *Leotiomycetidae*

Ordre : *Helotiales*

Famille : *Sclerotiniaceae*

Ce champignon peut attaquer tous les organes de la tomate mais ses symptômes sont plutôt localisés sur les organes aériens (Photo 24). Sur les tiges, il cause des lésions sombres allongées et couvertes d'un feutrage cotonneux blanc s'initiant à partir de tissus sénescents ou blessés. Ces chancres renferment de gros sclérotés assez noirs qui évident et décomposent la moelle de la tige. Les symptômes peuvent être localisées à proximité du collet ou réparties sur la longueur de tige. En conséquent, les feuilles peuvent se jaunir, flétrir et se dessécher. Sur fruit, il développe une pourriture humide, molle et blanche qui s'étend rapidement et se généralise. Enfin, les fruits finissent par s'effondrer.



Photo 24. Symptômes de la sclérotiniose sur les plants de tomate

L'aspect macroscopique de *S. sclerotiorum* se présente par un mycélium aérien rasé de couleur blanche neige, sans pigmentation, qui a un développement très rapide (Photo 25. A1 ; A2). Il génère très rapidement des sclérotés noirs globuleux de différente taille qui se limitent à la région périphérique de la boîte de Pétri (Photo 25. A3). Sous le microscope, *S. sclerotiorum* présente abondamment des hyphes minces, hyalins, cloisonnés et ramifiés (Photo 25. A). Aucune conidie asexuée n'est produite, caractère typique de cette espèce.

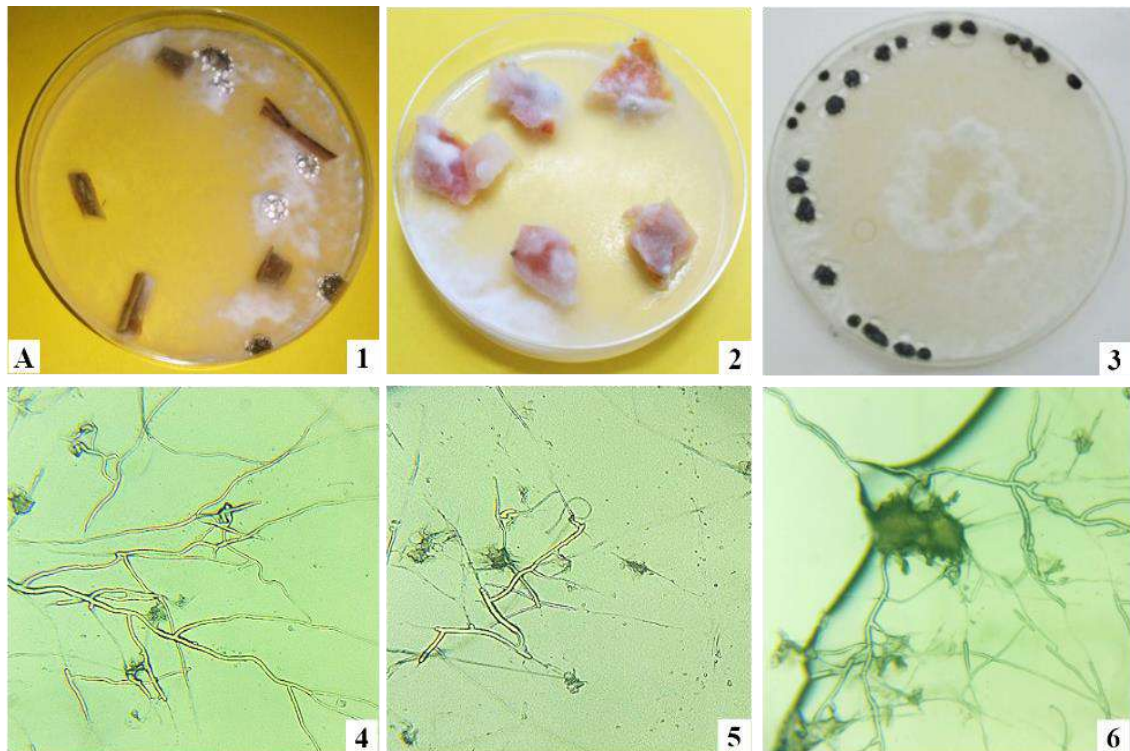


Photo 25. Caractères morphologiques de *S. sclerotiorum*. **A1, A2 et A3** : Colonies fongiques sur PDA portant des sclérotés ; **A4, B5 et A6** : Hyphes (G × 40)

➤ ***Monilinia* sp. : Moniliose**

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Leotiomycètes*

Sous classe : *Leotiomycetidae*

Ordre : *Helotiales*

Famille : *Sclerotiniaceae*

La colonie est de texture épaisse granuleuse devenant ensuite floconneuse (Photo 26. A1). Elle est de couleur marron de nuance orange et se répand rapidement sur la surface de la gélose en cercles concentriques de mycélium dense avec la présence de petits sclérotés. Les hyphes sont cloisonnés (Photo 26. A3) et les conidiophores sont indistincts pas bien différenciés des hyphes. Ils bourgeonnent directement des chaînes d'articles cellulaires d'arthroconidies sphériques, grandes, rugueuses et blastiques qui se séparent par des cloisons transversales au niveau d'étranglement (Photo 26. A4 ; A5 ; A6). Cette masse chamoisée est utile pour l'identification de *Monilinia* dont la plus jeune spore, à l'extrémité distale, pourrait être ellipsoïde, ovoïde ou limoniforme (Photo 26. A3 ; A6).

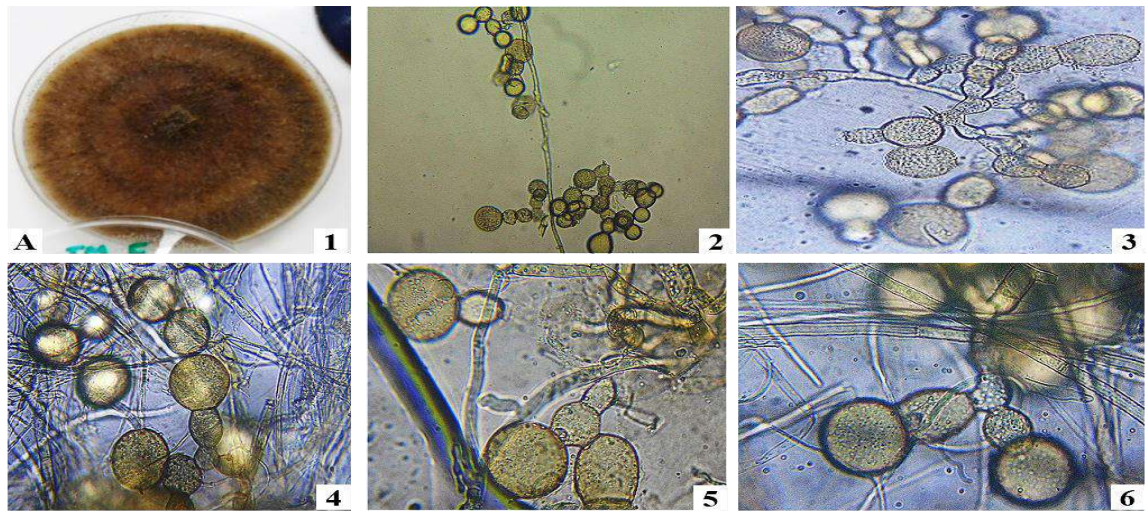


Photo 26. Caractères morphologiques de *Monilinia* sp. **A1** : Colonie fongique sur PDA portant des petits sclérotés ; **A2 à A6** : Arthroconidies (G × 40)

III.1.1.2.- Agents fongiques aériens

Ces champignons se trouvent généralement associés sur les parties aériennes de la plante constituant un complexe phytopathogène (Photo 27). Ce dernier provoque de nombreuses taches nécrotiques de différentes couleurs et de consistance sèche. A l'état grave de l'infection, ces pourritures finissent par ceinturer la tige et les feuilles entraînant la mort de la plante.



Photo 27. Symptômes d'agents phytopathogènes aériens sur la tomate

➤ *Alternaria* spp. Nees ex Friess (1816) : Brûlures alternariennes

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Dothideomycètes*

Sous classe : *Pleosporomycetidae*

Ordre : *Pleosporales*

Famille : *Pleosporaceae*

C'est la maladie fongique la plus fréquente sur la tomate dans la région de Oued Righ. Les symptômes de l'alternariose sur cette culture se distinguent clairement (Photo 28). Ils constituent des pourritures brunes à noires qui se présentent dans des motifs concentriques arrondies ou angulaires (lorsqu'elles sont délimitées par les nervures) avec des dimensions assez limitées au début. Ce champignon est à l'origine ensuite d'altérations noires plus ou moins étendues sur la tige. Sur les fruits, une tache concave s'apparait à proximité de pédoncule. Celle-ci est couverte toujours d'une moisissure noire assez caractéristique qui présente des motifs concentriques comme ceux sur les feuilles.



Photo 28. Symptômes de l'alternariose sur les plants de la tomate

Les colonies de ces espèces fongiques viennent avec différentes textures et couleurs sombres (Photo 29). Elles sont de texture veloutée, laineuse ou feutrée. Elles sont de couleur blanc au début, devenant vert, olivacé noire, gris, noire ou brun pâle qui parfois dégage des toxines dans le milieu (Photo 29. II).

L'aspect microscopique (Photo 29) le plus particulier d'*Alternaria* spp. révèle des phragmo ou dyctiospores mélanisées et pluricellulaires (septes transversaux parfois accompagnés avec d'autres longitudinaux). Celles-ci sont soit solitaires ou arrangées en chaînes

(simples ou en arborescence) qui se disposent sur des courts conidiophores dressés ou flexueux. Elles sont piriformes dotés d'une partie basale arrondie qui se rétrécit progressivement en un bec terminal. Ce dernier se trouve quelquefois très court ou il s'absente carrément. Les hyphes sont cloisonnés et translucides de couleur brun ou brun olivacé. Au début de leur développement, les conidies se présentent comme des structures en forme d'anneau déposé au niveau de l'apex du conidiophore.

Selon les travaux moléculaires et phylogénétiques de WOUDENBERG *et al.* (2013), WOUDENBERG *al.* (2014) et WOUDENBERG *al.* (2015), les espèces d'*Alternaria* se regroupent sous plusieurs sections dont on a recensé :

- Section *Chalastospora*** : elle comporte des conidies ellipsoïdes ou ovoïdes avec des septes transversaux et rarement longitudinaux (Photo 29. A2 ; E2) ;
- Section *Ulocladioides*** : les conidies sont ovoïdes, sans bec avec une base étroite (Photo 29. B2 ; G2) ;
- Section *Alternaria*** : cette section contient des conidies ellipsoïdes (large vers la base) de petites ou de taille moyenne. Elles sont cloisonnées et légèrement rétrécies à proximité de certains septes avec peu de cloisons longitudinales (Photo 29. C2 ; H2) ;
- Section *Panax*** : les conidies sont ellipsoïdes avec plusieurs septes, visiblement rétrécis à proximité de plusieurs cloisons transversales (Photo 29. D2) ;
- Section *Infectoriae*** : elle contient des conidies ellipsoïdes longues cloisonnées, et légèrement resserré près de certains septes, avec peu de septes longitudinaux (Photo 29. F2) ;
- Section *Porri*** : les conidies sont étroitement ellipsoïdes avec des cloisons transversales. Elles sont légèrement resserrées au niveau des cloisons avec un bec long et filamenteux (Photo 29. I2) ;
- Section *Embellisia*** : Les conidies sont ellipsoïdales à cylindriques minuscules et minces présentant des septes transversaux (Photo 29. J2).

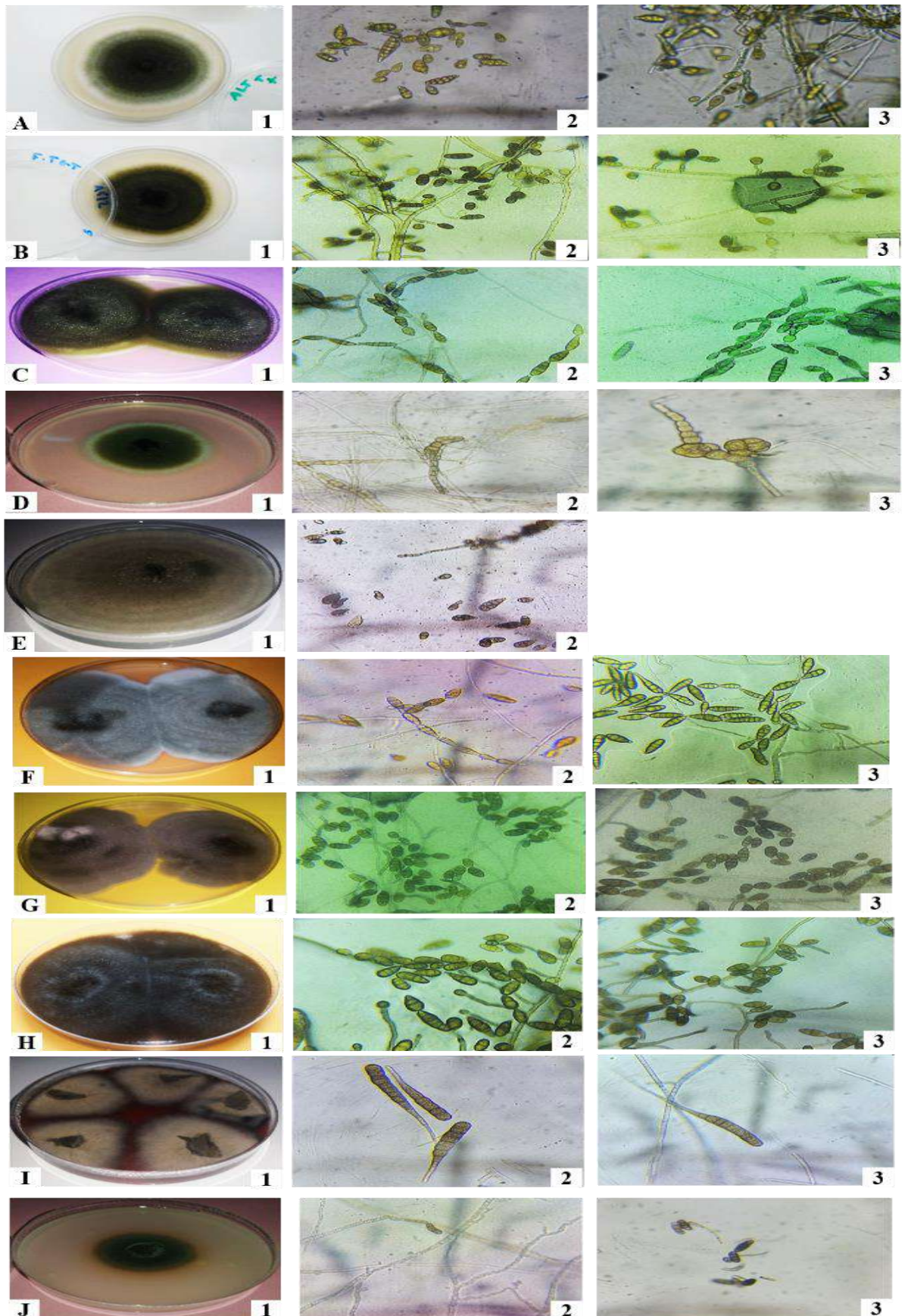


Photo 29. Caractères morphologiques d'*Alternaria* spp. A1 à J1 : Colonies fongiques sur PDA ; A2 à J3 : Conidies (G × 40)

➤ *Didymella* spp. Saccardo (1880) : Pied noir de la tige de la tomate

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Dothideomycètes*

Sous classe : *Pleosporomycetidae*

Ordre : *Pleosporales*

Famille : *Didymellaceae*

Le caractère macroscopique présente des mycéliums brin chamois foncé (Photo 30. A1) à noir (Photo 30. B1). Les colonies forment des cercles concentriques avec des nuances plus foncées au centre et des bords clairs. Ce champignon se caractérise par des hyphes cloisonnés hyalins et de petits pycnides (organes de fructification) visibles et abondants (Photo 30. B1). Ces structures libèrent abondamment des pycnidiospores à travers une ouverture appelée l'ostiole (Photo 30. B5). Les spores sont hyalines ellipsoïdales à oblongs avec des extrémités légèrement incurvées et arrondies (Photo 30. A3 ; Photo 30. B3). La plupart de celles-ci sont améropores unicellulaires mais certaines sont didymospores bicellulaires (à double noyaux) rétrécies au niveau d'une cloison excentrique (Photo 30. B3 ; B4).

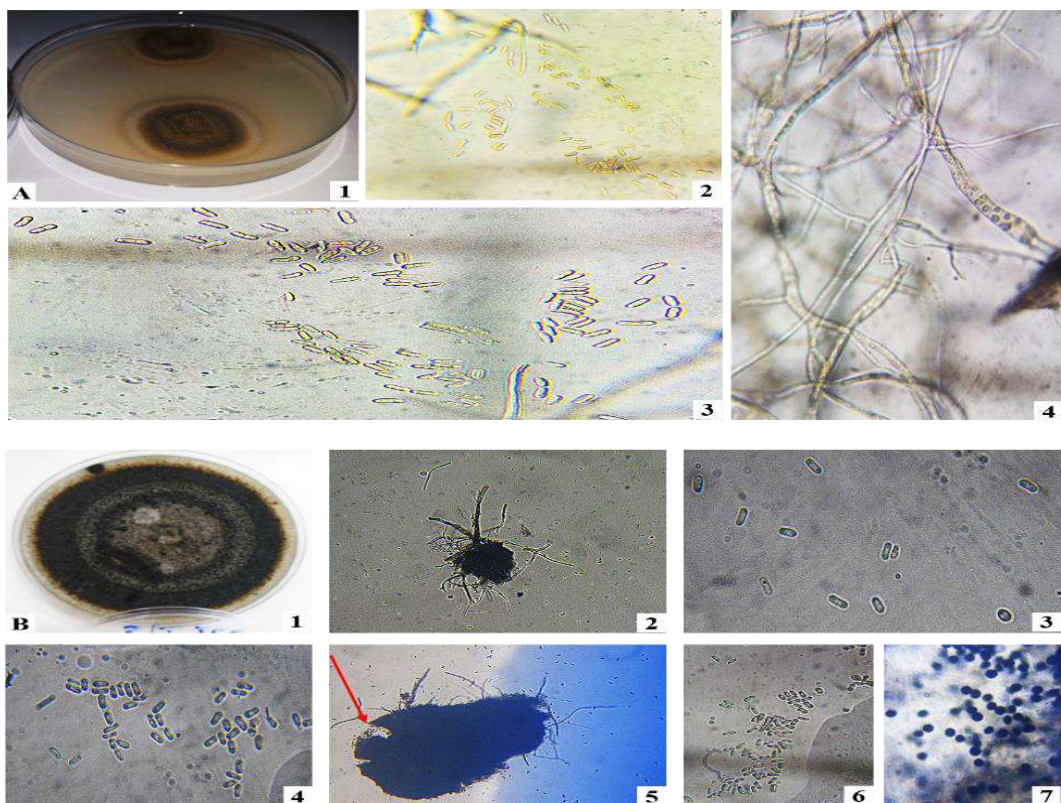


Photo 30. Caractères morphologiques de *Didymella* spp. **A1 et B1** : Colonies fongiques sur PDA ; **A2, A3, B3, B4, B6** : pycnidiospores ; **A4** : Hyphes ; **B2 et B7** : Pycnide ; **B5** : Ostiole (G × 40)

➤ *Ulocladium* sp. Preuss (1815) : Taches foliaires

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Dothideomycètes*

Sous classe : *Pleosporomycetidae*

Ordre : *Pleosporales*

Famille : *Pleosporaceae*

Les colonies d'*Ulocladium* ont une croissance rapide. Elles sont de texture daims à cotonneuses et de brun noirâtre à noir foncé (Photo 31. A1). Les conidies sont solitaires sans bec car cette espèce ne forme jamais de chaînes conidiennes (Photo 31. A2). Elles sont lisses (Photo 31. A3), ovoïdes à largement pointue aux extrémités (Photo 31. A5 ; A6) comme elles sont dyciospores multicellulaires divisées par des cloisons longitudinales et transversales. Les hyphes sont septés brun clair à brun foncé et les conidiophores sont simples ou parfois ramifiés tordus en différentes formes (Photo 31. A3 ; A4). *Ulocladium* a une cloison en «y» caractéristique unique, permettant de l'identifier (Photo 31. A6). Les cultures les plus anciennes peuvent produire de longues conidies, en forme de cigare, avec trois cloisons horizontales ou plus, rassemblant à des macroconidies (Photo 31. A6).

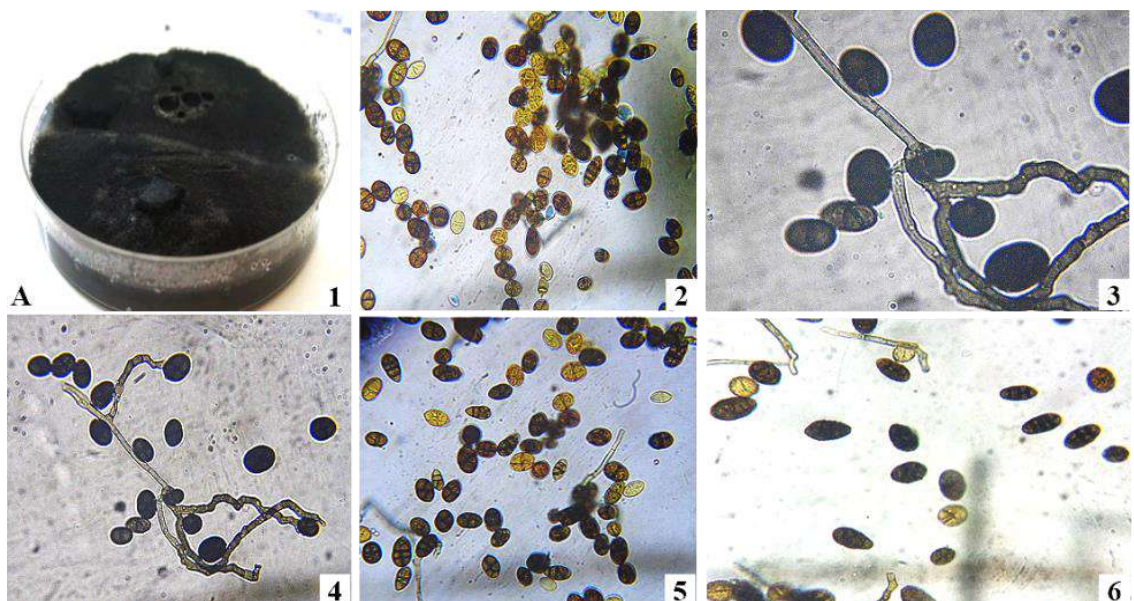


Photo 31. Caractères morphologiques d'*Ulocladium* sp. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2 à A6** : Spores ; **A3 et A4** : Hyphes ; **A6** : Macroconidies (G × 40)

➤ *Cladosporium* sp. Link (1815) : Moisissure des feuilles

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Dothideomycètes*

Sous classe : *Dothideomycetidae*

Ordre : *Capnodiales*

Famille : *Cladosporiaceae*

Ce champignon provoque des taches olivacées, clairsemées aux contours diffus. À terme, les tissus foliaires se brunissent, se nécrosent, s'enroulent, se maigrissent et se dessèchent et parfois tombent. Les tiges peuvent être également affectées. Les symptômes sont de couleur olivacée (Photo 32). Les lésions sur les fruits, verts ou matures, sont irrégulières de teinte olivacée noirâtre, pourvues d'une bordure diffuse. Dans certaines conditions favorables, *Cladosporium* sp. sporule sur la face supérieure du limbe produisant des masses olivacées très visibles.



Photo 32. Symptômes de la cladosporiose sur les plants de la tomate

Ce micro-organisme dévoile une texture veloutée de couleur verte olive lisse (Photo 33. A1) souvent clairsemée (Photo 33. A2). La colonie conserve sa couleur jusqu'à maturité et peut s'assombrir et se froisser avec l'âge. La morphologie microscopique démontre des hyphes hyalins cloisonnés avec de nombreux conidiophores ramifiés, dressés à légèrement flexueux (Photo 33. A3). Les conidies sont abondantes et lisses de couleur brun olivacé (Photo 33. A4). Elles sont solitaires désarticulées, uni ou pluricellulaires, ovoïdes ou irrégulières avec des longueurs variables dont certaines sont en forme de citron (Photo 33. A5 ; A6).

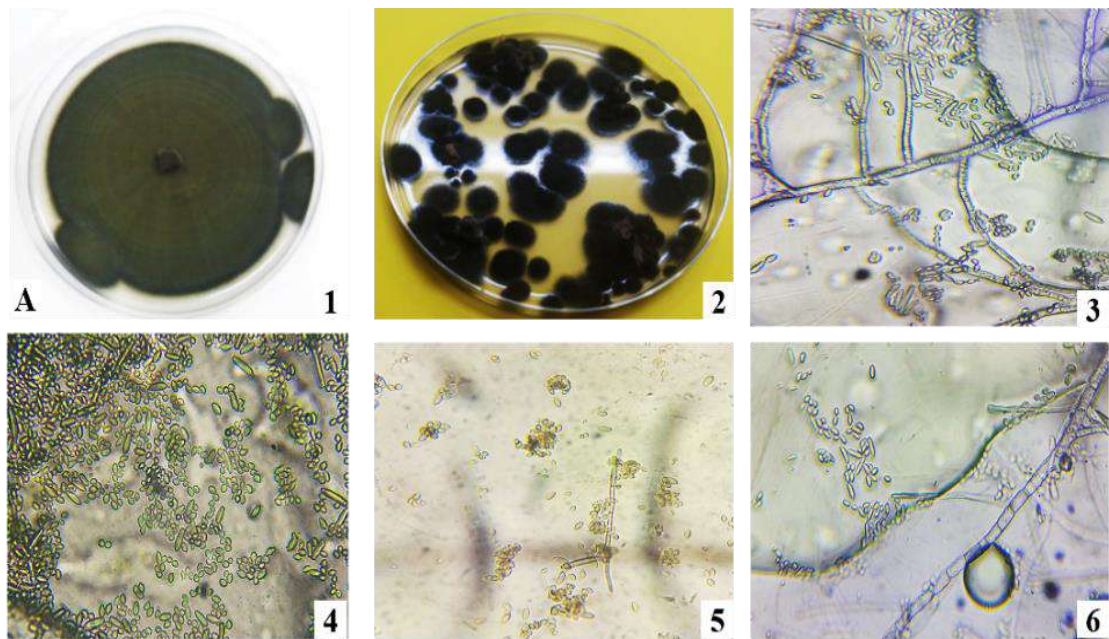


Photo 33. Caractères morphologiques de *Cladosporium* sp. **A1 et A2** : Colonies fongiques sur PDA ; **A3 et A6** : Hyphes ; **A4 et A5** : Spores (G \times 40)

➤ *Stemphylium* spp. Wallroth (1833) : Stemphyliose

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Dothideomycètes*

Sous classe : *Pleosporomycetidae*

Ordre : *Pleosporales*

Famille : *Pleosporaceae*

Les colonies de *Stemphylium* spp. développent un aspect très velouté avec une couleur gris olive pâle ou foncé (Photo 34). L'aspect microscopique dévoile des hyphes cloisonnés (Photo 34. E2). Les conidiophores sont principalement solitaires droits ou flexueux. Ils sont longs, cloisonnés, rigides, et mélanisés dotées parfois d'un apex enflé (Photo 34. A3 ; A4, A5). Ils portent des conidies solitaires et mûriformes. Elles sont d'une couleur brune, une surface rugueuse et une forme plus au moins rectangulaire avec des extrémités arrondies. Elles sont phragmospores ou dyctiospores multicellulaires dont les cloisons apparaissent souvent dans un motif en damier (Photo 34. B2). Certaines espèces génèrent des porospores avec des constriction bien délimitées formant un chiffre de 8 (Photo 34. E2). D'autres dégagent des mycotoxines dans le milieu (Photo 34. A1 ; B1).

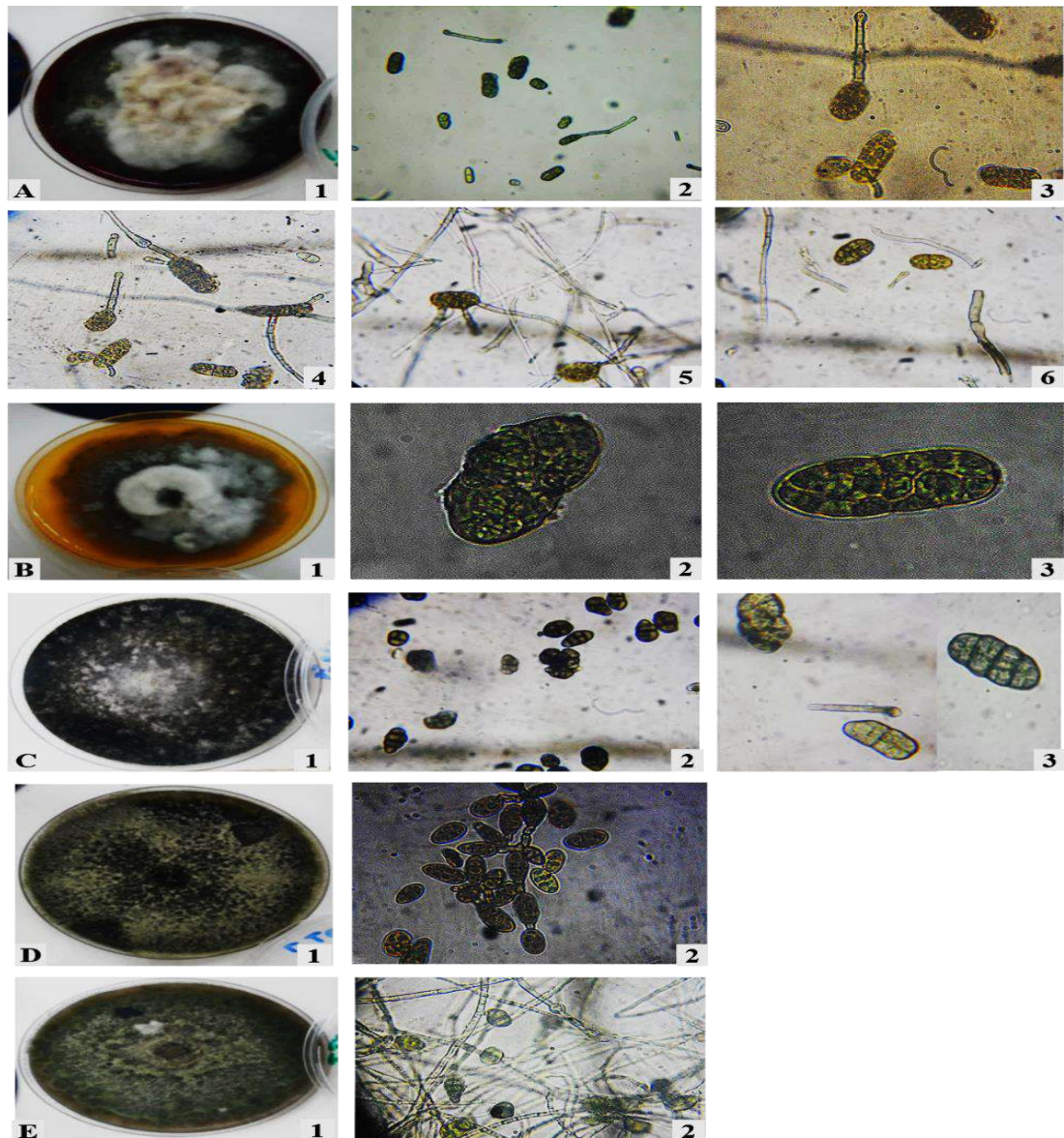


Photo 34. Caractères morphologiques de *Stemphylium* spp. **A1 à E1** : Colonies fongiques sur PDA ; **A2 à E2** : Spores ; **A3, A4 et A5** : Conidiophores ; **E2** : Hyphes (G × 40)

➤ ***Trichothecium roseum* Link (1809) : Pourriture rose**

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Sordariomycètes*

Sous classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreales*

Famille : *Incertae sedis*

La colonie de *T. roseum* est poudreuse développant rapidement une couleur rose (Photo 35. A1). Les hyphes sont hyalins et cloisonnés alors que les conidiophores sont dressés longs et minces (Photo 35. A2). Les conidiophores sont polaires portant une didymospore lisse

bicellulaire et hyaline (Photo 35. A2). Ainsi, les conidies sont piriformes d'extrémité courbée munie d'un point d'attache aplati souvent appelé le pied (Photo 35. A3 ; A4 ; A5).

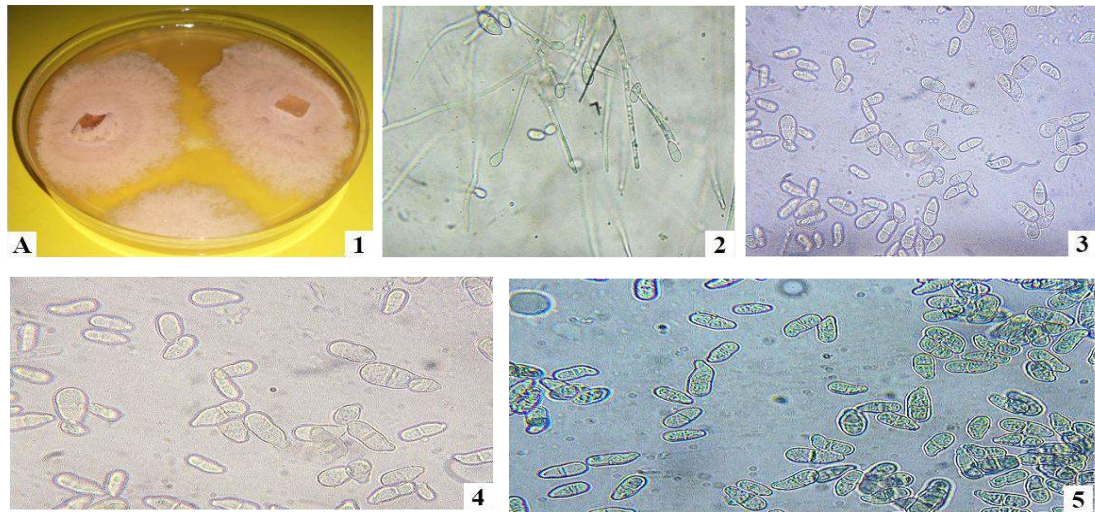


Photo 35. Caractères morphologiques de *T. roseum*. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2** : Conidiophores ; **A3, A4 et A5** : Spores (G × 40)

➤ ***Botrytis cinerea* Persoon (1794) : Pourriture grise**

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Leotiomycètes*

Sous classe : *Leotiomycetidae*

Ordre : *Helotiales*

Famille : *Sclerotiniaceae*

Le fruit mature présente une lésion nécrotique qui est couverte par une tache fantôme brune pâle à grise (Photo 36). L'échantillonnage des organes infectés ainsi que l'isolement des agents fongiques ont dévoilé que *B. cinerea* se présente toujours comme deuxième inoculum des tissus de la tomate où l'espèce n'a pas conçu des symptômes sévères.



Photo 36. Pourriture grise produite sur des attaques nécrotiques

L'aspect macroscopique de *Botrytis* est présenté par une colonie de couleur brunâtre ayant un développement rasé sur toute la boîte (Photo 37. A1). Dans certaines conditions de

son développement, le champignon produit des petits sclérotés. Les Hyphes sont larges et cloisonnées avec des conidiophores longs dressés et gris brunâtre ou gris cendré. Ces derniers présentent des ramifications à leur sommet (Photo 37. A5). Les conidiophores portent des regroupements arborescents (Photo 37. A2) de conidies ovoïdes (Photo 37. A3 ; A4, A6).

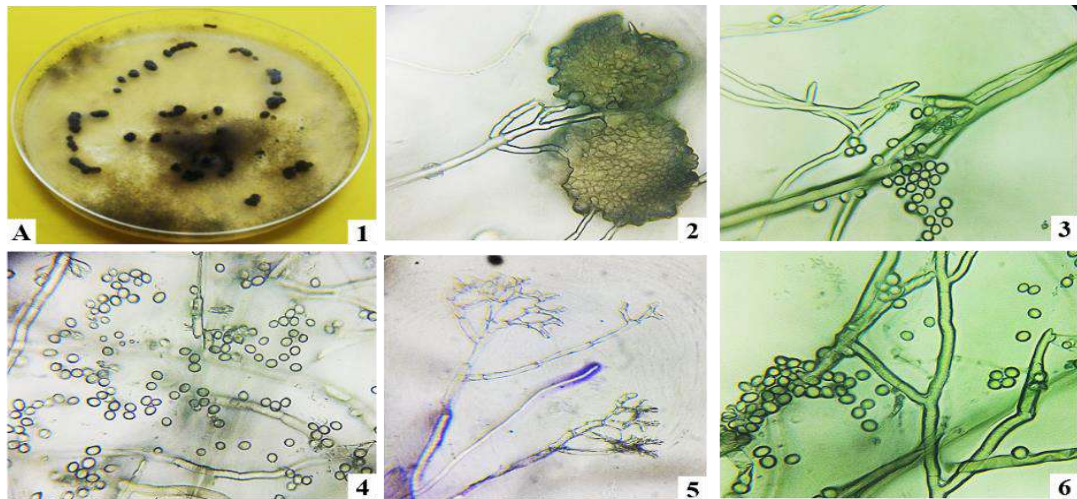


Photo 37. Caractères morphologiques de *B. cinerea*. **A1** : Colonie fongique sur PDA portant des sclérotés ; **A2 et A5** : Conidiophores ; **A3, A4 et A6** : Hyphes et spores (G \times 40)

III.1.2.- Champignons non contaminants

Ce groupe renferme les agents fongiques qui ne présentent pas des attaques parasitaires. Ils sont listés dans deux sous-groupes à savoir : endophyte et saprophyte.

III.1.2.1.- Agents fongiques endophytes

Cette partie décrit les champignons endophytes (agents fongiques symbiotes) qui cohabitent les tissus végétaux.

➤ *Trichoderma* spp. Persoon (1801)

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Sordariomycetes*

Sous classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreales*

Famille : *Hypocreaceae*

Des colonies en peluches blanches recouvrent la gélose en quelques jours puis se développent rapidement et deviennent plus laineuses parfois avec des cercles concentriques correspondant à la conidiogénèse (Photo 38. A1 ; B1 ; C1 ; C2). Des pigmentations vertes sont

finalement produites en raison de la formation de conidies. Les hyphes sont hyalins cloisonnés et les conidiophores sont courts perpendiculaire aux hyphes et souvent ramifié aux grands angles. Les améroconidies sont très abondantes, minuscules, unicellulaires, sphériques ou légèrement ovales à parois lisses (Photo 38. B2). Elles sont regroupées à l'extrémité de chaque phialide présentant des grappes fragiles qui se dissocient facilement lors du montage (Photo 38. B2). Dans certaines conditions, les chlamydo-spores peuvent être aisément produites (Photo 38. A3).

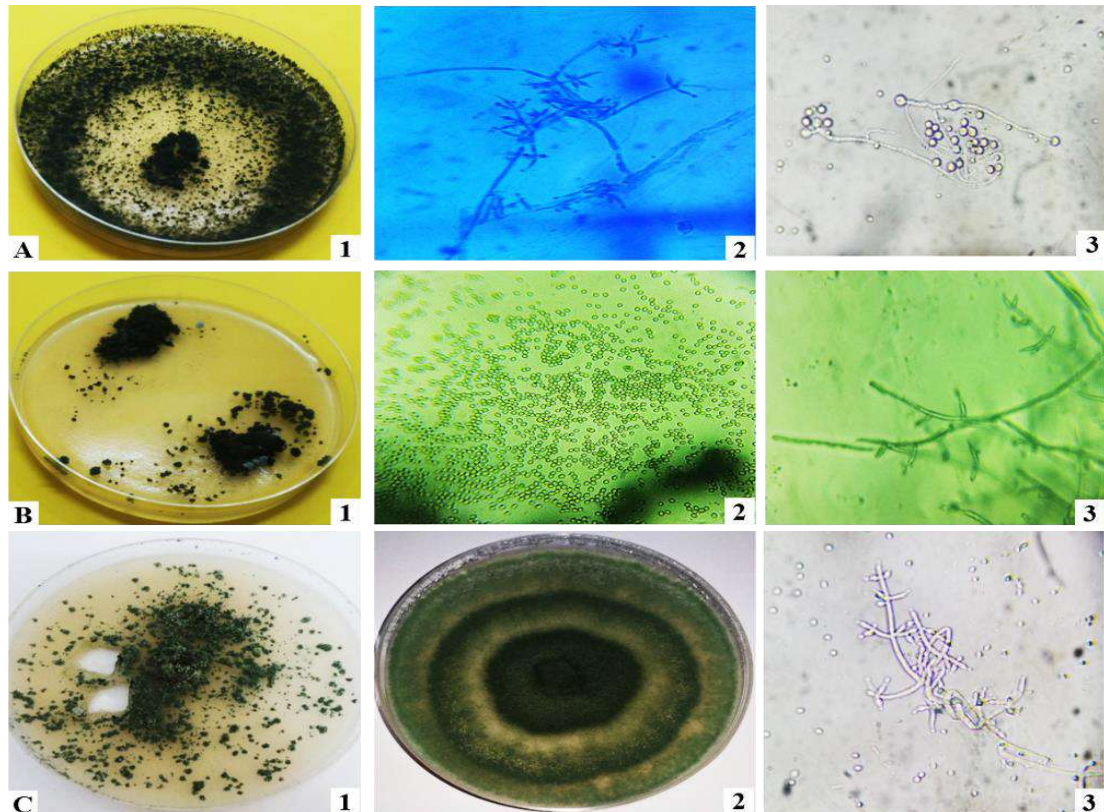


Photo 38. Caractères morphologiques de *Trichoderma* spp. **A1, B1, C1 et C2** : Colonies fongiques sur PDA ; **A2, B3 et C3** : Conidiophores et hyphes ; **A3** : chlamydo-spores ; **B2** : Spores (G × 40)

➤ *Neotyphodium* sp. Glenn, Bacon & Hanlin (1996)

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Sordariomycetes*

Sous classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreales*

Famille : *Clavicipitaceae*

La culture a un mycélium blanc feutré à crème avec une texture lisse à floconneuse. Le caractère principal de ce champignon se représente dans sa croissance très lente sur PDA (Photo

39. A1). Les conidies sont lisses et hyalines, à paroi mince (Photo 39. A2) pouvant former des amas à l'apex des conidiophores (Photo 39. A3). Elles sont principalement réniformes peu courbées et les hyphes sont convolutés (Photo 39. A6).

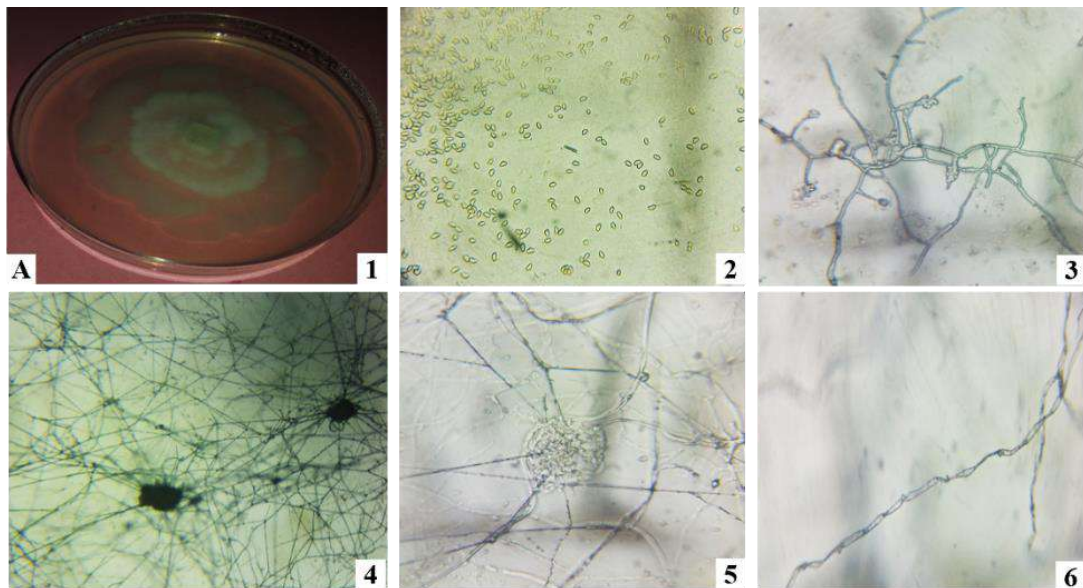


Photo 39. Caractères morphologiques de *Neotyphodium* sp. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2** : Spores ; **A3 à A6** : Hyphes convolutés (G × 40)

III.1.2.2. - Agents fongiques saprophytes

Le présent sous-groupe comporte les agents fongiques qui s'associent à la tomate suivant des attaques parasitaires causées déjà par des inoculums primaires.

➤ *Bipolaris* sp. Shoemaker (1959)

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Dothideomycètes*

Sous classe : *Pleosporomycetidae*

Ordre : *Pleosporales*

Famille : *Pleosporaceae*

Ce champignon possède un mycélium aérien de texture plate, étalée et veloutée à laineuse de couleur brun foncé (Photo 40. A1). Les poroconidies sont grandes, oblongues à elliptique, pigmenté en brun foncé et produites sur des conidiophores simples ou ramifiés en zig-zag (Photo 40. A5 ; A6). Elles présentent des pseudo-septes et des parois épaisses arrondies aux deux extrémités. Les hyphes sont sombres cloisonnés (Photo 40. A4) germant en bipolaire (deux pôles de conidies) d'où vient le nom du genre *Bipolaris* (Photo 40. A5).

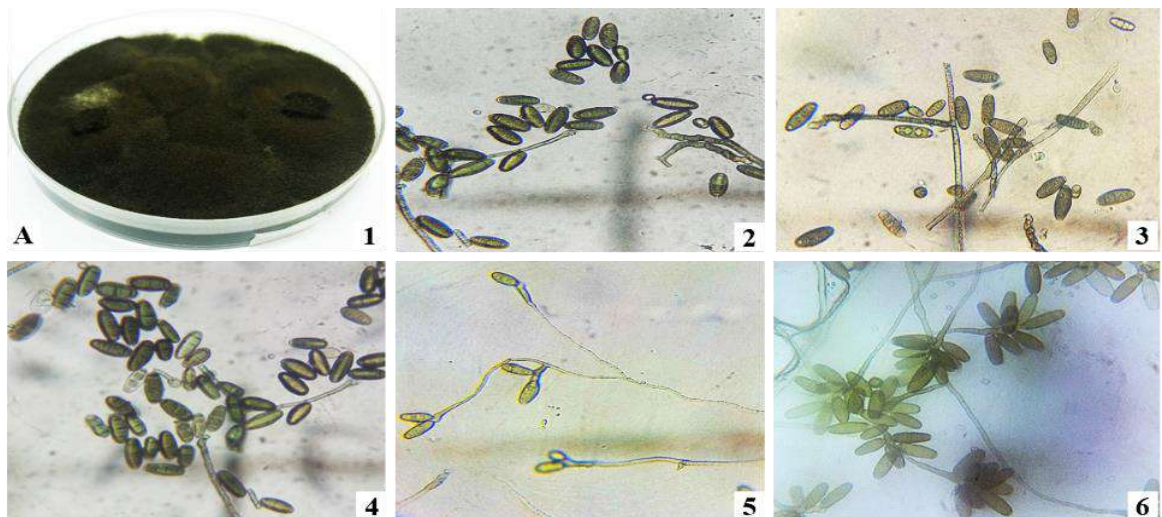


Photo 40. Caractères morphologiques de *Bipolaris* sp. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2 à A6** : Poroconidies ; **A3, A5 et A6** : Hyphes (G × 40)

➤ *Penicillium* sp. Link (1809)

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Eurotiomycètes*

Sous classe : *Eurotiomycetidae*

Ordre : *Eurotiales*

Famille : *Trichocomaceae*

La colonie de cette souche développe rapidement une couleur vert bleuâtre (la couleur des phialides) d'aspect très poudreux (Photo 41. A1) parfois concentrique (Photo 41. A2). Les conidiophores portant des branches appelées métules sur lesquelles s'insèrent les phialides (Photo 41. A3 ; A4). Ces derniers portent des chaînes de conidies sphériques. L'ensemble de la structure forme l'aspect caractéristique aux pénicilles «pinceau». Les améroconidies sont très abondantes, lisses, minuscules, sphériques et hyalines (Photo 41. A2).

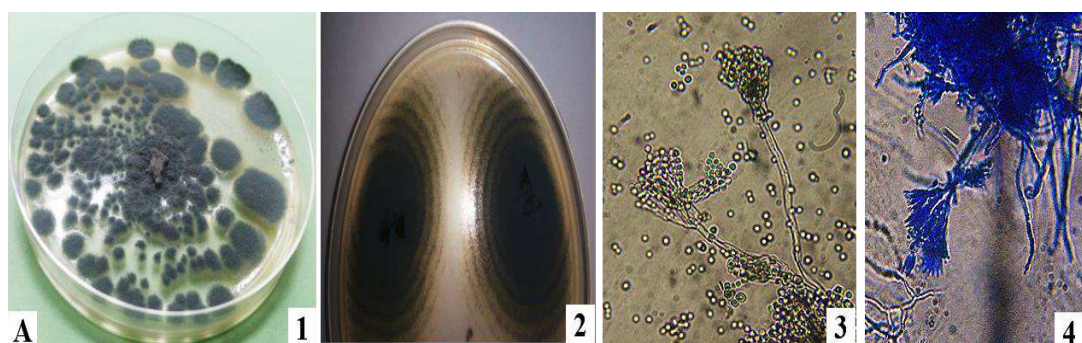


Photo 41. Caractères morphologiques de *Penicillium* sp. **A1 et A2** : Colonies fongiques sur PDA ; **A3 à A6** : Poroconidies ; **A3, A5 et A6** : Conidiophores (G × 40)

➤ ***Aspergillus* spp. Link (1809)**

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Eurotiomycètes*

Sous classe : *Eurotiomycetidae*

Ordre : *Eurotiales*

Famille : *Trichocomaceae*

En générale, les conidies d'*Aspergillus* sont lisses habituellement arrondies ou légèrement aplaties. Les phialides sont nombreux, relativement grands et plus ou moins allongés. Ils sont sous forme de tiges portant des vésicules globuleuses sur lesquelles bourgeonnent des polyphialides couvrant toute la surface radiale de vésicules. Ce genre fongique est représenté dans deux espèces très communes sur les cultures à savoir : *A. niger* et *A. flavus*.

- ***A. niger* Van Tieghem (1867)**

La colonie est de couleur noirâtre et de texture granuleuse homogène sur gélose (Photo 42. A1). Les conidiophores sont dressés, simples et incolores ou bruns pâle (Photo 42. A2 ; A4). Ils ont une paroi épaisse et lisse avec des vésicules gonflées globuleuses portant des phialides toute autour de la surface en sorte de goupillon (Photo 42. A4 ; A6).

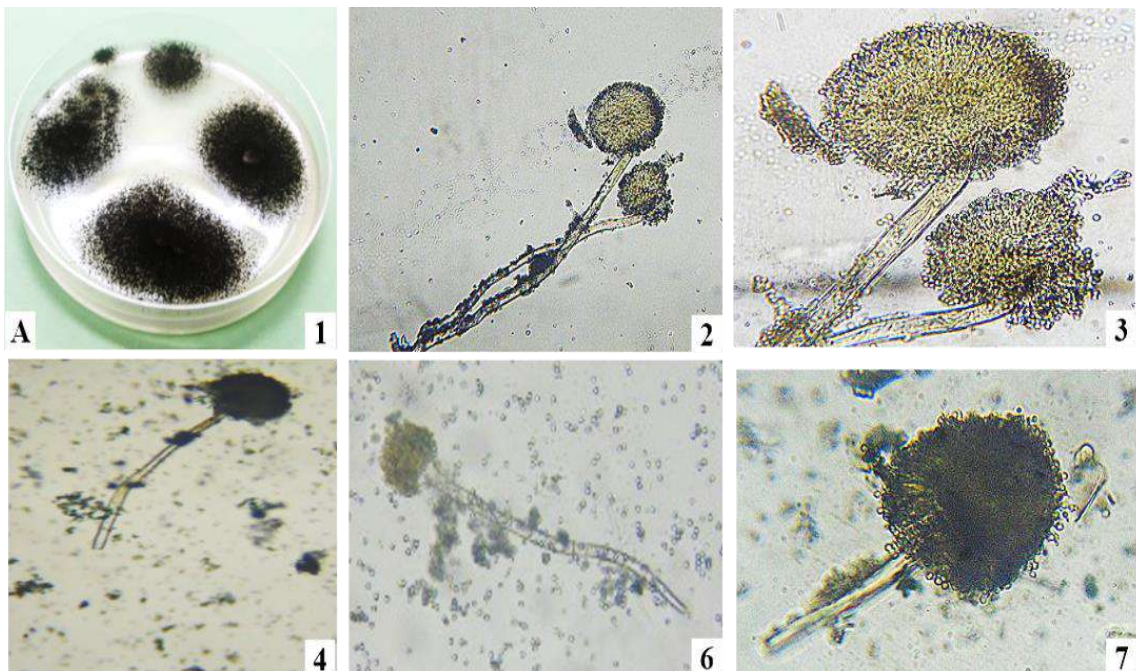


Photo 42. Caractères morphologiques d'*A. niger*. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2 à A7** : Conidiophores (G × 40)

- *A. flavus* Link (1809)

La surface de la culture d'*A. flavus* est de couleur jaune verdâtre, souvent avec des taches de jaune avec une texture veloutée (Photo 43. B1). Les hyphes sont cloisonnés et les conidiophores sont longs dressés (Photo 43. B3 ; B4). Les phialides sont formés sur la majeure partie des vésicules sphériques rayonnés (Photo 43. B2 ; B3 ; B4).

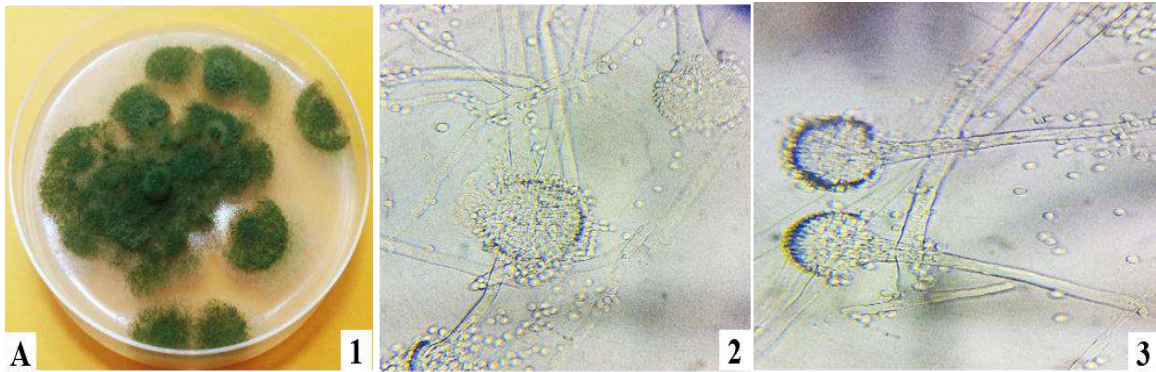


Photo 43. Caractères morphologiques d'*A. flavus*. **B1** : Colonie fongique sur PDA ; **B2 à B4** : Conidiophores (G × 40)

➤ *Rhizopus* sp. Ehrenberg (1820)

Division : *Zygomycètes*

Classe : *Incertae sedis*

Sous classe : *Incertae sedis*

Ordre : *Mucorales*

Famille : *Mucoraceae*

La colonie est de texture pelucheuse de couleur gris à gris foncé et de croissance rapide (Photo 44. A1). Les hyphes sont brun et non septiques (Photo 44. A5). Les sporanges sont petits, brun foncé à noir grisâtre avec une base aplatie (Photo 44. A3 ; A6). Elles sont semi-sphériques et formés sur des tiges appelées sporangiophores (Photo 44. A4). Ceux-ci sont brun foncé rencontrant des cellules du pied à l'extrémité du stolon où les rhizoïdes sont abondamment produits (Photo 44. A5). Les sporanges libèrent de nombreuses sporangiospores rondes à légèrement anguleuses (Photo 44. A2).

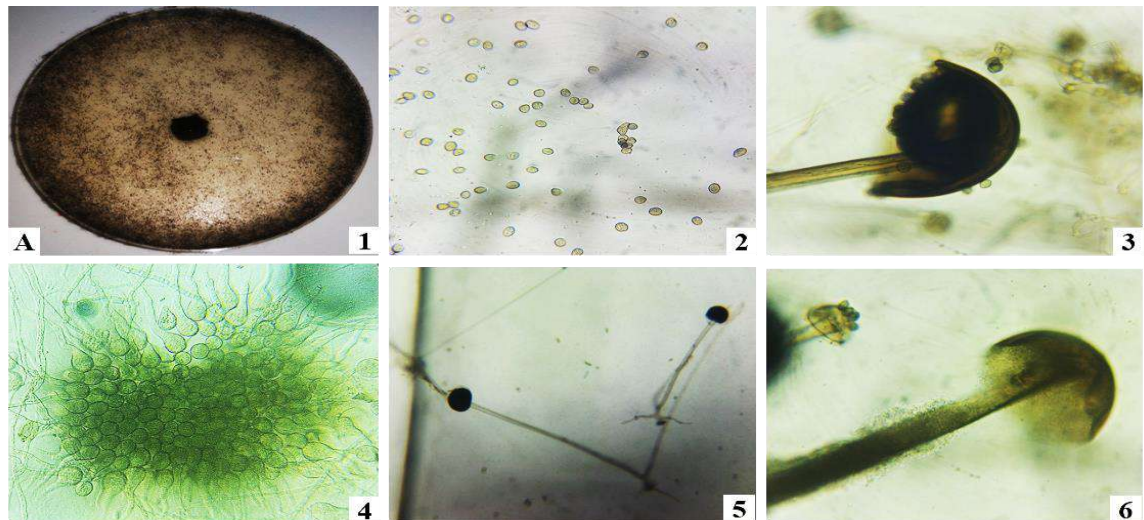


Photo 44. Caractères morphologiques de *Rhizopus* sp. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2** : Spores ; **A3 à A6** : Sporangiospores ; **A5** : Sporangiohores avec des cellules du pied à l'extrémité (G × 40)

➤ *Cladophialophora* sp.

Division : *Ascomycètes*

Classe : *Eurotiomycètes*

Sous classe : *Chaetothyriomycetidae*

Ordre : *Chaetothyriales*

Famille : *Herpotrichiellaceae*

La colonie est de texture laineuse lâche de couleur crème pâle à beige (Photo 45. A1). Les hyphes sont hyalins et cloisonnés d'où se ramifient des conidiophores minces flexueux ou dressés, semblable aux hyphes. Ceux-ci présentent des chaînes d'améroconidies unicellulaires, minuscules, ovales, lisses et sphériques à limoniformes avec des extrémités pointues (Photo 45. A2 ; A3).

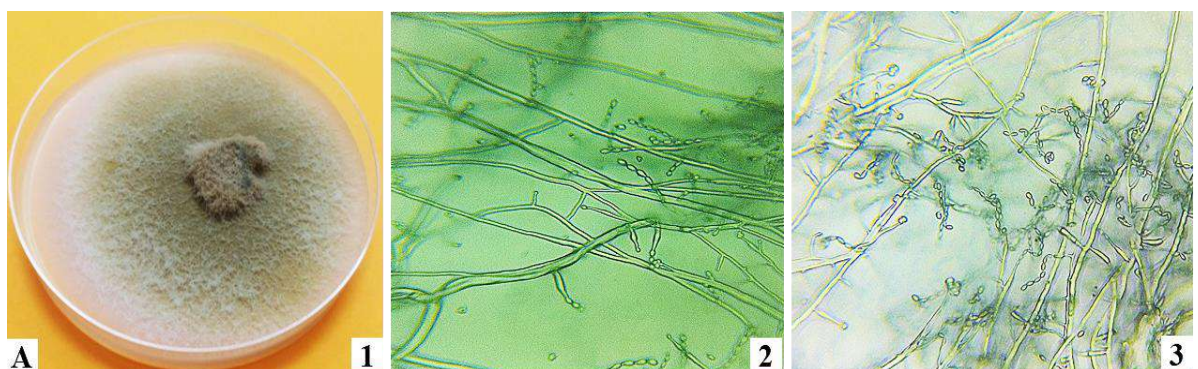


Photo 45. Caractères morphologiques de *Cladophialophora* sp. **A1** : Colonie fongique sur PDA ; **A2 et A3** : Hyphes et conidiophores (G × 40)

III.1.3.- Discussion des résultats

Dans la région de l'Oued Righ, les champignons ont une diversité importante dans les différents sites de culture de la tomate en dépit du système de production adopté (sous serre ou en plein champs). Il se trouve qu'une espèce cryptogamique se présente dans toutes les stations alors que l'autre soit éventuellement manifesté. Pareillement, il s'avère qu'un agent fongique soit présent sur tous les organes de la plante sujette alors que d'autre attaque un seul organe (Annexe 5).

La présente étude a dévoilé une caractérisation d'un nombre important de mycoflore aérien et tellurique soit un total de 38 agents fongiques appartenant à trois grandes divisions fongiques. La majorité des espèces se regroupent sous la division d'Ascomycètes (*F. oxysporum* spp., *S. sclerotiorum*, *Monilinia* sp., *Alternaria* spp., *Didymella* spp., *Ulocladium* sp., *Cladosporium* sp., *Stemphylium* spp., *T. roseum*, *B. cinerea*, *Trichoderma* spp., *Neotyphodium* sp., *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp., *A. niger*, *A. flavus*, *Cladophialophora* sp.). Celles-ci sont suivies par deux Basidiomycètes appartenant au genre de *Rhizoctonia* et un seul Zygomycète représenté dans le genre de *Rhizopus*. Les résultats rejoignent l'étude d'AGRIOS (2005) qui a rapporté qu'une culture de tomate peut être attaquée par plus de 40 espèces de champignons.

Outre, les désordres phytopathologiques qui ont vraiment causé des dégâts sévères sur la tomate sont ceux de *F. oxysporum*, *S. sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp. et *Cladosporium* sp. L'ensemble qui reste constitue soit des contaminants silencieux qui n'engendrent aucun symptôme ou ils causent des symptômes insignifiants. D'autres sont symbiotes, inoculum secondaires ou saprophytes associés à la plante ou à son environnement. Alors que d'autres isolats se considèrent comme des endophytes dont certains sont bénéfiques à la plante à l'image des espèces de *Trichoderma*.

Peu de travaux, effectués dans la même région, ont étudié la flore fongique qui peut se trouver sur la tomate où sur d'autres cultures maraichères. Nos résultats sont en continuum avec un travail identique précédent mené dans la même région (Timacine, Nezla, Zaouia Abidia, Megarine et Barkadjia) qui a listé 12 espèces fongiques dont sept phytopathogènes (*T. roseum*, *B. cinerea*, *S. sclerotiorum*, *C. fulvum*, *Alternaria* sp. et *S. solani*, *F. oxysporum*) et deux saprophytes à savoir : *Penicillium* sp. et *A. niger* (BENLAMOUDI, 2016). Ces pathotypes sont en conformité également avec les travaux de DEKKOUMI (2016), OUARGLI (2017) et LAKHDARI et al. (2017) qui ont été effectués sur la même culture et

dans la même région. LAKHDARI *et al.* (2020) ont également isolé différents isolats de *Trichoderma* qui sont utilisés dans la formulation d'un bio-stimulant de croissance des plantes.

De plus, les résultats sont également en accord avec ceux rapportés dans les études d'EGEL et SAHA (2015), SANOUBAR et BARBANTI (2017), DEBBI *et al.* (2018) ainsi que KUMAR *et al.* (2018). Ces auteurs ont répertorié davantage d'autres agents causaux de maladies fongiques sur tomate à savoir : *Septoria lycopersici*, *Colletotrichum* spp., *Verticillium* spp., *Phytophthora* spp., *Phytium* spp., *Oïdium* spp., *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopercisi* et *Leveillula taurica*. Ces désordres phytopathologiques sont le plus souvent signalés sur les climats humides et tempérés.

Par ailleurs, KALYONCU *et al.* (2005) ont isolé 18 espèces associées à la tomate avant et après la récolte dont *Alternaria alternata*, *F. oxysporum*, *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. et *Rhizopus oryzae* sont les champignons les plus dominants sur la plante sujette. Dans le même contexte viennent les études d'ANDERSEN et FRISVAD (2004), ONUORAH et ORJI (2015), PUNJA *et al.* (2016) ainsi que SAJAD *et al.* (2017) qui ont rapporté les principales pourritures pouvant infecter la tomate après la récolte. Il s'agit de : *Mucor racemosus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus* spp., *Geotrichum candidum*, *Phoma destructiva*, *Sclerotium rolfsii*, *T. roseum*, *Rhizopus* spp., *Colletotrichm* spp., *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Stemphylium* spp. et *B. cinerea*.

Les maladies fongiques peuvent attaquer la plante à n'importe quel stade de son cycle végétatif, parfois elles sont originaires associées aux semences et tissus vivants. En fait, AL ASKAR *et al.* (2014) ont isolé 57 espèces fongiques hébergeant les graines de tomate dont *Alternaria* spp., *F. oxysporum*, *Cladosporium* spp., *Penicillium* sp., *A. niger* et *A. flavus* présentent une fréquence d'apparition très importante. De plus, SALEEM (2010) ainsi que SINNO *et al.* (2020) ont signalé plusieurs espèces fongiques comme endophytes de tissus de la tomate et sa rhizosphère dont *Alternaria* spp., *Fusarium* spp., *Stemphylium lycopersici*, *Aspergillus* spp. et *Penicillium* spp. sont les espèces cryptogamiques les plus isolées.

*Pathogénicité de la
fusariose envers la
tomate*

III.2.- Pathogénicité de la fusariose envers la tomate

Cette partie décrit la méthode d'identification, du genre et de l'espèce, de la souche de *Fusarium* inoculée sur tomate via un test de pathogénicité en utilisant les postulats de Koch. L'évaluation de la virulence a été faite à travers les dégâts induis sur les plantules (sous serre) et les fruits d'une variété de Tafna.

III.2.1.- Description de l'agent phytopathogène

La colonie s'est développée assez rapidement en six jours sur PDA. A travers une comparaison des caractères morphologiques aux clés de détermination, l'espèce est identifiée en tant que *F. oxysporum*. L'aspect morphologique se manifeste d'abord par un mycélium blanc duveteux qui vire vers le rose pâle (Photo 46. 1) qui peut se pigmenter en magenta foncé dans certaines conditions (Photo 46. 2).

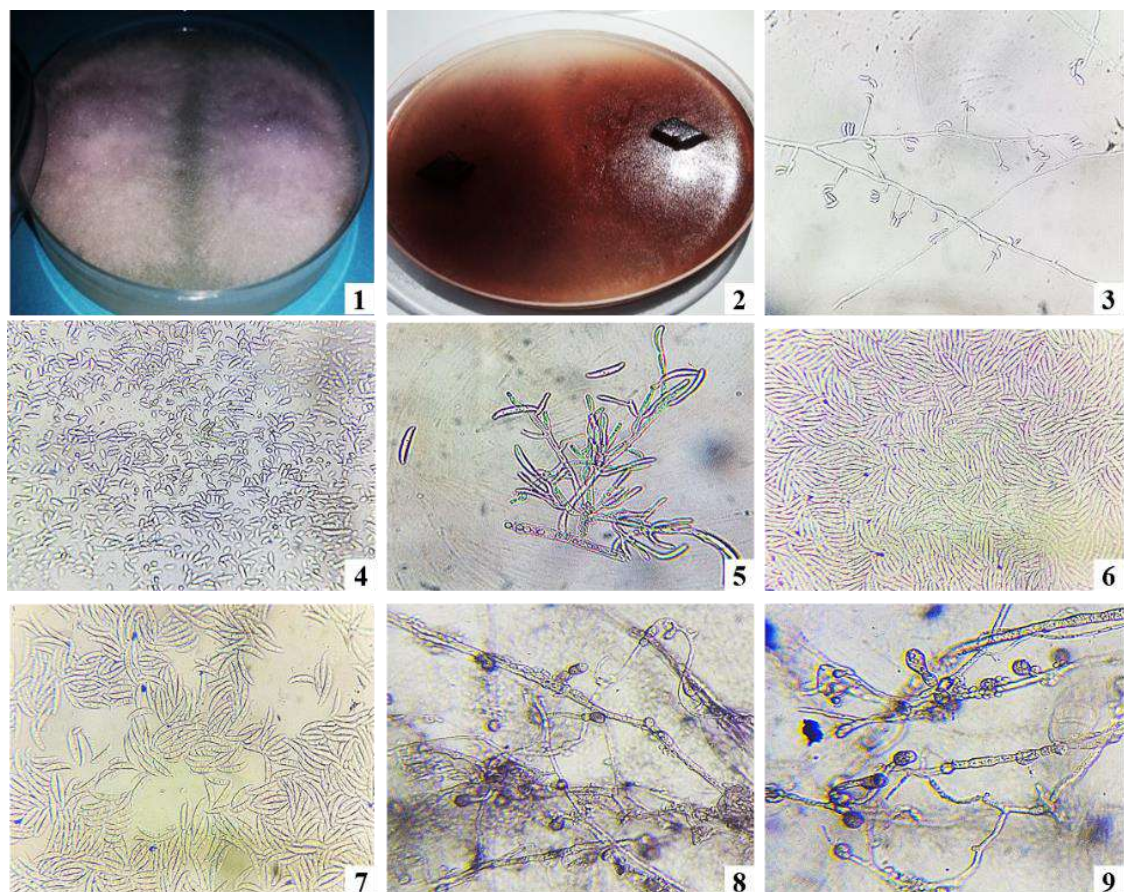


Photo 46. Caractères morphologiques de l'isolat de *Fusarium oxysporum*. **1 et 2** : Aspect macroscopique ; **3 et 4** : Microconidies ; **5** : Conidiophores ramifiés ; **6 et 7** : Macroconidies cloisonnées ; **8 et 9** : Chlamydospores (G × 40)

L'aspect microscopique révèle des courts monophialides portés sur des hyphes cloisonnés (Photo 46. 3) portant des microconidies. Celles-ci sont unicellulaires abondantes et ovales ou ellipsoïdales (Photo 46. 4). Alors que les macroconidies sont scolécospores cloisonnées clairsemées à abondantes et fusiformes dotées de cellules terminales pédicellée sous forme de canot (Photo 46. 6 ; 7). Celles-ci sont portées sur des conidiophores ramifiés (Photo 46. 5). Les chlamydospores, à parois lisses ou rugueuses, sont abondantes et se forment de manière terminale ou intercalaire (Photo 46. 8). Ils sont généralement solitaires, mais ils se trouvent parfois par paires ou par chaînes (Photo 46. 9).

III.2.2.- Confirmation de *F. oxysporum*

Cette étape confirme l'espèce fongique tellurique à travers ses symptômes reproduits sur tomate au même titre que l'évaluation de sa pathogénicité à travers les postulats de Koch.

III.2.2.1.- Inoculation sur plants

Les symptômes induits de l'inoculation de *F. oxysporum* dans des plants de tomates sont typiques à la fusariose (Annexe 6). Il s'agit de jaunissement et flétrissement de parties aériens ainsi qu'un retard de croissance (Photo 47. 2 à 9).



Photo 47. Symptômes de *F. oxysporum* sur les plants de la tomate. **1** : Plants de démarrage ; **2** : Etat des plants à la fin du test ; **3, 4 et 5** : Effet de la fusariose sur les plants ; **6 et 7** : Lésions visibles et sèches sur un côté de la tige

Ceux-ci s'ensuivent par un développement de nécrose brunâtre et sèche visible et étirée sur quelques centimètres d'un seul côté de la tige (Photo 47. 10 ; 11). Les sujets inoculés sont complètement détérioré après un mois de l'attaque par rapport aux plants témoins qui demeurent indemnes (Photo 47. 2).

F. oxysporum a démontré également une virulence élevée envers ladite variété. Après trois observations, les moyennes de l'infection obtenues après 15, 21 et 30 jours sont respectivement d'environ $0,4 \pm 0,25$ (min = 0 ; max = 1), $2,4 \pm 0,51$ (min = 1 ; max = 4) et 4 ± 0 (min = 4 ; max = 4), soit une incidence de maladie respective à 40, 60 et 100% (détérioration complète de tissus végétatifs). Les analyses de variance ont montré un effet significatif de la fusariose sur les plantes inoculées, $t(8) 4,71$, $p = 0,002$ avec une évolution significative de pathogénicité appliquée sur les sujets tout au long du test, $F(2) = 46,48$, $p = 0,000$ (Annexe 6).

III.2.2.2.- Inoculation sur fruits

L'inoculation de l'espèce phytopathogène sur les fruits de tomate a manifesté un mycélium blanc duveteux sur les tissus (Photo 48).

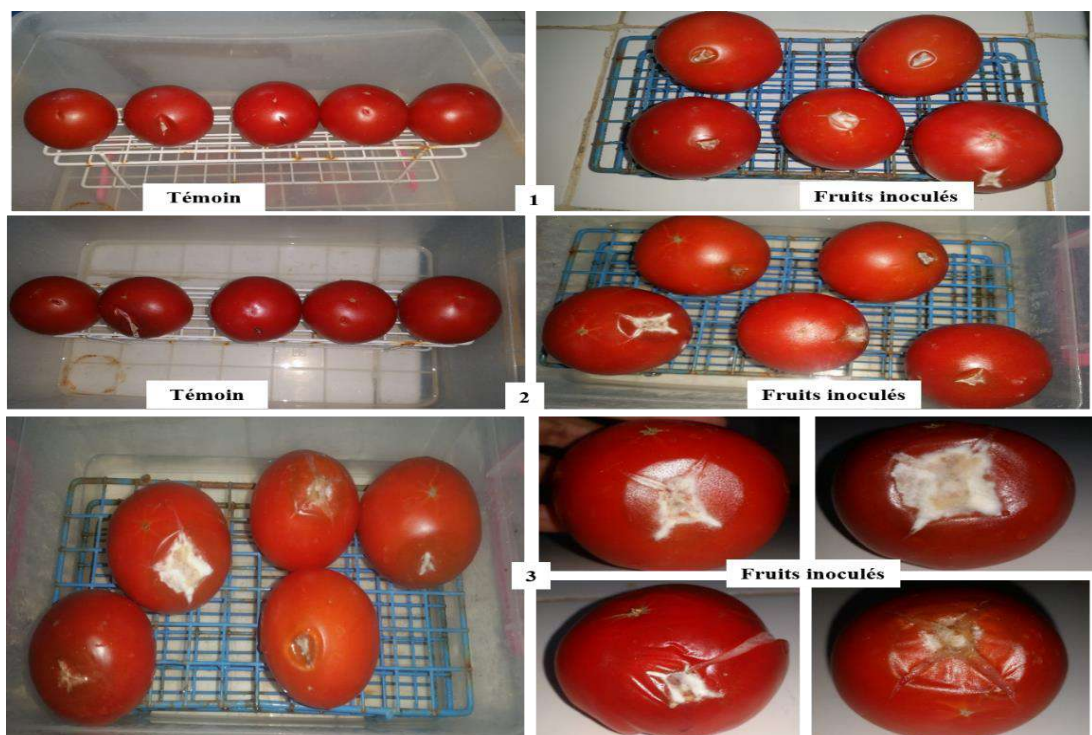


Photo 48. Symptômes de *F. oxysporum* sur les fruits de la tomate. **1** : plants après 11 jours d'inoculation ; **2** : Plants après 13 jours d'inoculation ; **3** : Plants au 16^{ème} jour d'inoculation

Le champignon a incité des lésions légères à modérées de 1 ± 0 ; $1,20 \pm 0,2$ et $1,80 \pm 0,37$ après 11, 13 et 16 jours d'évaluation respectivement (Annexe 7). Au-delà de 16^{ème} jour d'inoculation, les fruits sont devenu détériorés et mous alors des symptômes insignifiants sont remarqués sur ceux de témoin. L'analyse de variance confirme cette constatation ou la fusariose a montré un effet significatif sur les sujets inoculés, $t(7) 4,24$, $p = 0.004$ (Annexe 7).

III.2.3.- Récupération de l'agent phytopathogène

Le ré-isolement du pathotype inoculé à partir d'échantillons de pétioles (Photo 49. 1 ; 2), feuilles (Photo 49. 1 ; 4) et racines (Photo 49. 3 ; 4) a montré des propriétés de colonies identiques à celles de départ. Alors que le témoin n'a manifesté aucun développement du mycélium à l'exception de quelques colonies saprophytes.

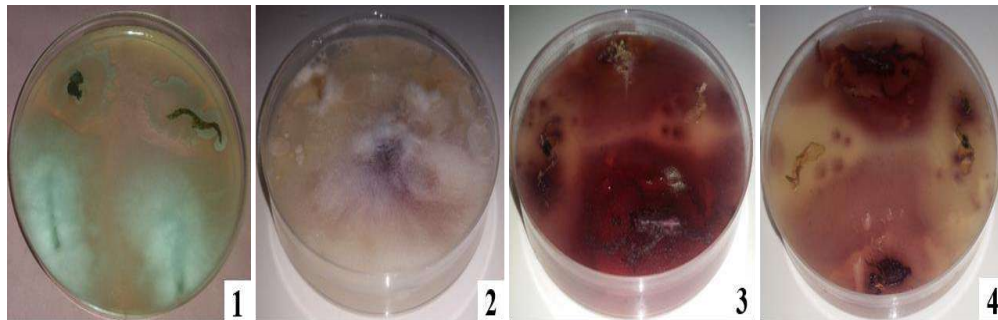


Photo 49. Récupération de *F. oxysporum* à partir de tomates inoculées. **1 et 2** : Colonies apparues à partir de pétioles ; **1 et 4** : Colonies apparues à partir de feuilles ; **3 et 4** : Colonies apparues à partir de racines

III.2.4.- Discussion des résultats

En se basant sur les caractères morphologiques du champignon, l'espèce est conforme définitivement à celle de *F. oxysporum* (SUMMERELL et al. 2003 ; LESLIE et SUMMERELL 2006 ; SMITH, 2007 ; CAMPBELL et COLL, 2013). En fait, tous les symptômes enregistrés sur les plants de tomate inoculés sont fortement typiques à la maladie du flétrissement fusarien causée par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. BLANCARD (2012) a bien détaillé les symptômes de cette espèce et l'a comparé avec ceux de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. D'une part, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* induit des lésions visibles sur un côté de la tige où elle décolore et assèche les tissus. Les plants affectés présentent une croissance réduite, feuilles jaunes avec une flétrissure complète de la plante. D'autre part, des symptômes identiques peuvent se manifester sur la tomate atteinte de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-*

lycopersici mais ceci produit un chancre brun sur le collet qui s'étire vers le haut en sorte de flamme (BLANCARD, 2012). Cet agent est également causal de la décomposition et la pourriture des racines de tomate (BENAOUALI et al., 2014 ; MANZO et al., 2016), le cas absent dans notre étude.

En outre, l'inoculation de fruits de tomate a montré qu'entre les deux agents suspectés, seulement *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* est connu pour être responsable de la pourriture de fruit de tomate, en particulier lors du stockage (BLANCARD, 2012, IGNJATOV et al., 2012). Dans la présente étude, l'agent phytopathogène a induit des lésions légères à modérées sur les fruits inoculés. De ce fait, la forme spéciale de l'agent phytopathogène enquêtée s'agit probablement de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Néanmoins, Cette constatation devait faire l'objet d'une identification moléculaire afin d'obtenir une caractérisation génétique définitive à l'espèce.

Outre, la récupération de l'agent phytopathogène inoculé a figuré que les organes les plus infectés sont les racines et les feuilles. LESLIE et SUMMERELL, (2006) ont avancé que le tissu végétal à partir duquel l'agent phytopathogène est récupéré consiste en celui le plus touchée par la maladie. Cela signifie que *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a colonisé les racines des plantes, circulé avec la sève dans les vaisseaux puis induit d'énormes dégâts sur les feuilles en marquant un fort pouvoir pathogène envers le cultivar de tomate testé.

*Potentiel de T.
asperellum à l'égard
de F. oxysporum f.
sp. lycopersici*

III.3.- Potentiel de *T. asperellum* à l'égard de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Les résultats de trois tests d'antagonisme, effectués *In Vitro*, de *T. asperellum* vis-à-vis du champignon de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* de la tomate sont représentés dans cette partie après une brève description de l'espèce antagoniste utilisée.

III.3.1.- Description de l'agent antagoniste

Après des repiquages successifs de *T. asperellum*, la colonie obtenue sur le milieu sélectif de *Trichoderma* montre un développement aisé en peluches vertes qui deviennent laineuses en formant des cercles concentriques correspondant à la conidiogénèse (Photo 50).

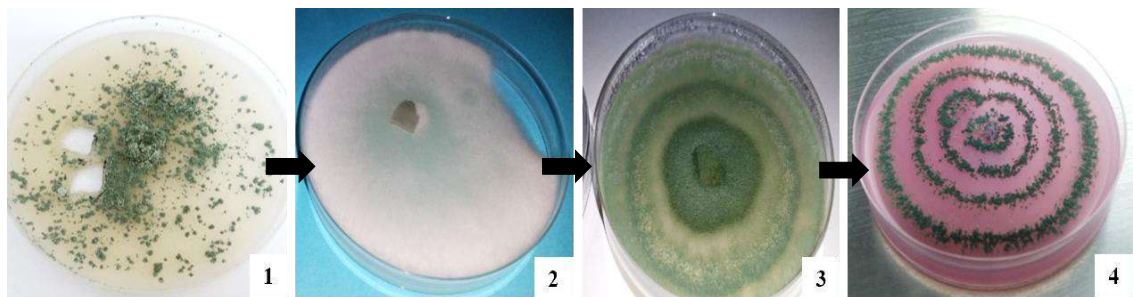


Photo 50. Culture de *T. asperellum* sur milieux de cultures. **1** : Colonie d'un aspect conidien dispersé ; **2** : Colonie engendrée après une culture monospore ; **3** : Développement régulier sur PDA ; **4** : Développement régulier et aisé sur un milieu sélectif

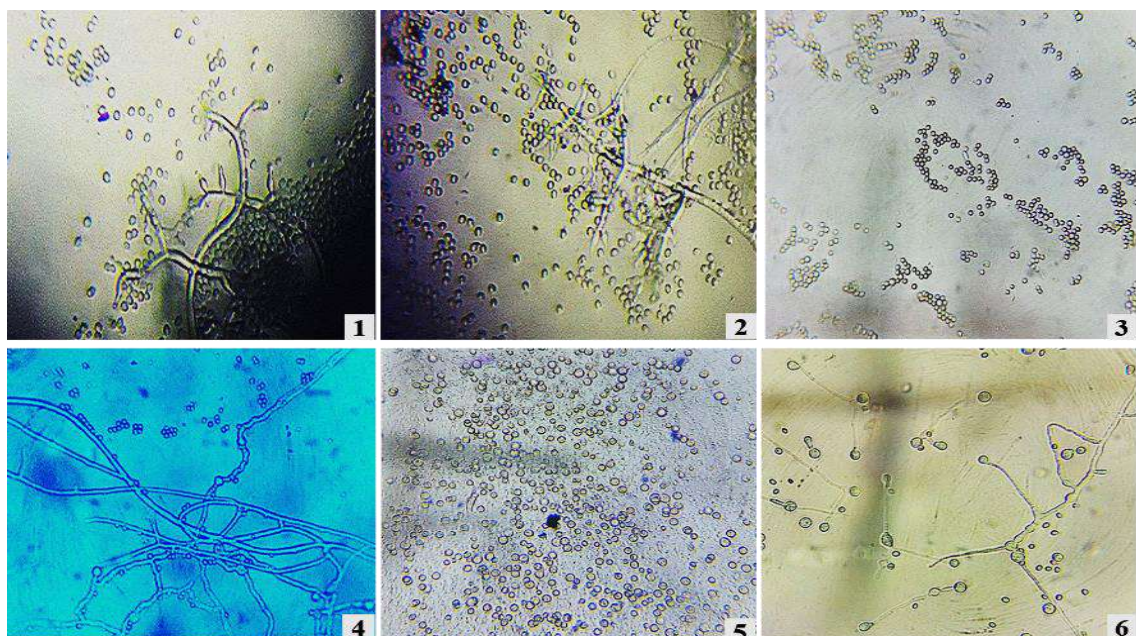


Photo 51. Structures microscopiques de *T. asperellum*. **1 et 2** : Conidiophores et hyphes ; **3** : Améroconidies minuscules ; **4, 5 et 6** : Chlamydospores (G × 40)

L'aspect microscopique le plus typique de *T. asperellum* révèle des conidiophores ramifié, courts et perpendiculaires (Photo 51. 1) aux hyphes hyalins cloisonnés (Photo 51. 2 ; 4). Les améroconidies sont abondantes, minuscules, unicellulaires et sphériques à parois lisses (Photo 51. 2 ; 3). L'espèce peut produire des chlamydoconidies abondantes (Photo 51. 6).

III.3.2.- Résultats de tests d'antagonisme

Le taux d'inhibition optimal de *T. asperellum* est révélé à travers les dernières mesures de développement des colonies de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Annexe 8). Au bout de six jours d'incubation, les boîtes des lots témoins sont totalement envahies par le mycélium phytopathogène. Les résultats indiquent que *T. asperellum* est un agent fongistatique efficace contre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en raison de ses mécanismes qui ont inhibé le développement des mycéliums virulents dans les trois tests mentionnés (Photo 52). Des valeurs intéressantes d'inhibition de l'ordre de 70,82, 65,65 et 48,71% sont respectivement obtenues avec les modes d'action de mycoparasitisme, compétition et antibiose.

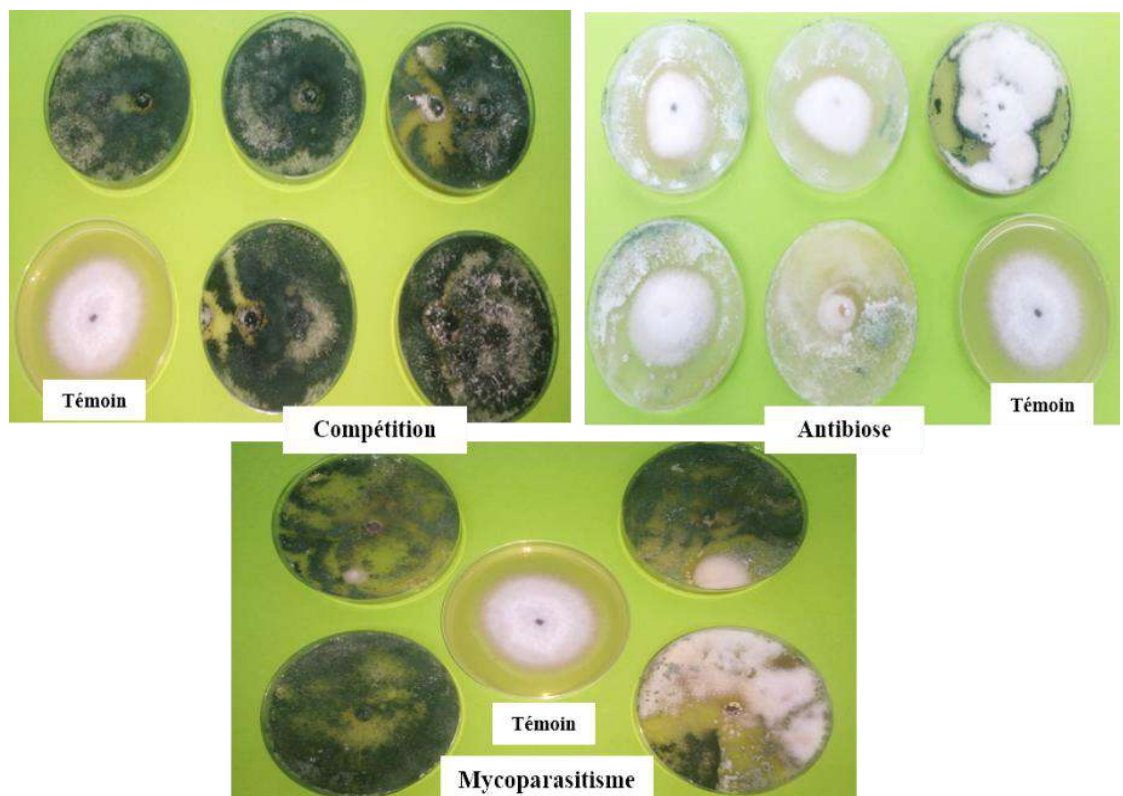


Photo 52. Effet inhibiteur de *T. asperellum* vis-à-vis *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* dans les conditions contrôlées, après 6 jours d'incubation

L'analyse de la variance ANOVA, menée sur les mesures radiales moyennes du dernier jour (Fig. 1), a démontré un effet significatif de *T. asperellum* sur la cinétique de croissance du champignon vasculaire avec tous les tests appliqués, $F(3, 16) = 17, p = 0,000$ (Annexe 8). Des comparaisons multiples, en utilisant un test Tukey, ont dévoilé que cet effet est le résultat de la différence significative entre deux groupes homogènes soient le lot témoin et celui de tests appliqués (Annexe 8).

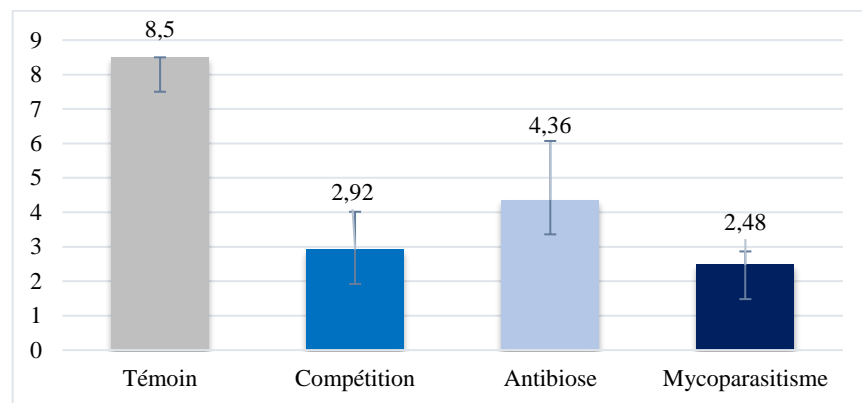


Figure 1. Développement mycélien (cm) de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en présence directe et indirecte de *T. asperellum*

Il est à noter que le développement mycélien de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* n'a vraiment commencé, avec le test mycoparasitisme, qu'au troisième jour de sa soumission aux excréments de *T. asperellum* diffusés dans le milieu. De plus, dans les conditions avancées de ce test, la couleur des colonies de l'agent phytopathogène sont radicalement changés en un tapis mycélien bleu (Photo 53. 3) par rapport aux colonies blanches du témoin (Photo 53. 1).

D'ailleurs, les observations microscopiques, effectuées à la fin des tests, ont montré qu'après son exposition à l'antagoniste, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* présente d'autres altérations morphologiques remarquables, surtout sur les macroconidies.

D'une part, celles-ci sont transformées en bâtonnets épais présentant parfois un léger gonflement visible au milieu ou aux extrémités de la structure (Photo 53. 4 à 11). Certaines ont subi une réduction de segmentation des spores en deux irréguliers (Photo 53. 7) par rapport au 3 à 4 du témoin. D'autre part, la présence de *T. asperellum* dans le milieu a également incité l'agent phytopathogène de produire les chlamydo-spores, en sorte de réponse au stress, pour qu'il puisse résister aux conditions défavorables (Photo 53. 12).

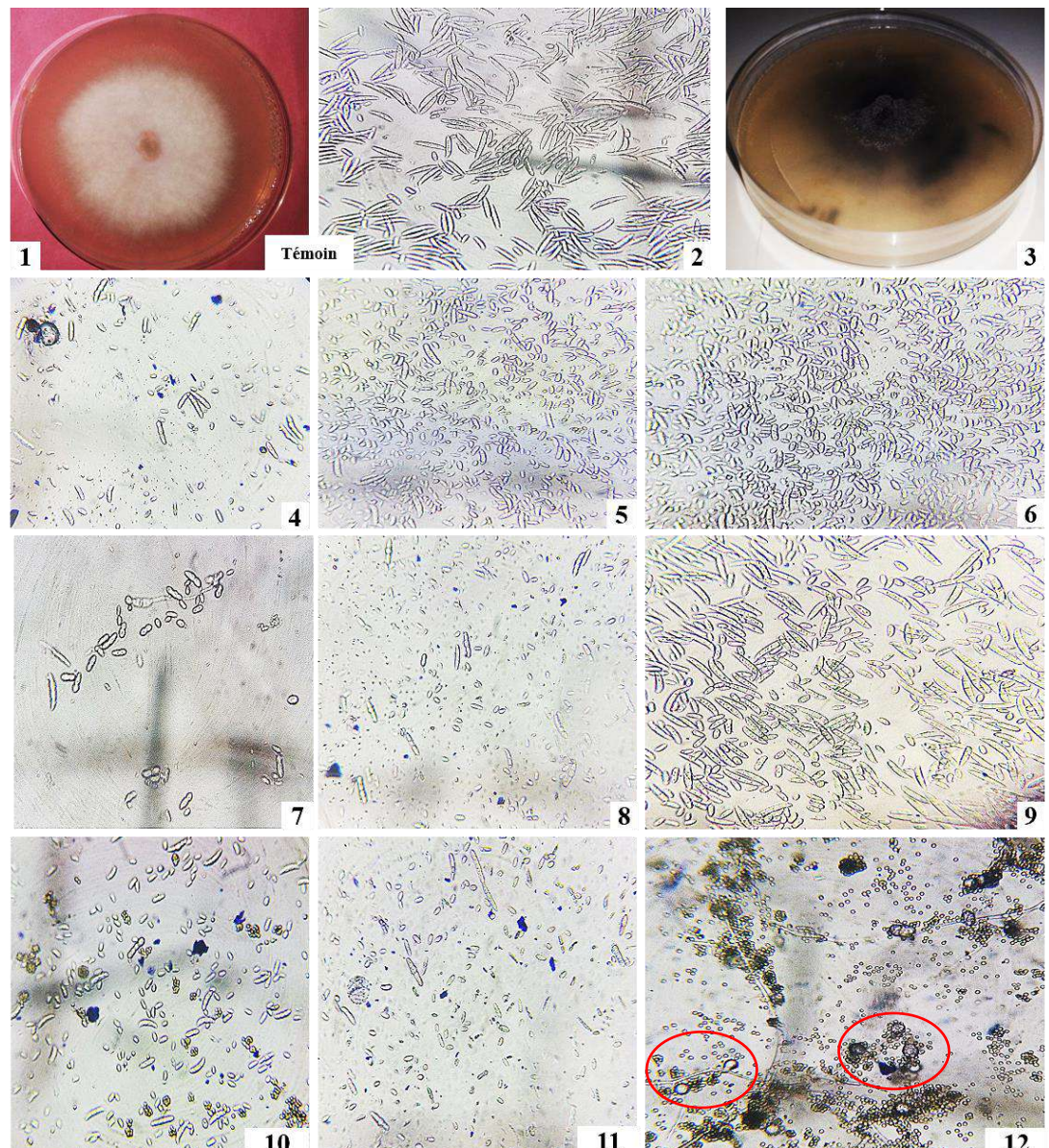


Photo 53. Altérations morphologiques de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* provoquées à la suite de son exposition à *T. asperellum*. **1 et 2** : Aspect morphologique de la colonie témoin ; **3** : Colonie altérée ; **4 à 11** : Différentes altérations morphologiques des spores ; **12** : Apparition des chlamydospores (G × 40)

III.3.3.- Discussion des résultats

La présente étude a démontré que *T. asperellum* exhibe un réel potentiel antagoniste contre la fusariose de la tomate examinée. En effet, la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* est ralentie par trois mécanismes avec des taux différents. Le mycoparasitisme et la compétition semblent être les mécanismes les plus efficaces contre l'agent de la flétrissure fusarienne de la tomate, soient des taux d'inhibition supérieurs à 65 % sont obtenus en six jours. Cette situation a également été avancée par plusieurs chercheurs qui

ont suivi la même technique de confrontations (directe et indirecte) dans les conditions contrôlées sur le milieu de culture (PDA). Un résultat similaire (plus de 65%) à ceux enregistrés dans cette étude (mycoparasitisme et compétition) a été enregistré, au terme de quatre jours d'incubation, en confrontant *T. harzianum* directement aux quatre isolats de *F. oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* de la tomate (HIBAR et al., 2005). Les mêmes auteurs ont obtenu un pourcentage de 63%, en six jours, dans le test d'antagonisme à distance, soit une valeur très importante que celle obtenue dans cette étude (48,71%). Tandis qu'après sept jours d'exposition à l'antagoniste, la croissance mycélienne du *F. oxysporum* f. sp. *cubense* testé a été inhibée de 24 jusqu'à 44% en utilisant *T. harzianum* (NAPITUPULU et al., 2019).

Non seulement grâce au pouvoir inhibiteur de l'isolat, *Trichoderma* peut exercer un effet fongistatique qui se diffère également selon les espèces antagonistes et phytopathogènes utilisées. JIANG et al. (2018) ont testé 380 isolats appartenant à 21 espèces de *Trichoderma* contre *F. oxysporum*, isolé de la tomate et le concombre, dont le taux d'inhibition se fluctue entre 10 à 70%, obtenu après dix jours de l'expérimentation. De même, l'effet compétitif de *T. koningii*, *T. harzianum* et *T. virens* a révélé des taux d'inhibition très intéressants de l'ordre de 55, 67 et 75% respectivement contre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, obtenus au terme de sept jours (SINGH et al., 2019). Toutefois, l'inhibition ne dépasse pas 49% avec 12 souches de *T. asperellum* à l'égard de *F. dlamini* et *F. solani* respectivement (DUARTE-LEAL et al., 2017).

En réalité, le pouvoir inhibiteur de *Trichoderma* spp. à éliminer les agents phytopathogènes dépend en particulier d'un mécanisme appliqué par l'antagoniste à la faveur d'un autre. Durant leur travail sur le pouvoir de compétition de sept espèces de *Trichoderma* vis-à-vis *F. oxysporum* f. sp. *melongenae*, CHERKUPALLY et al. (2017) ont démontré des résultats plus intéressants, en cinq jours, avec *T. harzianum* (81,11%), *T. koningii* (80%), *T. pseudokoningii* et *T. viride* (78,88%), *T. virens*, *T. atroviride* ainsi que *T. reesei* (77,77%). Néanmoins, ces pourcentages ont été diminués lors d'un test antibiose, soient des chiffres de 54,44, 28,88, 44,44, 48,88, 43,33, 47,77 et 51,11 % ont été notés, en sept jour, avec les même espèces respectivement.

En outre, le potentiel antibiotique modeste de *T. asperellum* (moins de 49%) vis-à-vis *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* explique une résistance développée par l'agent phytopathogène. Cependant, ce test se soutient enfin par le mécanisme d'une compétition qui a lieu à la suite de l'envahissement du fond de la boîte, porteur de l'agent phytopathogène, par

l'antagoniste. Les recherches ont expliqué que la capacité de *Trichoderma* spp. à entraver la croissance mycélienne des agents phytopathogènes est due à ses pouvoirs fongistatiques physiques et métaboliques. HIBAR et al. (2005), OTADOH et al. (2011) ainsi que CHERKUPALLY et al. (2017) ont rapporté que les hyphes de l'antagoniste se développent et s'enroulent autour des hyphes de *F. oxysporum*. Ceci est suivi par une dégradation de la paroi cellulaire et une coagulation cellulaire du même agent phytopathogène (OTADOH et al., 2011; LEON-AGUILAR et al., 2012) grâce aux métabolites actifs.

En réalité, les composés volatiles s'impliquent dans ces processus. En présence de ceux-ci, RAZA et al. (2013) ont remarqué que *F. oxysporum* est incapable de produire ses propres pigments. Alors que BENITEZ et al. (2004), GVEROSKA et ZIBEROSKI (2012) ont rapporté des anomalies des caractères culturels des agents phytopathogènes, suite à une application de *Trichoderma* spp., entre autres, les altérations chlorotiques des colonies, l'aspect mou du mycélium et la sporulation fortement gênée.

Néanmoins, il est difficile de préciser lesquels des métabolites sont impliqués dans les tests de confrontations directes et indirectes. ZHANG et al. (2014) ont noté que même la colonisation rapide de *Trichoderma* pour tirer profit de l'espace et de la nutrition révèle un effet concurrent qui peut mis en jeu en sécrétant tant d'enzymes et métabolites volatiles contre *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*.

Outre, les tests faits au laboratoire pour vérifier le potentiel d'une souche antagoniste ne révèlent pas un effet certain. HOWELL (2003) a conclu que la forte capacité biologique de *Trichoderma* obtenue dans les conditions contrôlées, peut probablement être influencée sur des cultures *In Situ*. Comme, l'exposition de *Trichoderma* à l'environnement dépend de sa survie, persistance et sa dispersion dans le biotope récepteur.

Pouvoir

écophysiologique de

T. asperellum

III.4.- Pouvoir éco-physiologique de *T. asperellum*

Cette étude dévoile la capacité de *T. asperellum* à croître sur différentes sources carbohydratées ainsi qu'à surmonter quelques conditions abiotiques à savoir : la salinité et la température.

III.4.1.- Effet de différentes sources de carbone sur la croissance de *T. asperellum*

La croissance mycélienne de *T. asperellum* sur différents milieux a permis de révéler l'importance du carbone comme source nutritive à l'antagoniste (Annexe 9). Les colonies ont diffusées des cercles réguliers bien délimités sur les milieux à base de carotte, PDA et sélectif. Alors que ces zones se condensent sur les milieux à base de datte et betterave en raison de la sporulation largement dégagée. Sur le milieu d'avoine, le développement mycélien est également réussi mais d'une façon irrégulière (Photo 54).

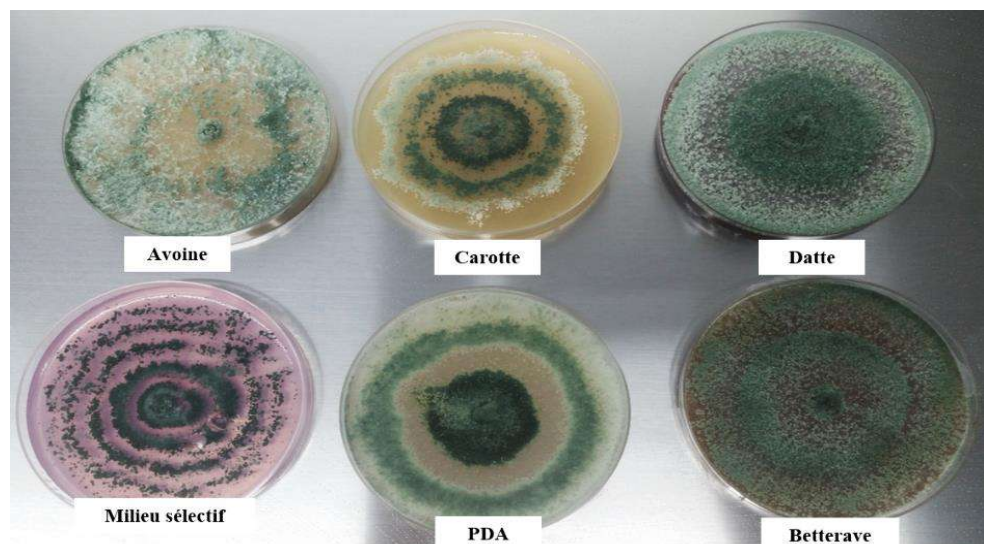


Photo 54. Développement mycélien de *T. asperellum* sur différentes sources glucidiques

Les mesures du diamètre, en centimètres, des colonies développées ont indiqué que la croissance mycélienne de *T. asperellum* semble être très favorisée dans la présence de saccharose, maltose, fructose et glucose naturel fournies respectivement dans les milieux à base de betterave, avoine et datte. Les moyennes enregistrées, lors du quatrième jour de l'essai, avec ces sources nutritives sont très importantes de l'ordre de $6,4 \pm 0,72$; $7,6 \pm 0,57$ et $8,04 \pm 0,05$ cm/ j respectivement. Par contre, l'espèce antagoniste a vécu une faible croissance, en ce jour-là, sur les autres substrats soient des valeurs moyennes ne dépassant pas $3,84 \pm 0,5$ cm/ j. Au-delà de cette période, toutes les sources carbohydratées testées deviennent

appropriées à *T. asperellum* car l'espèce a pu envahir toutes les boîtes de Pétri (Fig. 2). D'ailleurs, le prélèvement de pH à la fin du test a dévoilé une alcalinisation des substrats à base d'avoine, carotte, betterave et milieu sélectif soit des valeurs obtenues de 6, 6, 6 et 5 comparativement à celle de démarrage qui sont de 2, 3, 4 et 4. Alors que le milieu à base de datte ainsi que le PDA n'ont pas subi un grand changement de pH.

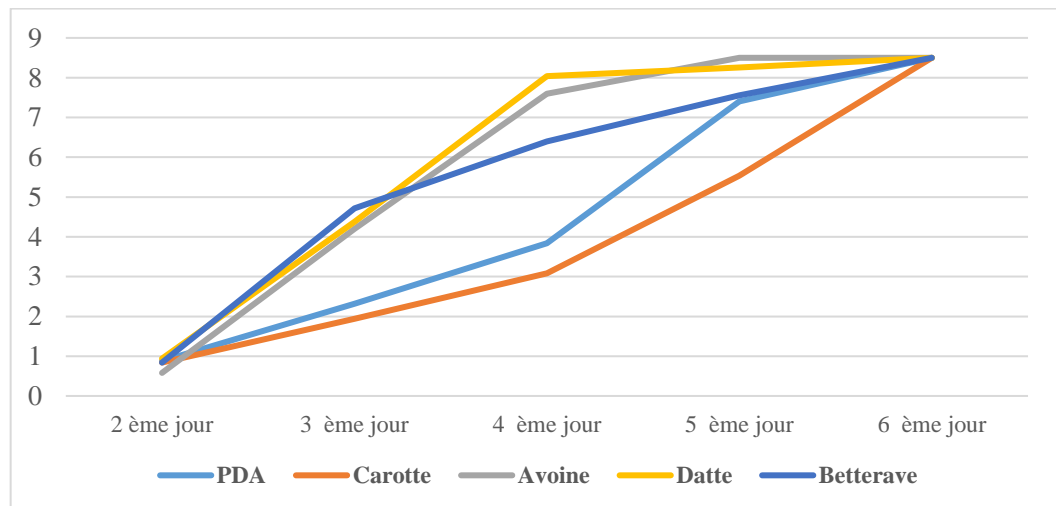


Figure 2. Croissance mycélienne de *T. asperellum* (cm/ j) sur différentes source carbohydratees

L'analyse de la variance confirme l'effet significatif de différentes sources glucidiques sur la cinétique de croissance mycélienne, $F(5) 24,50$, $p = 0,000$ (Annexe 9). Outre, des tests de Friedman ont enregistré une évolution temporaire significative de colonies dans chaque milieu carbohydratee soient le milieu sélectif, PDA, carotte, avoine, datte et betterave, $\chi^2(7) = 33,50$, $p = 0,000$; $\chi^2(7) = 33,78$, $p = 0,000$; $\chi^2(7) = 34,17$, $p = 0,000$; $\chi^2(7) = 34,17$, $p = 0,000$; $\chi^2(7) = 35$, $p = 0,000$ et $\chi^2(7) = 35$, $p = 0,000$ respectivement (Annexe 9).

III.4.2.- Effet de la salinité et la température sur la croissance de *T. asperellum*

Cette partie dévoile la capacité de *T. asperellum* à tolérer différents niveaux de salinité et de température à travers l'évaluation de la croissance mycélienne et la sporulation de l'antagoniste.

III.4.2.1.- Effet de la salinité et la température sur le développement mycélien de *T. asperellum*

Le développement mycélien s'arrête carrément sous les températures les plus extrêmes exposées au champignon qui sont de 9, 16 et 40 °C. Les mêmes lots ont de nouveau récupéré leur potentiel à 27, 30 et 35 °C (Annexe 10). Cependant, *T.*

asperellum montre une meilleure performance aux températures moyennement élevée qu'à un stress thermique optimal. Une comparaison inter-groupe révèle que les températures de 27 à 30 °C présentent un optimum de croissance mycélienne du champignon au sein de tous les lots salins, y compris le témoin. Alors que la température de 35 °C a exhibé une réduction de développement remarquable. Eu delà de la période du test (4 jours) les colonies de *T. asperellum* se développent et sporulent de manière aisée et similaire (Photo 55).

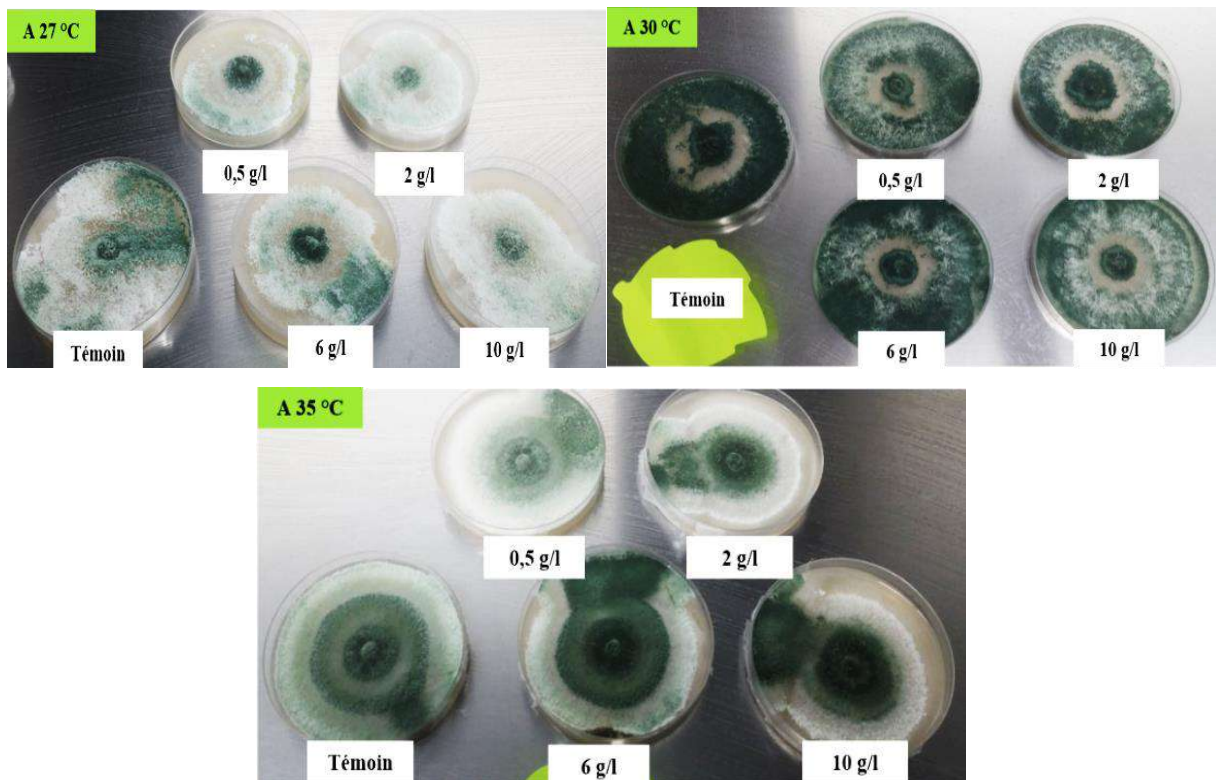


Photo 55. Croissance mycélienne de *T. asperellum* sous différents traitements de salinité et de température

De plus, l'espèce fongique montre une tolérance aux conditions salines des substrats, même celles les plus élevées (Fig. 3). Le stress salin n'exhibe aucun arrêt de croissance du micro-organisme. Une analyse intra-groupe montre un développement favorisé surtout avec la concentration moyennement saline (2g/ l) soient des valeurs moyennes de l'ordre de $8,2 \pm 0,15$, $8,3 \pm 0,13$ et $6,33 \pm 0,49$ cm/ j obtenues en 27, 30 et 35 °C respectivement, vers le deuxième jour du test. Quant aux chiffres moyens témoins sont de $7,03 \pm 0,04$, $6,67 \pm 1,78$ et $5,1 \pm 0$ respectivement. Au-delà de cette dose saline, la croissance mycélienne de ce champignon se réduit progressivement avec les concentrations hyper-salines > 02g/ l.

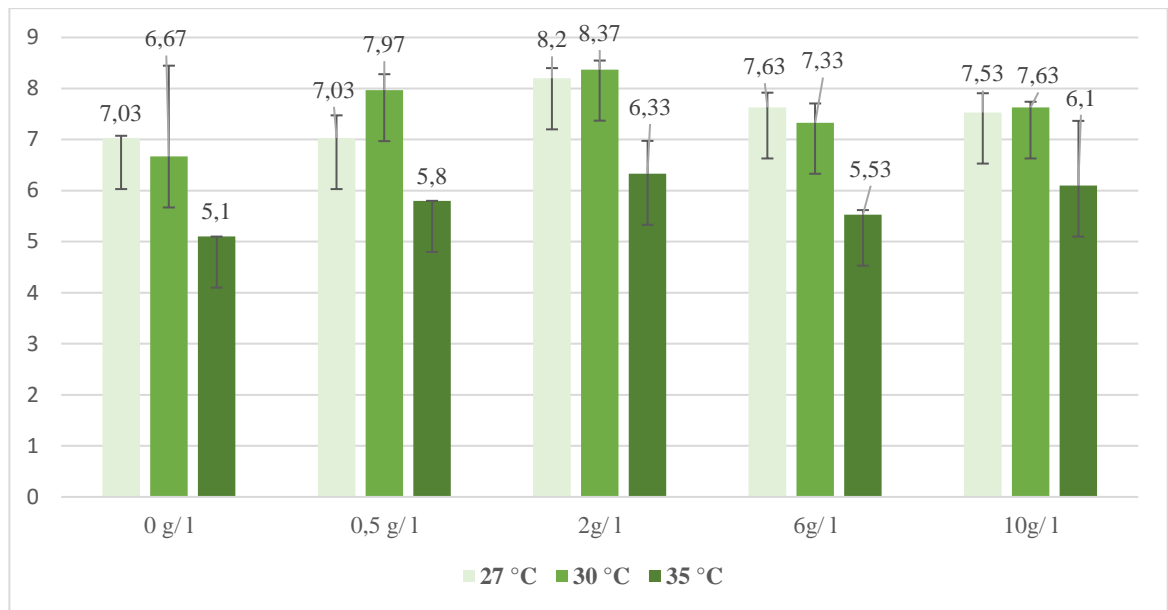


Figure 3. Développement mycélien moyen (cm) de *T. asperellum* sous différents traitements (salinité et température)

Les analyses de variance montre un effet significatif de la salinité exposée au champignon à 27 °C, $F(4) 9,53$, $p = 0,05$. Tandis qu'elles ne présentent aucun effet à 30 °C, $F(4) 7,81$, $p = 0,099$ et à 35 °C, $F(4) 8,11$, $p = 0,09$ (Annexe 10). La vérification du pH du milieu a dévoilé des valeurs stables légèrement acides allant de 5 à 6. Outre, il est à mentionner qu'après une semaine, des cristaux de sels sont formés sur la surface de cultures ce qui a incité l'agent fongique d'y résister et se conserver en chlamydospores à double paroi (Photo 56).

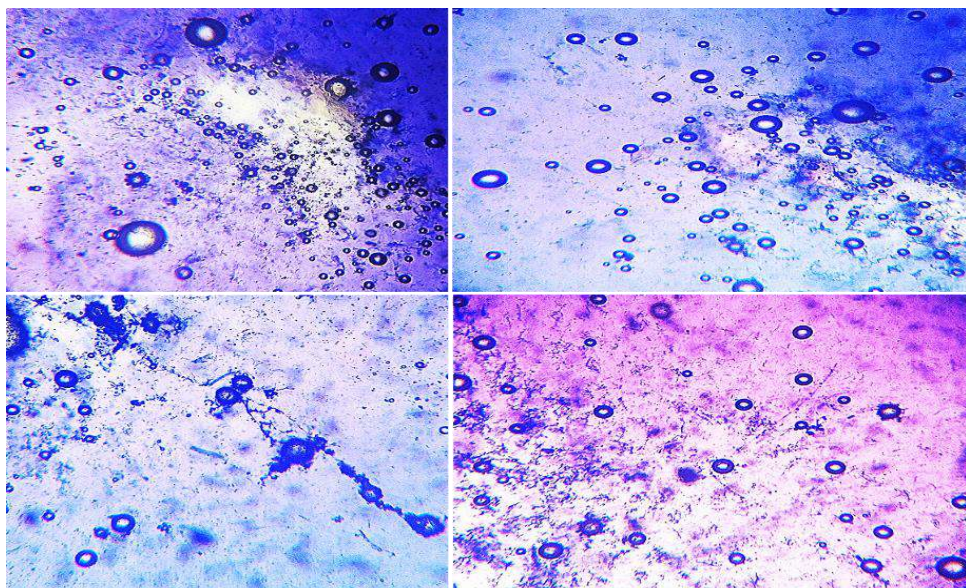


Photo 56. Chlamydospores de *T. asperellum* sous les conditions salines du milieu ($G \times 40$)

III.4.2.2.- Effet de la salinité et la température sur la sporulation de *T. asperellum*

Le champignon montre une grande aptitude à sporuler même sous les conditions salines et les températures élevées (Annexe 11). Des taux optimaux d'absorbance, reflétant la quantité des spores produite, sont enregistrés à 30 °C, sous les différents niveaux salins. Tandis que cette mesure se réduit à 27 et 35 °C (Fig. 4).

En outre, les meilleurs taux d'absorbance sont obtenus avec les lots salés. La sporulation du champignon semble être favorisée en présence de sels soit un pic de $0,309 \pm 0,001$ est noté avec le lot de 6g/l à 30 °C. Les analyses statistiques, en appliquant des tests de Kruskal-Wallis, confirment cette constatation soit des effets significatifs de sels sur la sporulation sont enregistrés à 27 °C : F (4) 10,52, p = 0,033 ; à 30 °C : F (4) 13,52, p = 0,009 et à 35 °C : F (4) 13,01, p = 0,011 (Annexe 11).

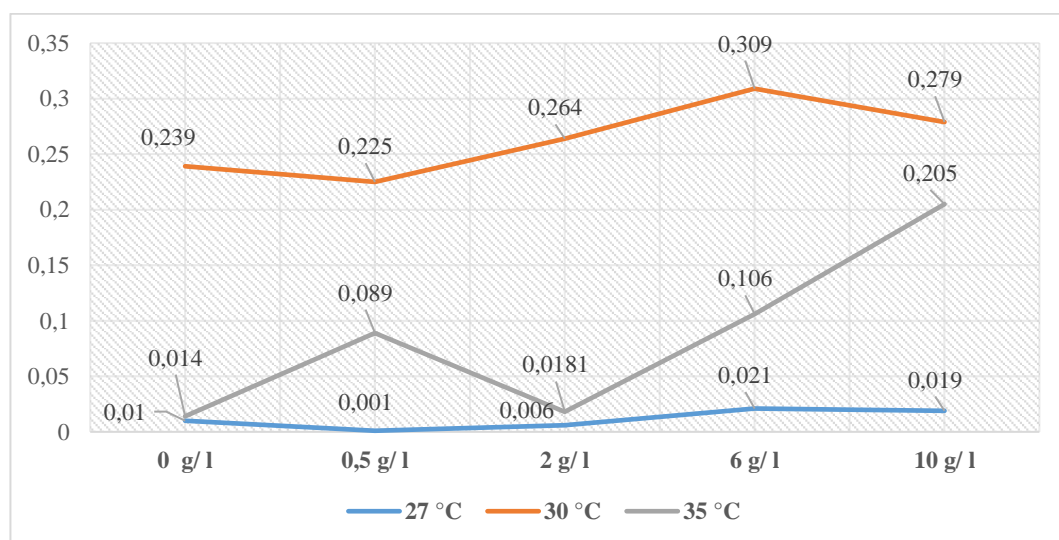


Figure 4. Taux d'absorbance de *T. asperellum* sous différents traitements (salinité et température)

III.4.3.- Discussion des résultats

La croissance mycélienne de *T. asperellum* sur les milieux carbohydratés a dévoilé l'importance du carbone à la nutrition de l'espèce grâce à son profil hétérotrophe. Elle présente un développement cellulaire très rapide surtout à la présence de saccharose, maltose fructose et glucose naturel disponibles dans les milieux à base de betterave, avoine et datte respectivement. Cette situation est en accord avec des études scientifiques similaires menées avec différentes espèces de *Trichoderma*. MONGA (2001) a rapporté que *T. koningii* et *T. viride* présentent une meilleure sporulation en présence de saccharose et fructose

respectivement. Cet auteur a également avancé que *T. koningii* produit une biomasse maximale sur un substrat à base de maltose. ROSSI-RODRIGUES et al. (2009) ainsi que RAJPUT et SHAHZAD (2015) ont montré que le glucose et le saccharose sont les meilleures sources carboniques pour le développement de *T. harzianum*. Toutefois, CHATTANAVAR et COLL. (2006), qui ont travaillé sur la même espèce, ont rapporté que le maltose et le PDA sont les milieux idéals pour la nutrition de l'antagoniste.

En réalité, l'utilisation d'un milieu nutritif à la faveur d'un autre est commode par l'aptitude de l'espèce ou l'isolat à produire des enzymes capables pour hydrolyser les sources glucidiques (VARGAS et al., 2009). Ceci est suggéré dans la présente étude en raison des changements des valeurs de pH, surtout sur les milieux à base d'avoine et de betterave, qui indiquent la présence d'un certain métabolisme d'hydrolyse afin d'utiliser les glucides disponibles dans le milieu.

En outre, le rôle des sucres consiste en l'interaction des plantes avec les micro-organismes de la rhizosphère (MENDOZA-MENDOZA et al., 2017). VARGAS et al. (2009) ont dévoilé qu'une source carbohydratée, quand elle est d'origine végétale, se métabolise par *T. virens* afin de se permettre à coloniser les racines des plantes et induire une meilleure protection.

Par ailleurs, la performance efficace de *Trichoderma* spp. est parfois limitée par différents facteurs agro-climatiques qui peuvent affecter leur potentiel compétitif et leur aptitude de coloniser le sol (POOSAPATI et al., 2014 ; SANCHEZ-MONTESINOS et al., 2019). La présente étude a révélé qu'une température extrême (9, 16 et 40 °C) peut arrêter carrément la croissance du champignon sans affecter négativement sa viabilité. C'est pourquoi les colonies de *T. asperellum* sont relancées avec réussite lorsque des températures favorables se disposent à nouveau. Ce résultat est similaire à celui obtenu dans le travail de POOSAPATI et al. (2014) qui ont exposé la même espèce à un choc thermique de 52 °C pendant quatre heures puis la réactivée à 37 °C où le champignon a révélé une survie importante.

De plus, la présente étude a montré que *T. asperellum* présente un très bon développement mycélien et une forte sporulation à 30 °C, même sous les conditions salines du milieu 2 et 6 g/ l respectivement par rapport à un milieu non salin. Alors que ce paramètre se limite progressivement dans les lots hyper-salins (10g/ l). En fait, l'exposition continue, à des fortes concentrations de sels a subi un mode de conservation de l'espèce à travers la production abondante des chlamydospores. Ceci est en raison de faire surmonter les conditions critiques.

Pareillement, SINGH et *al.* (2014) ont obtenu des résultats similaires de développement de *Trichoderma* spp. à 25 et 30 °C. POOSAPATI et *al.* (2014) ont constaté que la souche de *Trichoderma* (TaDOR673) améliore sa croissance mycélienne lorsqu'elle se trouve exposée à des milieux de salinité élevée (engendrée par NaCl). Cependant les mêmes auteurs ont noté une croissance réduite sous les conditions salines les plus extrêmes car celles-ci ont pu détourner la pigmentation et la sporulation. Ces résultats sont complètement contradictoires aux travaux de SANCHEZ-MONTESINOS et *al.* (2019) qui ont montré que certaines espèces de *Trichoderma* à savoir *T. aggressivum* f. sp. *europaeum*, *T. saturnisporum* et *T. longibrachiatum* ont pu même supporter une concentration saline de l'ordre de 20 g/l (produite par NaCl) sur laquelle elles se développent normalement.

En réalité, les isolats de *Trichoderma* qui sont tolérants aux conditions abiotiques extrêmes sont les plus recherchés dans le domaine de la lutte biologique. C'est pourquoi, certains chercheurs se sont servis d'espèces marines de ce champignon pour les adapter aux sels du milieu lors des essais biologiques *In Vivo* (SANCHEZ-MONTESINOS et *al.*, 2019). D'autres ont explicitement créé des mutations de génome afin d'obtenir de nouvelles espèces capables à survivre à différents milieux agro-écologiques surtout ceux les plus critiques. Dans le même contexte, GUO et *al.*, (2018) ont créé des mutants tolérants à la salinité pour diminuer l'incidence des infections fongiques phytopathogènes sous un stress salin. Pareillement, MOHAMED et HAGGAG (2006) ont produit deux mutants de *T. harzianum* pouvant détenir une capacité de croissance et une sporulation dans les milieux nutritifs contenant jusqu'à 69 mM de NaCl. Les mêmes auteurs ont justifié cette tolérance à la salinité par la production de certains antibiotiques et métabolites actifs pouvant offrir davantage aux antagonistes une efficacité à réduire la croissance de *F. oxysporum*, une fois introduites dans la rhizosphère de la tomate.

*Potentiel In Vivo de
T. asperellum dans
la lutte contre la
flétrissure*

III.5.- Potentiel *In Vivo* de *T. asperellum* dans la lutte contre la flétrissure fusarienne

L'effet de *T. asperellum* dans la lutte contre la fusariose s'est dévoilé à travers un essai biologique préventif et curatif sur les plantes de tomate inoculées par l'agent phytopathogène. La comparaison s'est basée sur un traitement chimique (positif) et un traitement non traité (négatif).

III.5.1.- Essai d'efficacité biologique de *T. asperellum* vis-à-vis la fusariose

L'application de l'antagoniste s'est avérée efficace pour réduire la sévérité du flétrissement fusarien, dans les conditions du terrain, après 55 jours des traitements (Annexe 12). Les plantes traitées par *T. asperellum* ont montré une résistance importante à l'égard de la maladie inoculée soient des valeurs de la réduction d'attaques de l'ordre de 30, 50, 50% obtenues respectivement suite à une application simultanée, préventive et curative de l'antagoniste vis-à-vis l'agent phytopathogène. Quant aux sujets témoins, des symptômes fortement nocifs et typiques à la fusariose (dessèchement partiel ou total et retard de la croissance voire la mort total des plants inoculés) sont manifestés avec une infection complète sur tous les plants inoculés soit une incidence de maladie enregistrée de 100%. Pareillement, l'atteinte à la fusariose est légèrement atténuée de 10% en utilisant le produit chimique de référence Beltanol-L. Les plants de ce lot ont également manifesté des symptômes de flétrissement et jaunissement voire la mort de tous les sujets vers la fin du test *In Vivo*.

L'analyse de variance, en appliquant Kruskal-Wallis, sur les notes obtenues à la fin de l'essai, confirme ces résultats. Il existe une différence significative entre les différents traitements appliqués, $F(4) 10,97$, $p = 0,03$ (Annexe 12).

D'ailleurs, les plantes qui ont reçu un traitement préventif ont montré davantage une bonne croissance végétative au contraire de ceux qui ont reçu *T. asperellum* comme traitement curatif ou appliqué simultanément avec la fusariose. Cependant, quelques plants de tous les lots traités par l'antagoniste ont présenté des signes maladifs induits par la fusariose (altérations morphologiques et mort des sujets traités).

L'inoculation de la maladie sur chaque lot est vérifiée, après 24 (Photo 57), 31 (Photo 58) et 55 jours (Photo 59) en appliquant des tests de Friedman (Annexe 12). La fusariose a démontré une évolution significative au sein du traitement préventif : $\chi^2(2) = 10$, $p = 0,007$; simultané : $\chi^2(2) = 11,14$, $p = 0,004$; curatif : $\chi^2(2) = 6$, $p = 0,050$ et témoin positif :

$\chi^2 (2) = 12,29, p = 0,002$. Quant à ce du témoin négatif (non traité), la maladie a présenté un développement non significatif, $\chi^2 (2) = 5, p = 0,082$.



1 Témoin négatif (*Fusarium* inoculé seul)



2 Témoin positif (*Fusarium* inoculé et traité par Beltanol-L)



3 Traitement préventif (*Trichoderma* puis *Fusarium*)



4 Traitement simultané (*Trichoderma* et *Fusarium*)



5 Traitement curatif (*Fusarium* puis *Trichoderma*)



Comparaison entre les traitements

Photo 57. Plantes de tomate soumises à différents traitements après 24 jours d'inoculation de la fusariose



1

Témoin négatif (*Fusarium* inoculé seul)



2

Témoin positif (*Fusarium* inoculé et traité par Beltanol-L)



3

Traitement préventif (*Trichoderma* puis *Fusarium*)



4

Traitement simultané (*Trichoderma* et *Fusarium*)



5

Traitement curatif (*Fusarium* puis *Trichoderma*)



Comparaison entre les traitements

Photo 58. Plantes de tomate soumises à différents traitements après 31 jours d'inoculation de la fusariose



Photo 59. Plantes de tomate soumises à différents traitements après 55 jours d'inoculation de la fusariose

III.5.2.- Discussion des résultats

Dans la région d'Oued Righ, la fusariose continue à être une maladie fongique vasculaire très agressive envers la culture de la tomate. Généralement, les agriculteurs locaux se servent de moyens de lutte chimique qui, dans la plupart de cas, ne peuvent pas limiter la propagation de l'agent causal, une fois il est installé sur la zone de culture. Les résultats obtenus dans la présente étude indiquent que *T. asperellum* révèle une activité de lutte biologique contre la fusariose soient des pourcentages de réduction de la sévérité de la maladie allant de 30 à 50% par rapport à un traitement chimique (10%). En réalité, il semble que la maladie fongique vasculaire a développé une résistance remarquable vis-à-vis le produit synthétique Beltanol-L. De même, les sujets témoins non traités ont également manifesté des attaques notables et incurables soit une incidence sévère de 100%. Ces résultats rejoignent les travaux récents de DEBBI et *al.* (2018). Les auteurs ont noté que les plantes traitées préalablement (en stade de semences) par des suspensions de *T. ghanense* et *T. asperellum* (isolats collecté en Algérie) puis inoculées par la fusariose montrent une réduction de l'incidence de la maladie se fluctuant de de 20 à 70% alors que les plants inoculés seulement par la maladie de la couronne et de la pourriture des racines de tomate présentent une infection comprise entre 42,5 à 97,5%. De plus, VARGAS-INCIARTE et *al.* (2019) ont appliqué *T. koningiopsis*, en raison de cinq suspensions et pulvérisations, sur des plants de tomate inoculés préalablement par la fusariose. Les mêmes chercheurs ont noté une baisse d'incidence de la maladie atteignant jusqu'à 30% par rapport à un témoin négatif 70%. Pareillement, MONTEALEGRE et *al.* (2005) n'ont observée aucune lésion typique à la fusariose sur les racines ou les collets de tomate après l'application d'une formulation de *T. harzianum* (Th650). Dans le même contexte, BARARI (2016) a développé une formulation de *T. harzianum* pouvant réduire la pathogénicité de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* jusqu'à 14% en comparant par un témoin non traité énormément infecté.

Par ailleurs, les plants traités par *T. asperellum* en amont de la culture semblent développer davantage une vigueur végétative remarquable des sujets par rapport aux autres traitements. Dans le même contexte, plusieurs recherches ont mentionné que l'application des antagonistes identiques, surtout en préventive, révèle davantage une augmentation considérable de quelques paramètres de croissance et de rendement de différentes cultures (YEDIDIA et *al.* 2001 ; BAL et ALTINTAS 2006 ; MOURIA et *al.*, 2008 ; BAE et AL, 2009 ; FERNANDO et *al.* 2018 ; LAKHDARI et *al.*, 2020). Ceci a maintes fois expliqué par la capacité compétitive de *Trichoderma* spp. à prioritairement coloniser la rhizosphère

(CARON et *al.*, 2002 ; CHOU et *al.*, 2019) ainsi que produire des promoteurs de croissance végétale par la stimulation indirecte de l'absorption de nutriments (HOYOS-CARVAJAL et *al.*, 2009 ; SOFO et *al.*, 2011; MUKHERJEE et *al.*, 2013) ce qui induit enfin à une meilleure protection des plantes (ORTIZ-CASTRO et *al.*, 2009 ; LOPEZ-BUCIO et *al.*, 2015).

Néanmoins, il est bien établi que des isolats appartenant à la même espèce antagoniste peuvent présenter un comportement parasitique différent contre des isolats de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* dans les essais *In Vivo* (DEBBI et *al.*, 2018). Une étude sur l'évaluation de l'effet des isolats de *T. harzianum* dans le bio-contrôle de *F. oxysporum* de la tomate, a démontré que les antagonistes ne peuvent pas protéger toutes les plantes contre le même agent phytopathogène (SALAZAR et *al.*, 2011). De même, CARON et *al.* (2002) a souligné que certains isolats de *Trichoderma* ne peuvent pas contrôler certains agents phytopathogènes, mais ils peuvent offrir aux plantes un meilleur développement végétatif afin de résister aux effets néfastes des maladies fongiques.

*Profil métabolique
de T. asperellum*

III.6.- Profil métabolique de *T. asperellum*

Cette partie met en évidence la capacité de *T. asperellum* à produire des métabolites volatiles bioactifs responsable de l'effet antagoniste de l'espèce fongique.

III.6.1.- Métabolites volatiles extraits de *T. asperellum*

Les compositions des extraits hexanolique (Fig. 5), butanolique (Fig. 6) et méthanolique (Fig. 7) sont illustrées dans des chromatogrammes obtenus à partir d'une colonne apolaire de GC-MS.

De nombreux pics majeurs et mineurs, rejoignant l'intensité des composés secrétés, sont progressivement détectés en fonction du temps de rétention de chaque métabolite. Selon cette méthode, un nombre de 84 de différentes structures chimiques est produit grâce à l'antagoniste soit une représentation de 10, 40 et 60 pics détectés respectivement sur le butanol, l'hexane et le méthanol, dont certains sont en commun. Ils appartiennent tous à plusieurs groupes organiques tels que les hydrocarbures (alcènes, alcanes, alcynes, cycloalcènes, cycloalcanes, bicycloalcanes et composés aromatiques), métabolites oxygénés (alcools, aldéhydes, esters, éthers) et composés azotés (amines, amides). De plus, des dérivés chimiques supplémentaires sont révélés tels que : éthers de glycol, anhydride d'acide, acides carboxyliques, halogènes, furanes et terpènes (Annexe 13).

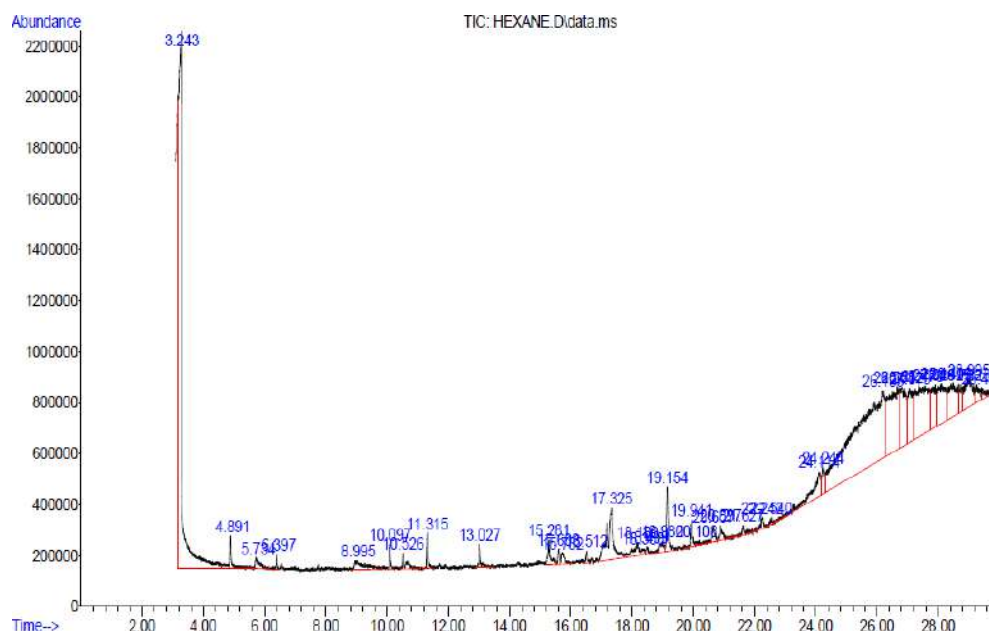


Figure 5. Composés volatiles de l'extrait hexanolique de *T. asperellum* identifiés par GC-MS

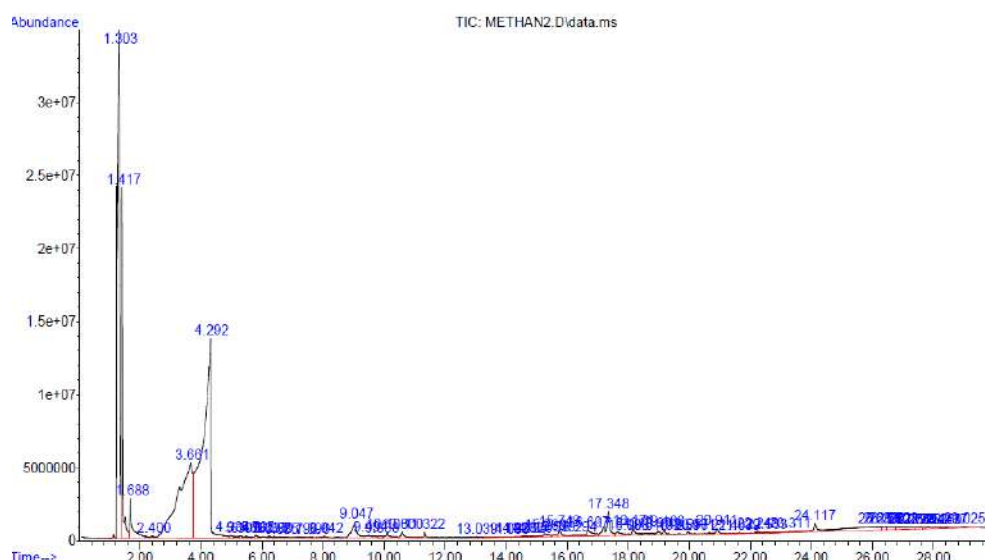


Figure 6. Composés volatiles de l'extrait méthanolique de *T. asperellum* identifiés par GC-MS

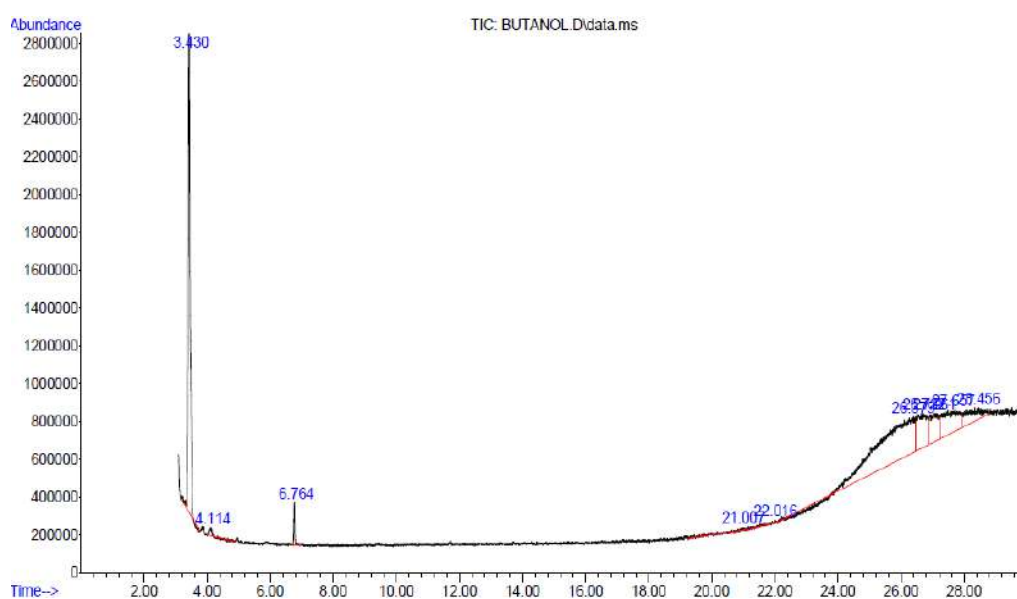


Figure 7. Composés volatiles de l'extrait butanolique de *T. asperellum* identifiés par GC-MS

En effet, l'extrait butanolique de *T. asperellum* (Tab. 1) est riche principalement en acide élaïdique (38,56%), Éther dibutylique (26,37%), 7-Pentadécyne (10,85%) et 13-tétradécenyle acétate (10,7%). Il présente également une abondance modérée d'acide oléique (6,36%), Cyclopropaneoctanal, 2-octyl- (5,38%) et quelques traces de différentes structures (Annexe 13).

Tableau 1. Métabolites volatiles identifiés à partir d'un extrait butanolique de *T. asperellum*

Composé	App.	Pic	TR	Abd.	Grp.
n-Butyl éther	Éther dibutylique	1	3.431	26.37	Ether
9-Octadecenoic acid, (E)-	Acide élaïdique	6	26.378	38.56	Acide gras
13-Tetradecen-1-ol acétate	13-tetradecenyl acétate	7	26.734	10.17	Ester
Acide oléique		8	27.060	6.36	Acide gras
7-Pentadecyne		9	27.656	10.85	Alcyne
Cyclopropaneoctanal, 2-octyl-		10	28.454	5.38	Aldéhyde

App. : Appellation commune selon (NIST) ; **TR** : Temps de rétention ; **Abd.** Abondance (%) ; **Grp.** : Groupe

En outre, l'extrait hexanolique de *T. asperellum* a révélé la présence de 34 composés (représentés en 40 pics) appartenant à différents groupes chimiques (Tab. 2). Ladite extraction est dotée de pourcentages majeurs en acide butanoïque (20,93%) et muscalure (25,03%). Comme elle renferme également des doses plus au moins importantes en acide oléique (11,05%), Olealdehyde (7,37%), Monooleate de glycéryle (3,97%) et 3-Eicosène (3,82%) en compagnie de nombreux éléments chimiques mineurs (Annexe 13).

Tableau 2. Métabolites volatiles identifiés à partir d'un extrait hexanolique de *T. asperellum*

Composé	App.	Pic	TR	Abd.	Grp.
Acide butanoïque	Acide butyrique	1	3.240	20.93	Acide gras
3-Eicosene		14	17.324	3.82	Alcène
9-Octadecenoic acid (Z)- , 2,3-dihydroxypropyl ester	Monooleate de glycéryle	15	18.178	0.87	Ester
		27	24.111	2.29	
		37	28.730	0.81	
Acide oléique		18	18.983	0.45	Acide gras
		23	20.899	0.48	
		26	22.539	0.12	
		33	27.477	7.37	
		38	28.994	2.63	
(Z)-9-Tricosene	Muscalure	29	26.194	25.03	Alcène
(Z)-9-Octadecenal	Olealdehyde	30	26.556	7.37	Aldéhyde

App. : Appellation commune selon (NIST) ; **TR** : Temps de rétention ; **Abd.** Abondance (%) ; **Grp.** : Groupe

En ce qui concerne l'extraction méthanolique de *T. asperellum*, les analyses GC-MS ont dévoilé la présence de 55 métabolites volatiles et non volatiles (représentés en 60 pics). Il s'agit essentiellement de l'acide butanoïque (31,09%), Dichlorométhane (22,70%) et 2,3-Butanediol (20,55%). Ceux-ci s'ensuivent de doses relativement faibles de l'Hexane (7,06 %), Ester IsoPropylique d'acide élaïdique (2,29%), 1-Butanol (2,12%), Furan, tetrahydro-2-(methoxymethyl)- (1,47%), acide hexadécanoïque (1,80%), acide oléique (1,04%) et une quarantaine de différentes structures chimiques mineures (Annexe 13).

Tableau 3. Métabolites volatiles identifiés à partir d'un extrait méthanolique de *T. asperellum*

Composé	App.	Pic	TR	Abd.	Grp.
Dichlorométhane		1	1.303	22.70	Halogène
Hexane		2	1.420	7.06	Alcane
1-Butanol	Butanol	3	1.690	2.12	Alcool
2,3-Butanediol		5	3.662	20.55	Ether de glycol
Acide butanoïque	Acide butyrique	6	4.295	30.97	Acide gras
		19	9.866	0.12	
Furan, tetrahydro-2-(methoxymethyl)-		17	9.049	1.47	Furane
Acide oléique		31	16.296	0.09	Acide gras
		36	18.170	0.51	
		58	28.249	0.21	
		60	29.023	0.23	
Acide palmitique	Acide hexadécanoïque	33	17.347	1.80	Acide gras
Ester IsoPropylique d'acide élaïdique		50	26.210	2.29	Ester

App. : Appellation commune selon (NIST) ; **TR** : Temps de rétention ; **Abd.** Abondance (%) ; **Grp.** : Groupe

III.6.2.- Discussion des résultats

Les composés organiques volatiles (COV) jouent un rôle essentiel dans les multiples interactions à savoir : champignon antagoniste-champignon phytopathogène, champignon antagoniste-plante, champignon antagoniste-environnement (GUO et *al.*, 2020). Grâce à son profil très riche en métabolites organiques, *Trichoderma* spp. s'impliquent

fortement dans la lutte contre les agents phytopathogènes et le soutien des plantes envers les facteurs environnementaux défavorables (MUKHERJEE et *al.*, 2013).

La présente étude a réussi d'identifier 84 métabolites organiques, essentiels à *T. asperellum*, séparés en utilisant une colonne capillaire (apolaire) et trois différents solvants alcooliques à savoir : hexanolique, butanolique et méthanolique. La majorité des composés analysés sont des acides gras, esters, éthers, alcanes, alcènes et aldéhydes. Ces résultats se concordent avec ceux d'ELSHERBINY et *al.* (2020) qui ont listé 39 structures organiques, issus de deux souches de *T. atroviride*, appartenant principalement aux aldéhydes, esters, alcènes et acides organiques. De même, SIDDIQUEE et *al.* (2012) ont réussi de recenser 278 métabolites volatiles, en utilisant trois colonnes capillaires de différentes polarités, classés en groupes des alcanes, alcools, cétones, pyrones (lactones), furanes, monoterpènes et sesquiterpènes.

Dans ce contexte, de nombreux acides gras possèdent des activités antimicrobiennes contre les agents phytopathogènes (MCGAW et *al.*, 2002 ; CHANDRASEKARAN et *al.*, 2011). Certain, sans s'y limiter, sont associés à la capacité antagoniste de *Trichoderma* (RUIZ et *al.*, 2007 ; ANDO et *al.*, 2009). Le présent travail a montré la présence abondante de l'acide butanoïque et l'acide oléique ainsi qu'une dose modérée de l'acide palmitique sur les extraits alcooliques analysés. Les résultats sont similaires à ceux de SHUKLA et VYAS (2014) ainsi qu'ELSHERBINY et *al.* (2020) qui ont détecté la production importante de l'acide butanoïque à partir de *T. viride* et *T. atroviride* respectivement. De même, GUO et *al.* (2020) ont isolé l'acide butanoïque et l'acide oléique à partir de quelques espèces de *Trichoderma*.

En réalité, les composés gras détectés sur *T. asperellum* sont fortement connus pour leur aptitude fongicide, répulsive et régulatrice de croissance des plantes (BROWNING et *al.*, 2006). LIU et *al.* (2008) ont parfaitement montré l'impact mycoparasitaire des acides palmitiques, oléiques et butanoïques sur l'inhibition de la croissance mycélienne (dans les conditions de laboratoire) et la germination des spores de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Les mêmes chercheurs ont également constaté qu'un mélange d'acide palmitique et acide oléique stimule significativement la croissance des plantes de la tomate.

Par ailleurs, l'effet bénéfique de l'acide butanoïque est associé également aux activités cellulolytiques (DWIDAR et *al.*, 2012). C'est pourquoi, l'espèce antagoniste *T.*

asperellum utilisée dans cette étude a pu parfaitement coloniser le substrat lignino-cellulosique utilisé dans cette étude.

Effectivement, *Trichoderma* spp. se considère comme des usines de synthèse vue le grand nombre de substances bioactives qu'elles peuvent élaborer. Cependant, aucun élément de ceux-ci n'a été identifié comme l'unique agent responsable de telle activité de lutte biologique. Plusieurs acides organiques tels que l'acide undécylénique, l'acide myristique et 9,12-Octadecadienoic acid (Z, Z)-, qui sont détectés sur *T. asperellum* par GC-MS (Annexe 13), présentent également une activité antifongique envers les membranes cellulaires de différents pathotypes virulents (LIU et al., 2008 ; MAZU et al., 2016 ; FISCHER, 2020 ; KHAN et al., 2021). L'espèce produit davantage d'autres composants biocides (volatiles et non volatiles) de divers groupes chimiques. Il s'agit de plus de quinzaines métabolites à savoir : Cétène ; Undecane ; Cyclopropane ; 1-Octadécène ; 17-Pentatriacontène ; hexadecyloxirane ; 7-Pentadécyne ; phénol ; Eucalyptol ; 1-Hexadécène ; 2-Methyl-Z, Z-3,13-octadecadienol ; 9-Octadecenamide, (Z)- ; 13-Docosénamide, (Z)- ; 1,2- acide Benzènedicarboxylique, diisooctyl ester et cis-9-Hexadécénal. Ceux-ci sont rapportés pour leurs fortes activités pesticides, antifongiques et antimicrobiennes à l'égard de nombreux bio-agresseurs (SALAÜN, 2000 ; MORCIA, et al. 2012 ; KUPPUSWAMY et al., 2013 ; MUSA et al., 2015 ; ADEYEMI et al., 2017 ; ELGORBAN et al., 2019 ; FADRIYANTI et al., 2019 ; HE et al., 2020 ; MAHALAKSHMI et al., 2020 ; PHOTOLO et al., 2020).

Au meilleur de nos connaissances, *T. asperellum* est doté d'une activité antifongique hyperparasitaire, cellulolytique et régulatrice de croissance des plantes. La séparation des composantes volatiles a révélé la présence de nombreux fongicides naturels qui permettent à l'espèce antagoniste de s'intégrer dans différents produits fongistatiques et fongicides en tant que matière active capable à lutter contre le flétrissement fusarien de la tomate.

*Conclusion et
perspectives*

Conclusion et perspectives

Les champignons phytopathogènes traduisent des chutes de productions et des pertes économiques considérables sur la tomate cultivée dans la région de Oued Righ. Parmi ceux-ci, 38 agents fongiques sont isolés de cette solanacée à partir de différents cultivars et systèmes de culture placés dans ladite localité.

L'ensemble appartient à trois grandes divisions fongiques à savoir : *Ascomycètes*, *Basidiomycètes* et *Zygomycètes*. Certains désordres phytopathologiques se trouvent sans symptômes significatifs sur la tomate tels que : *Monilinia* sp., *Didymella* spp., *Ulocladium* sp., *Stemphylium* spp., *T. roseum*, *B. cinerea*, *Neotyphodium* sp., *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp., *A. niger*, *A. flavus*, *Cladophialophora* sp. et *Rhizopus* sp. D'autres champignons, *Trichoderma* spp. et *T. asperellum*, sont connus pour leur effet bénéfique sur la culture et son environnement. Alors qu'il existe des agents phytopathogènes qui sont fortement répandus et très parasites à l'image de *S. sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* sp., *F. oxysporum* et *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Ce dernier pathotype est doté d'une hyper-virulence car il cause des flétrissements morbides soit une détérioration complète de 100% notée sur les tissus végétatifs jeunes d'une variété de Tafna.

En réalité, la lutte contre la fusariose s'avère efficace après l'application d'une souche de *T. asperellum* en tant que mesure prophylactique et curative soient des taux d'inhibition de la maladie vasculaire atteignant jusqu'à 70% enregistrés dans les conditions de laboratoire et *In Vivo* respectivement. De plus de leur efficacité de lutte, l'agent biologique joue une double dynamisation biologique par la stimulation du développement végétatif. Cependant, cette étude ne met pas spécifiquement en évidence la capacité de l'agent bénéfique à favoriser une meilleure croissance des plants.

D'ailleurs, l'évaluation du potentiel écophysio-logique de l'antagoniste a montré une tolérance à quelques stress abiotiques caractéristiques à la région d'étude à savoir : stress salin (6g/l) et stress thermique (30 °C).

Le potentiel indéniable de *T. asperellum* est expliqué suite à l'extraction de différents métabolites volatils et diffusibles dont 84 sont détectés par les analyses GC-MS. Une vingtaine de composés organiques isolés sont connus pour leurs propriétés antifongiques, antibiotiques, pesticides et cellulolytiques. Eux seuls s'avèrent un atout important dans les futures méthodes

de lutte biologiques. Néanmoins, il est difficile de déterminer lesquels de métabolites sont bioactifs dans les conditions du terrain.

Les résultats illustrent que, dans certaines conditions, l'isolat de *T. asperellum* peut être intégré dans les programmes de lutte comme un agent efficace contrôleur de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* sur la tomate. Cependant, il est à noter que cette intégration devrait tenir en compte l'environnement où l'antagoniste va s'en évoluer. En d'autres termes, l'efficacité n'est véritablement garantie que si l'espèce biologique en question soit appliquée après l'évaluation de :

- Survie et persistance de la souche antagoniste dans la rhizosphère ;
- Nature des relations qu'elle va maintenir avec les autres biocénoses (micro-organismes utiles, autres antagonistes, champignons endophytes ...etc) auxquels elle sera confrontée ;
- Synergie avec les différents produits chimiques tels que les engrais et les autres pesticides homologués sur la culture sujette ;
- Doses de l'inoculum bénéfique introduites à la rhizosphère ;
- Faciès médical de l'isolat car l'origine d'une substance naturelle ne dit rien sur sa toxicité pour la santé humaine.

De ce fait, un large champ envisageable et très riche d'études scientifiques reste à explorer pour collecter des connaissances meilleures sur les mécanismes déployés par l'antagoniste à savoir : éco-physiologiques, moléculaires, génétiques, biochimiques et bio-informatiques. Ces domaines permettent ensuite à exploiter le potentiel antagoniste de *T. asperellum* sur différentes cultures et contre plusieurs agents phytopathogènes. Comme, l'espèce peut se formuler en tant que bio-fongicide efficace et respectueux de l'environnement ainsi que la santé du consommateur de produits traités.

***Références
bibliographiques***

Références bibliographiques

1. ADEYEMI M.A., EKUNSEITAN D.A., ABIOLA S.S., DIPEOLU M.A., EGBEYALE L.T. et SOGUNLE O.M., 2017. - Phytochemical Analysis and GC-MS Determination of *Lagenaria breviflora* R. Fruit. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical, 9 (7) : 1045-1050.
2. AGRIOS G., 2005. - Plant Pathology. 5th Edition. Academic Press, 952 p.
3. AL-ASKAR A.A., GHONEEM K.M., RASHAD Y.M., ABDULKHAIR W.M., HAFEZ E.E., SHABANA Y.M. et BAKA Z.A., 2014. - Occurrence and distribution of tomato seed-borne mycoflora in Saudi Arabia and its correlation with the climatic variables. Microbial Biotechnology, 7 (6) : 556-569.
4. ANDERSEN B. et FRISVAD J.C., 2004. - Natural Occurrence of Fungi and Fungal Metabolites in Moldy Tomatoes, J. Agric. Food Chem., 52 : 7507-7513
5. ANDO A., OGAWA J., KISHINO S., ITO T., SHIRASAKA N., SAKURADANI E., YOKOZEKI K. et SHIMIZU S., 2009. - Fatty Acid Desaturation and Elongation Reactions of *Trichoderma* sp. 1-OH-2-3 Am. Oil Chem Soc., 86 : 227-233.
6. ARNAB R., 2017. - Survey sampling theory and applications. Elsevier Ltd, 911p.
7. AYAD F., MATALLAH-BOUTIBA A., ROUANE-HACENE O., BOUDERBALA M. et BOUTIBA Z., 2018. - Tolerance of *Trichoderma* sp. to Heavy Metals and its Antifungal Activity in Algerian Marine Environment. Journal of Pure and Applied Microbiology, 12 (2) : 855-870.
8. BAE H., SICHER RICHARD C., KIM M. S., KIM S.H., STREM M. D., MELNICK R. L. et BAILEY B. A., 2009. - The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. Journal of Experimental Botany, 60 (11) : 3279-3295.
9. BAL U. et ALTINTAS S., 2006. - Effect of *Trichoderma harzianum* on the yield and fruit quality of tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) grow in an unheated greenhouse. Australian journal of experimental Agriculture, 46 : 131-136.
10. BARARI H., 2016. - Biocontrol of tomato *Fusarium* wilt by *Trichoderma* species under *In vitro* and *In Vivo* conditions. Cercetări Agronomice în Moldova, 1 (165) : 91-98.
11. BENAOUALI H., HAMINI-KADAR N., BOURAS A., BENICHOUS S.L., KIHAL M. et HENNI J.E., 2014. - Isolation, pathogenicity test and physicochemical studies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Advances in Environmental Biology 8(10) : 36-49.

12. **BENITEZ T., RINCON A.M., CARMEN-LIMON M. et CODON A.C., 2004.** - Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International microbiology*, 7 : 249-260.
13. **BENLAMOUDI W., 2016.** - Essai de lutte biologique in vitro contre quelques maladies fongiques de la tomate dans la région d'Oued Righ par l'utilisation de souches autochtones de *Trichoderma harzianum* Persoon (1794). Mémoire Master. Univ. Ouargla, 86 p.
14. **BLANCARD D., 2012.** - *Tomato Diseases*. 2nd edition. Elsevier, 680p.
15. **BLASZCZYK L., POPIEL D., CHELKOWSKI J., KOCZYK G., SAMUELS G. J., SOBIERALSKI K. et SIWULSKI M., 2011.** - Species diversity of *Trichoderma* in Poland. *Journal of Applied Genetics*, 52 : 233-243.
16. **BOUREGHDA H., 2009.** - Recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick) Matuo et K. Sato (Foc), agent du flétrissement du pois chiche. Thèse Doctorat. Institut National Agronomique, El Harrach. 143p.
17. **BOUZID A. et BEDRANI S., 2013.** - La performance économique de la filière tomate industrielle en Algérie. *Les cahiers du CREAD*, (103) : 85-105.
18. **BOUZOUMITA A., RHOUMA A., BELHOUCLETTE K. et FERCHICHI A., 2016.** - Etude de la sensibilité variétale de quelques plans d'olivier du sud Tunisien vis-à-vis la maladie de dépérissement causé par des champignons telluriques. *Journal of new sciences : Agriculture and Biotechnology*, 27(9) : 1519-1527.
19. **BROWNING M., WALLACE D.B., DAWSON C., ALM S.R., AMADOR J.A., 2006.** - Potential of butyric acid for control of soil-borne fungal pathogens and nematodes affecting strawberries. *Soil Biology & Biochemistry*, 38 : 401-404.
20. **ÇAKIR B., GÜL A., YOLAGELDI L. et ÖZAKTAN H., 2014.** - Response to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomato roots involves regulation of SA- and ET responsive gene expressions. *Eur. J. Plant Pathol.*
21. **CAMPBELL C.K., JOHNSON E.M. et WARNOCK D.W., 2013.** - Identification of pathogenic fungi. 2nd Edition. Health Protection Agency, 337p.
22. **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).

23. **CARON J., LAVERDIERE L., THIBODEAU P.O. et BELANGER R.R., 2002.** - 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.
24. **CHANDRASEKARAN M., SENTHILKUMAR A. et VENKATESALU V., 2011.** - Antibacterial and antifungal efficacy of fatty acid methyl esters from the leaves of *Sesuvium portulacastrum* L. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 15 (7) : 775-80.
25. **CHANG Y., DU B., WANG L., JI P., XIE Y., LI X., LI Z. et WANG J., 2018.** - A study on the pathogen species and physiological races of tomato *Fusarium* wilt in Shanxi, China. *Journal of Integrative Agriculture*, 17 (6) : 1380-1390.
26. **CHATTANAVAR S.N., SRIKANT K. et KHADI B.M., 2006.** - Effect of growth period and carbon sources on *Trichoderma harzianum*. *Karnataka J. Agric. Sci.*, 19 : 158-160.
27. **CHEHMA A. et LONGO H.F., 2001.** - Valorisation des Sous-Produits du Palmier Dattier en Vue de leur Utilisation en Alimentation du Bétail. *Energie Renouvelable : Production et Valorisation –Biomasse* : 59-64.
28. **CHERKUPALLY R., AMBALLA H. et REDDY B.N., 2017.** - *In vitro* screening for enzymatic activity of *Trichoderma* species for biocontrol potential. *Annals of Plant Sciences*, 6 (11) : 1784-1789.
29. **CHOU H., XIAO Y.T., TSAI J.N., LI T.T., WU H.YI, D. LIU L., TZENG D.S. et CHUNG C.L., 2019.** - *In Vitro* and *in Planta* Evaluation of *Trichoderma asperellum* TA as a Biocontrol Agent Against *Phellinus noxius*, the Cause of Brown Root Rot Disease of Trees. *Plant Disease*, 103 (11) : 2733-2741.
30. **COLLAO L.I.V., 2007.** - Utilisation de mutantes de *Trichoderma harzianum* (Rifai) pour contrôler *Rhizoctonia solani* (Kühn) de la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Mémoire Ingénieur. Université du Chili. 36p.
31. **DEBBI A., BOUREGHDA H., MONTE E. et HERMOSA ROSA, 2018.** - Distribution and Genetic Variability of *Fusarium oxysporum* Associated with Tomato Diseases in Algeria and a Biocontrol Strategy with Indigenous *Trichoderma* spp. *Frontiers in Microbiology*, 9 (282).
32. **DECORATO U., 2020.** - Soil microbiota manipulation and its role in suppressing soil-borne plant pathogens in organic farming systems under the light of microbiome-assisted strategies. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 7: 17.

33. **DEKKOUMI B., 2016.** - Lutte biologique contre les maladies fongiques de la tomate par l'utilisation des extraits des plantes spontanées de la région d'El Meghair. Mémoire Master. Univ. Ghardaïa, 70p.
34. **DELFOSE-ERNEST S., 2005.** - Risk and ethics in biological control. *Biological Control* 35 : 319-329.
35. **DENNIS C. et WEBSTER J., 1971 a.** - Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* : I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society* 57, 25-39.
36. **DENNIS C. et WEBSTER J., 1971 b.** - Antagonistic Properties of Species-Groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile Antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57 : 363-369.
37. **DENNIS C. et WEBSTER J., 1971 c.** - Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* : III. Hyphal interaction. *Transactions of the British Mycological Society* 57, 363-369.
38. **DIGHTON J., 2003.** - *Fungi in Ecosystem Processes*. Marcel Dekker, Inc., 437p.
39. **DONG N.B.S. et CONG B.H., 2014.** - Principles of Biological Control in Integrated Pest Management. *International Journal of Applied Research and Technology*, 3 (11) : 104-116.
40. **DPVCT, 2017.** - Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Direction de la Protection des Végétaux et des Contrôles Techniques. 230p.
41. **DRUZHININA I.S., SEIDL S. V., HERRERA E.A., HORWITZ B.A., KENERLEY C.M., MONTE E., MUKHERJEE P.K., ZEILINGER S., GRIGORIEV I.V. et KUBICEK C.P., 2011.** - *Trichoderma* : The genomics of opportunistic success. *Nature reviews (Microbiology)* 9 : 749-759.
42. **DRUZHININA I. et KUBICEK C.P., 2015.** - Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea* : from aggregate species to species clusters ? *Journal of Zhejiang University Science*, 6B (2) :100-112.
43. **DUARTE-LEAL Y., LAMZ-PIEDRA A. et MARTINEZ-COCA B., 2017.** - Antagonismo *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Rev. Protección Veg.*, 32 (3) : 1-13.
44. **DWIDAR M., PARK J.Y., MITCHELL R.J. et SANG B., 2012.** - The Future of Butyric Acid in Industry. *The scientific world journal* Article, ID 471417.
45. **EGEL D.S. et SAHA S.K., 2015.** - Vegetable Diseases : Tomato Disease Management in Greenhouses. *Purdue Extension : Purdue Botany & Plant Pathology*.

- 46. ELGORBAN A.M., BAHKALIA A.H., AL FARRAJA D.A. et ABDEL-WAHABA A.M., 2019.** - Natural products of *Alternaria* sp., an endophytic fungus isolated from *Salvadora persica* from Saudi Arabia. Saudi Journal of Biological Sciences, 26 (5) : 1068-1077.
- 47. ELSHERBINY E.A., AMIN B.H., ALEEM B., KINGSLEY K.L. et BENNETT J.W., 2020.** - *Trichoderma* Volatile Organic Compounds as a Biofumigation Tool against Late Blight Pathogen *Phytophthora infestans* in Postharvest Potato Tubers. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 14 : 42 : 44.
- 48. ESQUERRE-TUGAYE M.T., 2001.** - Plantes et agents pathogènes, une liaison raffinée et dangereuse : l'exemple des champignons. AGRIS 324 (10) : 899-903.
- 49. FADRIYANTI O., NASUTION I. D., HANDAYANI D. et SISWOMIHARJO W., 2019.** - GC-MS analysis of volatile active compounds isolated from *Aspergillus* sp of *Rhizophora mucronata*. Rasayan J. Chem., 12 (4) : 2284-2289.
- 50. FERNANDO D.A., MILAGROSA S., FRANCISCO C. et FRANCISCO M., 2018.** - Biostimulant Activity of *Trichoderma saturnisporum* in Melon (*Cucumis melo*). Hortscience, 53 (6) : 810-815.
- 51. FISCHER C.L., 2020.** - Antimicrobial Activity of Host-Derived Lipids. 9, 75. doi:10.3390/antibiotics9020075.
- 52. FROGER M., CELLIER V. et AUBERTOT J-N., 2016.** - Outil d'aide à la conception de stratégies d'échantillonnage pour caractériser la composante biotique des agroécosystèmes. Action pilotée par le ministère chargé de l'agriculture. Projet CASIMIR, France. 56p.
- 53. GAL-HEMED I., ATANASOVA L., KOMON-ZELAZOWSKA M., DRUZHININA I.S., VITERBO A. et YARDEN O., 2011.** - Marine Isolates of *Trichoderma* spp. as Potential Halotolerant Agents of Biological Control for Arid-Zone Agriculture. Applied and environmental microbiology, 77 (15) : 5100-5109.
- 54. 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., 2013.** - 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.
- 55. GOMEZ-RODRIGUEZ E.Y., URESTI-RIVERA E.E., PATRON-SOBERANO O.A., ISLAS-OSUNA M.A., FLORES-MARTINEZ A., RIEGO-RUIZ L., ROSALES-SAAVEDRA M.T. et SERGIO C.F., 2018.** - Histone acetyltransferase

- TGF-1 regulates *Trichoderma atroviride* secondary metabolism and mycoparasitism. PLoS ONE, 13 (4) : e0193872.
- 56. GUO R., WANG Z., HUANG Y., FAN H. et LIU Z., 2018.** - Biocontrol potential of saline- or alkaline-tolerant *Trichoderma asperellum* mutants against three pathogenic fungi under saline or alkaline stress conditions. Braz J Microbiol., 49 Suppl 1: 236-245.
- 57. GUO Y., JUD W., GHIRARDO A., ANTRITTER F., BENZ J.P., SCHNITZLER J.P. et ROSENKRANZ M., 2020.** - Sniffing fungi – phenotyping of volatile chemical diversity in *Trichoderma* species. New Phytologist, 227: 244-259.
- 58. 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.
- 59. GVEROSKA B. et ZIBEROSKI J., 2012.** - *Trichoderma harzianum* as a biocontrol agent against *Alternaria alternata* on tobacco. Applied Technologies and Innovations, 7 (2) : 67-76.
- 60. HAFOUDA L., 2005.** - Caractérisation et quantification de la salinité de sol et de la nappe dans la vallée de l'Oued Righ .Thèse Magister. Institut National Agronomique, El Harrech. Alger. 100p.
- 61. HARMAN G.E., 2000.** - Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease, 84 (4) : 377-393.
- 62. HE C.N., YE W.Q., ZHU Y.Y. et ZHOU W.W., 2020.** - Antifungal activity of volatile organic compounds produced by *Bacillus methylotrophicus* and *Bacillus thuringiensis* against five common spoilage fungi on loquats. Molecules, 25, 3360.
- 63. HERMOSA R., VITERBO A., CHET I. et MONTE E., 2012.** - Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology, 158 (1) :17-25.
- 64. HIBAR K., DAAMI-REMADI M., KHIAREDDINE H. et EL MAHJOUB M., 2005.** - Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 9 (3) : 163-171.
- 65. HIRANO Y. et ARIE T., 2006.** - PCR-based differentiation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *radicis-lycopersici* and races of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Journal of General Plant Pathology, 72 : 273-283.
- 66. HOWELL C. R., 2002.** - Mechanisms Employed by *Trichoderma* Species in the Biological Control of Plant Diseases : The History and Evolution of Current Concepts. Plant Disease, 87 (1) : 4-10.

- 67. HOWARD D.H., 2003.** - Pathogenic Fungi in Humans and Animals. 2nd Edition. Marcel Dekker Inc., 804p.
- 68. HOYOS-CARVAJAL L., ORDUZ S. et BISSETT J., 2009.** - Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. Biological Control, 51 (3) : 409-416.
- 69. HOYOS-CARVAJAL L. et BISSETT J., 2011.** - Biodiversity of *Trichoderma* in Neotropics. The Dynamical Processes of Biodiversity : Case Studies of Evolution and Spatial Distribution. Oscar Grillo, InTech, 366p.
- 70. IGNJATOV M., MILOSEVIC D., NIKOLIC Z., GVOZDANOVIC-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.
- 71. ITCMI, 2015.** - Guide pratique : la production des plants pour les cultures sous serres. Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles, 17p.
- 72. ITCMI, 2018.** - La culture de Tomate Industrielle. Institut Technique Des Cultures Maraichères et Industrielles, 4p.
- 73. IULIANA R., TATIANA E.S., ROCIO M., MIHAELA B.D., FLORIN O., MARIANA C., MELANIA L.A. et GELU L.V.J., 2016.** - Study on the effectiveness of antagonistic *Trichoderma* spp. on the growth of some vegetables under laboratory and greenhouse conditions. REV.CHIM. (Bucharest), 67 (8) : 1504-1507.
- 74. JAKLITSCH W.M., 2009.** - European species of *Hypocrea* – Part I. Studies in Mycology, 63 : 1-91.
- 75. JIANG X., REDDA E.T., MA J., MEI J., LI M. et WU B., 2018.** - Antagonistic Potential of Different Isolates of *Trichoderma* against *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Botrytis cinerea*. European Journal of Experimental Biology, 8 (2) : 1-8.
- 76. KALYONCU F., USAME T.A. et OSKAY M., 2005.** - Determination of Fungi Associated with Tomatoes (*Lycopersicum esculentum* M.) and Tomato Pastes. Plant Pathology Journal, 4 (2) : 146-149.
- 77. KAVANAGH K., 2018.** - Fungi Biology and Applications. 3rd Edition. John Wiley & Sons, Inc., 422p.
- 78. KERROUM F., KARKACHI N., JAMAL EDINNE H. et KIHAL M., 2015.** - Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* against *Phytophthora infestans* in the North-west of Algeria. International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 6 (4) : 44-53.

- 79. KHALILI E., SADRAVI M., NAEIMI S. et KHOSRAVI V., 2012.** - Biological control of rice brown spot with native isolates of three *Trichoderma* species. Braz. J. Microbiol., 43 (1).
- 80. KHAN I.H., JAVAID A. et AHMED D., 2021.** - *Trichoderma viride* Controls *Macrophomina phaseolina* through its DNA disintegration and Production of Antifungal Compounds. International journal of agriculture & biology, DOI: 10.17957/IJAB/15.1743.
- 81. KORNIENKO A., EVIDENTE A., VURRO M., MATHIEU V., CIMMINO A., EVIDENTE M., OTTERLO W.A.L.V., DASARI R., LEFRANC F. et KISS R., 2015.** - Towards a Cancer Drug of Fungal Origin. Med Res Rev., 35 (5) : 937-967.
- 82. KUBICEK C.P., KOMON-ZELAZOWSKA M. et DRUZHININA I.S., 2008.** - Fungal genus *Hypocrea/Trichoderma* : from barcodes to biodiversity. Journal of Zhejiang University SCIENCE B, 9 (10) : 753-763.
- 83. KUMAR S. P., SRINIVASULU A. et RAJA K.B., 2018.** - Symptomology of major fungal diseases on tomato and its management Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 7 (6) : 1817-1821.
- 84. KUPPUSWAMY K.M., BHAVANA J. et AROCKIASAMY S., 2013.** - GC-MS Analysis of Chloroform extract of *Croton bonplandianum*. International Journal of Pharma and Bio Sciences, 4 (4) : 613-617.
- 85. KUZMANOVSKA B., RUSEVSKI R., JANKULOVSKA M. et ORESHKOVIKJ K.B., 2018.** - Antagonistic activity of *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma harzianum* against genetically diverse *Botrytis cinerea* isolates. Chilean journal of agricultural research, 78 (3) : 391-399.
- 86. LAKHDARI W., DEHLIZ A., GUEZOUL O., BENLAMOUDI W., MLIK R., HAMMI H., DEKKOUMI B.E. et BENCHENNA M.Y., 2017.** - Diagnosis of phytopathogenic fungi of *Lycopersicon esculentum* L. in Oued Righ region (Algerian sahara). SDRP Journal of Plant Science, 1 (1) : 1-6.
- 87. LAKHDARI W., DEHLIZ A., MLIK R., HAMMI H., BENLAMOUDI W., ACHEUK F. et DOUMANDJI-MITICHE B., 2018.** - Inhibitory effect of *Trichoderma harzianum* on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *Alternaria solani*. Organic Agriculture, 8 : 225-230.
- 88. LAKHDARI W., DEHLIZ A., MLIK R., FETHALLAH R., BENLAMOUDI W., HAMMI H. et GUASMI D., 2020.** - Bio-stimulant, what is its promoting effect on the cultivation of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) ? Organic Agriculture, 10 : 465-470.

- 89. LEON-AGUILAR R., PINO M. S.DE LA C., MARTINEZ C.B., LIRIANO G.R. et NUÑEZ S.D.B., 2012.** - Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. Centro Agrícola, 39 (2) : 43-48.
- 90. LESLIE J.F. et SUMMERELL B.A., 2006.** - The *Fusarium* Laboratory Manual. 1st edition. Blackwell Publishing Professional, 388p.
- 91. Li M.F., Li G.H. et Zhang K.Q., 2019.** - Non-Volatile Metabolites from *Trichoderma* spp. Metabolites, 9 (58).
- 92. LIECKFELDT E., CAVIGNAC Y., FEKETE C. et BÖRNER T., 2000.** - Endochitinase gene-based phylogenetic analysis of *Trichoderma*. Microbiological Research, 155 (1) : 7-15.
- 93. LISBOA B.B., BAYER C., PASSAGLIA P.L.M., DE OLIVEIRA C., ANASTACIO F., BENEDUZI A., AMBROSINI A., et KAYSER V.L., 2015.** - Soil fungistasis against *Fusarium graminearum* under different crop management systems. Revista Brasileira de Ciência do Solo, (39)1 : 69-77.
- 94. LIU S., RUAN W., LI J., XU H., WANG J., GAO Y. et WANG J., 2008.** - Biological control of phytopathogenic fungi by fatty acids. Mycopathologia 166 (2) : 93-102.
- 95. LOPEZ-BENITEZ A., RODRIGUEZ-HERRERA S.A., GAYOSSO-BARRAGAN O., ALCALA-RICO J.S. et VIZCARRA-LOPEZ M., 2018.** - Inoculation methods and conidial densities of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* in tomato. AJCS 12, (08) : 1322-1327.
- 96. LOPEZ-BUCIO J., PELAGIO-FLORES R. et HERRERA-ESTRELLA A., 2015.** - *Trichoderma* as biostimulant : exploiting the multilevel properties of a plant beneficial fungus. Scientia Horticulturae, 196 : 109-123.
- 97. MAHALAKSHMI G., VENGADESHKUMAR L., SANJAYGANDHI S., RAJAMOCHAN K., UDHAYAKUMAR R. et SHARMILA M.A., 2020.** - Antifungal activity of *Rhizophora apiculata* against *Alternaria solani*. Plant Archives, 20 (1) : 2931-2936.
- 98. MANZO D., FERRIELLO F., PUOPOLO G., ZOINA A., D'ESPOSITO D., TARDELLA L., FERRARINI A. et ERCOLANO M.R., 2016.** - *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* induces distinct transcriptome reprogramming in resistant and susceptible isogenic tomato lines. BMC Plant Biol., 16 : (53) 1-14.

- 99. MAZU T.K., BRICKER B.A., FLORES-ROZAS H. et ABLORDEPPEY S.Y., 2016.** - The Mechanistic Targets of Antifungal Agents: An Overview. *Mini Rev Med Chem.* 16 (7) : 555-578.
- 100. MCGAW L.J., JÄGER A.K. et STADEN J.V., 2002.** - Antibacterial effects of fatty acids and related compounds from plants. *South African Journal of Botany*, 68 (4) : 417-423.
- 101. MCGOVERN R.J., 2015.** - Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 1-15.
- 102. MENDOZA-MENDOZA A., ZAID R., LAWRY R., HERMOSA R., MONTE E., HORWITZ B. A. et MUKHERJEE P.K., 2017.** - Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots : Role of the fungal secretome. *fungus biology reviews* 1-24.
- 103. MOHAMED H.A.A. et HAGGAG W.M., 2006.** - Biocontrol potential of salinity tolerant mutants of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37 : 181-191.
- 104. MOÏSE N.A.A., SEVERIN T.N., CHRISTELLE S.E., TIBO A.A.H., LAMBERT S.M. et DUPLEX W.J., 2018.** - Efficacy of *Trichoderma harzianum* (Edtm) and *Trichoderma aureoviride* (T4) as potential bio-control agent of taro leaf blight caused by *Phytophthora colocasiae*. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research*, 6 (9) : 115-126.
- 105. MONGA D., 2001.** - Effect of carbon and nitrogen sources on spore germination, biomass production and antifungal metabolites by species of *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Indian Phytopath.*, 54 (4) : 435-437.
- 106. MONTEALEGRE J.R., HERRERA R., VELASQUEZ J.C., SILVA P., BESOAIN X. et MARIA P.L., 2005.** - Biocontrol of root and crown rot in tomatoes under greenhouse conditions using *Trichoderma harzianum* and *Paenibacillus lentimorbus*. Additional effect of solarization. *Electronic Journal of Biotechnology*, 8 (3) : 250-257.
- 107. MORCIA C., MALNATI M. et TERZI V., 2012.** - *In vitro* antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens. *Food additives and contaminants*.
- 108. MOURIA B., OUAZZANI-TOUHAMI A. et DOUIRA A., 2008.** - Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*, 88 (3) : 103-110.

- 109. MOURIA B., OUAZZANI-TOUHAMI A. et DOUIRA A., 2013.** - Effet du compost et de *Trichoderma harzianum* sur la suppression de la verticilliose de la tomate. Journal of Applied Biosciences, 70 : 5531-5543.
- 110. MUKHERJEE P.K., HORWITZ B.A., HERRERA-ESTRELLA A., SCHMOLL M., et KENERLEY C.M., 2013.** - *Trichoderma Research* in the Genome Era. Annual Review of Phytopathology, 51 : 105-129.
- 111. MUKHERJEE A.K., KUMAR S.A., KRANTHI S. et MUKHERJEE P.K., 2014.** - Biocontrol potential of three novel *Trichoderma* strains : isolation, evaluation and formulation. 3 Biotech, 4 : 275-281.
- 112. MUSA A.M., IBRAHIM M.A., ALIYU A.B., ABDULLAHI M.S., TAJUDEEN N., IBRAHIM H. et OYEWALE A.O., 2015.** - Chemical composition and antimicrobial activity of hexane leaf extract of *Anisopus mannii* (*Asclepiadaceae*). Journal of Intercultural Ethnopharmacology, 4 (2) :129-133.
- 113. 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.
- 114. NAPITUPULU T.P., ILYAS M., KANTI A. et SUDIANA I.M., 2019.** - *In vitro* evaluation of *Trichoderma harzianum* strains for the control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. Plant Pathology & Quarantine, 9 (1) : 152-159.
- 115. NIRMALADEVI D., VENKATARAMANA M., SRIVASTAVA R.K., UPPALAPATI S.R., GUPTA V.K., YLI-MATTLA T., CLEMENT TSUI K.M., SRINIVAS C., NIRANJANA S.R. et CHANDRA N.S., 2016.** - Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Scientific Reports, 6: 21367.
- 116. OMS/ FAO, 2018.** - Code de conduite international sur la gestion des pesticides : Directives sur les pesticides extrêmement dangereux. Rome, 42p.
- 117. ONUORAH S. et ORJI M.U., 2015.** - Fungi Associated with the Spoilage of Post-harvest Tomato Fruits Sold in Major Markets in Awka, Nigeria. Universal Journal of Microbiology Research, 3 (2) : 11-16.
- 118. ORTIZ-CASTRO R., CONTRERAS-CORNEJO H.A., MACIAS-RODRIGUEZ L. et LOPEZ-BUCIO J., 2009.** - The role of microbial signals in plant growth and development. Plant Signaling & Behavior, 4 (8) : 701-712.

- 119. OTADOH J., OKOTH S., OCHANDA J. et KAHINDI J., 2011.** - Assessment of *Trichoderma* isolates for virulence efficacy on *Fusarium oxysporum* F. sp. *Phaseoli*. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 13 (1) : 99-107.
- 120. OUARGLI D., 2017.** - Contribution à la lutte biologique contre les maladies fongiques de la tomate dans la région d'Oued Righ. Mémoire Master. Univ. Biskra, 70p.
- 121. PERINCHERRY L., JUSTYNA L.K. et ŁUKASZ S., 2019.** - *Fusarium*-Produced Mycotoxins in Plant-Pathogen Interactions. Toxins, 11 (11).
- 122. PHOTOLO M.M., MAVUMENGWANA V., SITOLE L. et TLOU M.G., 2020.** - Antimicrobial and Antioxidant Properties of a Bacterial Endophyte, *Methylobacterium radiotolerans* MAMP 4754, Isolated from *Combretum erythrophyllum* Seeds. International Journal of Microbiology, 2020 :9483670
- 123. POOSAPATI S., RAVULAPALLI P.D., TIPPIRISHETTY N., VISHWANATHASWAMY D.K. et CHUNDURI S., 2014.** - Selection of high temperature and salinity tolerant *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. Springer Plus, 3: 641.
- 124. PUNJA Z.K., RODRIGUEZ G., TIRAJOH A. et FORMBY S., 2016.** - Role of fruit surface mycoflora, wounding and storage conditions on post-harvest disease development on greenhouse tomatoes. Canadian Journal of Plant Pathology, DOI:10.1080/07060661.2016.1245914.
- 125. RAJPUT A.Q. et SHAHZAD S., 2015.** - Growth and sporulation of *Trichoderma polysporum* on organic substrates by addition of carbon and nitrogen sources. Pak. J. Bot., 47(3) : 979-986.
- 126. RAZA W., FAHEEM M., YOUSAF S., RAJER F.U. et YAMEEN M., 2013.** - Volatile and non-volatile antifungal compounds produced by *Trichoderma harzianum* SQR-T037 suppressed the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. Science letters, 1 (1) : 21-24.
- 127. REKIBI F., 2015.** - Analyse compétitive de la filière tomate sous serre : Cas de la Wilaya de Biskra. Thèse Magister. Univ, BISKRA. 189p.
- 128. REN J., XUE C., TIAN L., XU M., CHEN J., DENG Z., PROKSCH P. et LIN W., 2009.** - Asperelines A-F, peptaibols from the marine-derived fungus *Trichoderma asperellum*. J Nat Prod, 72 (6) :1036-44.
- 129. ROCHA L.C., LUIZ R.F., ROSSET I.G., RAMINELLI C., SELEGHIM M.H.R., DURÃES S.L. et PORTO A.L.M., 2012.-** Bioconversion of Iodoacetophenones by Marine Fungi. Mar Biotechnol, 14 : 396-401.

- 130. RODRIGUES A.A.C. et MENEZES M., 2006.** - Identification and pathogenic characterization of endophytic *Fusarium* species from cowpea seeds. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, 3 : 203-215.
- 131. ROMBERG M.K. et DAVIS R.M., 2007.** - Host Range and Phylogeny of *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* from Potato and Tomato in California. Plant Disease, 91 (5) : 585-592.
- 132. ROSERO-HERNANDEZ E.D., MORAGA J., COLLADO I.G. et ECHEVERRI F., 2019.** - Natural Compounds That Modulate the Development of the Fungus *Botrytis cinerea* and Protect *Solanum lycopersicum*. Plants, 8 (5) :111.
- 133. ROSSI-RODRIGUES B.C., BROCHETTO-BRAGA M.R., TAUKTORNISIELO S.M., CANO C.E., ARRUDA V.M. et N.J. CHAUD., 2009.** - Comparative growth of *Trichoderma* strains in different nutritional sources, using bioscreen C automated system. Brazilian Journal of Microbiology Brazilian : Journal of Microbiology, 40 : 404-410.
- 134. RUIZ N., DUBOIS N., WIELGOSZ-COLLIN G., ROBIYOU DU P.T., BERGEB J.P., POUCHUSA Y.F. et BARNATHANA G., 2007.** - Lipid content and fatty acid composition of a marine-derived *Trichoderma longibrachiatum* strain cultured by agar surface and submerged fermentations. Process Biochemistry, 42 (4) : 676-680.
- 135. SADFI-ZOUAOUI N., HANNACHI I., ROUAISSI M., HAJLAOUI M.R., RUBIO M.B., MONTE E., BOUDABOUS A. et HERMOSA M.R., 2009.** - Biodiversity of *Trichoderma* strains in Tunisia. Can J. Microbiol., 55 (2) : 154-62.
- 136. SAJAD A.M., JAMALUDDIN et ABID H.Q., 2017.** - Fungi Associated with the Spoilage of Post Harvest Tomato Fruits and Their Frequency of Occurrences in Different Markets of Jabalpur, Madhya-Pradesh. India. International Journal of Current Research and Review, 9 (5) : 12-16.
- 137. SALAÛN J., 2000.** - Cyclopropane Derivatives and their Diverse Biological Activities. Topics in Current Chemistry : 207. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 67p.
- 138. SALAZAR L., SANABRIA N., APONTE G., ALCANO M., HERRERA R., COLMENARES D., ESPINOZA M., ALEMAN L. et MAGAÑA S., 2011.** - Efectividad de aislamientos de *Trichoderma* spp. en el control de la fusariosis del tomate en condiciones *in vitro* e *in vivo*. Bioagro, 23 :185-190.
- 139. SALEEM A.R., 2010.** - Effect of Kocide and Ridomil plus fungicides on the mycoflora of tomato plant in Upper Egypt. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 43 (17) : 1659-1676.

- 140. SAMUELS G.J., 2006.** - *Trichoderma* : Systematics, the Sexual State, and Ecology. *Phytopathology*, 96 (2) : 195-206.
- 141. SANCHEZ-MONTESINOS B., DIANEZ F., MORENO-GAVIRA A., GEA F.J., et SANTOS M., 2019.** - Plant Growth Promotion and Biocontrol of *Pythium ultimum* by Saline Tolerant *Trichoderma* Isolates under Salinity Stress. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 16 (11) : 2053.
- 142. SANOUBAR R. et BARBANTI L., 2017.** - Fungal diseases on tomato plant under greenhouse. *Condition European Journal of Biological Research*, 7 (4) : 299-308.
- 143. SARAVANAKUMAR K., WANG M.H., 2020.** - Isolation and molecular identification of *Trichoderma* species from wetland soil and their antagonistic activity against phytopathogens. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 109 (101458).
- 144. SCHÜTZ G., HALTRICH D. et ATANASOVA L., 2020.** - Influence of spore morphology on spectrophotometric quantification of *Trichoderma* inocula. *BioTechniques*, 68 : 279-282.
- 145. SCIORTINO J. et CARMEN V., 2017.** - Atlas of Clinically Important Fungi. 1st Edition. John Wiley & Sons, Inc., 488p.
- 146. SHUKLA R.M. et VYAS R.V., 2014.** - Phosphate solubilizing efficiency of Mycopesticides. *International Journal of Agriculture, Environment & Biotechnology*, 7 (4) : 705-710.
- 147. SIDAOUI A., KARKACHI N., BERTELLA A., EL GOUMI Y., HAOUHACH S., OGUIBA B., BOUDEFFEUR S., CHHIBA M. et KIHAL M., 2018.** - Pathogenicity and biological control of Bayoud disease by *Trichoderma longibrachiatum* and *Artemisia herba-alba* essential oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8 (4) : 161-167.
- 148. SIDDIQUEE S., CHEONG B.E., TASLIMA K., KAUSAR H. et HASAN M.M., 2012.** - Separation and Identification of Volatile Compounds from Liquid Cultures of *Trichoderma harzianum* by GC-MS using Three Different Capillary Columns. *Journal of Chromatographic Science*, 50 : 358-367.
- 149. SIDDIQUEE S., 2017.** - Practical Handbook of the Biology and Molecular Diversity of *Trichoderma* Species from Tropical Regions. Springer International Publishing AG, 110p.
- 150. SINGH A., SHAHID M., SRIVASTAVA M., PANDEY S., SHARMA A. et KUMAR V., 2014.** - Optimal physical parameters for growth of *Trichoderma* species at varying pH, temperature and agitation. *Virology & mycology*, 3 : 1.

- 151. SINGH J., KUMAR V., SRIVASTAVA S., KUMAR A. et SINGH V.P., 2019.** - *In Vitro* Evaluation of *Trichoderma* Species Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Causing Tomato Wilt. *Plant Pathology Journal*, 17 (2) : 59-64.
- 152. SINGHA I.M., KAKOTY Y., UNNI B.G., DAS J. et KALITA M.C., 2016.** - Identification and characterization of *Fusarium* sp. using ITS and RAPD causing *Fusarium* wilt of tomato isolated from Assam, North East India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14 : 99-105
- 153. SINGHANIA R.R., SUKUMARAN R.K., PILLAI A., PREMA P., SZAKACS G. et PANDEY A., 2006.** - Solid-state fermentation on lignocellulosic substrates for cellulase production by *Trichoderma reesei* NRRL 11460. *Indian journal of Biotechnology*, 5 (Suppl) : 332-336.
- 154. SINNO M., RANESI M., LAURA G., D'ERRICO G. et WOO SHERIDAN L., 2020.** - Endophytic Fungi of Tomato and Their Potential Applications for Crop Improvement. *Agriculture*, 10 : 587 : doi:10.3390.
- 155. SMITH S.N., 2007.** - An Overview of Ecological and Habitat Aspects in the Genus *Fusarium* with Special Emphasis on the Soil-Borne Pathogenic Forms. *Plant Pathology Bulletin*, 16 (3) : 97-120.
- 156. SOFO A., SCOPA A., MANFRA M., DE NISCO M., TENORE G., TROISI J., DI FIORI R. et NOVELLINO E., 2011.** - *Trichoderma harzianum* strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (*Prunus cerasus* × *P. canescens*). *Plant. Growth Regul.*, 65 : 421-425.
- 157. SONG W., ZHOU L., YANG C., CAO X., ZHANG L. et LIU X., 2004.** - Tomato *Fusarium* wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system. *Crop Protection*, 23 : 243-247.
- 158. SRINIVAS C., D. DEVI N., MURTHY N.K., MOHAN C.D., LAKSHMEESHA T.R., SINGH B., KALAGATUR N.K., NIRANJANA S.R., HASHEM A., ALQARAWI A.A., TABASSUM B., ABDALLAH E.F., NAYAKA S.C. et SRIVASTAVA R.K., 2019.** - *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato : Biology to diversity– A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26 : 1315-1324.
- 159. SUMMERELL B. A., SALLEH B. et LESLIE J. F., 2003.** - A utilitarian approach to *Fusarium* identification. *Plant Disease*, 87 : 117-128.
- 160. TAKKEN F. et REP M., 2010.** - The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 11 (2) : 309-314.

- 161. TANG P., MOHAN S., SIGLER L., WITTERICK I., SUMMERBELL R., CAMPBELL I. et MAZZULLI T., 2003.** - Allergic fungal sinusitis associated with *Trichoderma longibrachiatum*. *J. Clin. Microbiol.*, 41(11) : 5333-5336.
- 162. TAVGA S.R., AWLA H.K. et KAMARUZAMAN S., 2018.** - Antifungal effects of *Rhus coriaria* L. fruit extracts against tomato anthracnose caused by *Colletotrichum acutatum*. *Industrial Crops & Products*, 113 : 391-397.
- 163. VAN D.P., FOKKENS L., SCHMIDT S.M., LINMANS J.H. J., KISTLER H.C., MA L.J. et REP M., 2016.** - Effector profiles distinguish formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Environ. Microbiol.*, 18 (11) : 4087-4102.
- 164. VARGAS W.A., MANDAWA J.C. et KENERLEY C.M., 2009.** - Plant-Derived Sucrose Is a Key Element in the Symbiotic Association between *Trichoderma virens* and Maize Plants. *Plant Physiology*, 151 : 792-808.
- 165. VARGAS-INCIARTE L., FUENMAYOR-ARRIETA Y., LUZARDO-MENDEZ M., COSTA-JARDIN M., VERA A., CARMONA D., HOMEN-PEREIRA M., DA COSTA-J. P. et SAN-BLAS E., 2019.** - Use of different *Trichoderma* species in cherry type tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) against *Fusarium oxysporum* wilt in tropical greenhouses. *Agronomía Costarricense*, 43 (1) : 85-100.
- 166. 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.
- 167. WATANABE T., 2010.** - Pictorial atlas of soil and seed fungi : morphologies of cultured fungi and key to species. 3rd Edition. Taylor and Francis Group, LLC, 405p.
- 168. WOUDEMBERG J.H.C., GROENEWALD J.Z., BINDER M. et CROUS P.W., 2013.** - *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology*, 75: 171-212.
- 169. WOUDEMBERG J.H.C., TRUTER M., GROENEWALD J.Z. et CROUS P.W., 2014.** - Large-spored *Alternaria* pathogens in section *Porri* disentangled. *Studies in Mycology*, 79: 1-47.
- 170. WOUDEMBERG J.H.C., SEIDL M.F., GROENEWALD J.Z., DE VRIES M., STIELOW J.B., THOMMA B.P.H.J. et CROUS P.W., 2015.** - *Alternaria* section *Alternaria* : Species, formae speciales or pathotypes? *Studies in Mycology*, 82: 1–21.
- 171. WOO S.L., RUOCCO M., VINALE F., NIGRO M., MARRA R., LOMBARDI N., PASCALE A., LANZUISE S., MANGANIELLO G. et LORITO M., 2014.** -

- Trichoderma*-based Products and their Widespread Use in Agriculture. The Open Mycology Journal, (8) Suppl-1, M4 : 71-126.
- 172. YEDIDIA I., SRIVASTVA A. K., KAPULNIK Y. et CHET I., 2001.** - Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant and soil, 235 : 235-242.
- 173. ZELLA L. et SMADHI D., 2009.** - Micro-irrigation de la tomate sous serre. Courrier du soir, (9) : 119-126.
- 174. ZHANG F., YANG X., RAN W., SHEN Q., 2014.** - *Fusarium oxysporum* induces the production of proteins and volatile organic compounds by *Trichoderma harzianum* T-E5. FEMS Microbiol Lett., 359 (1) :116-23.
- 175. ŽIVKOVIC S., STOJANOVIC S., IVANOVIC Ž., TRKULJA N., DOLOVAC N., ALEKSIC G. et BALAZ J., 2010.** - Identification of *Colletotrichum acutatum* from Tomato Fruit (2010) Pestic. Phytomed, 25 (3) : 231-239.

Références électroniques

1. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> (16/02/2021 à 11: 55h).
2. Sa<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (16/02/2021 à 11: 58h).
3. <https://fr.tutiempo.net/touggourt.html> (04/01/2020 à 20:13h).

Annexes

Annexes

Annexe 1. Echantillonnage des organes infectés de tomate sur différentes zones de l'Oued Righ (2016 à 2020)

Site	Ech.	Org. Inf.	Sys.
Zaouia Abidia			
Timacine		Plantes entières	Plein champs
Nezla	Composite et raisonné	sauf les fruits	
Megarine			
El Meghair		Plantes entières	Sous serre
	Raisonné	Feuilles et racines	Plein champs
CFVA (Sidi Mehdi)	Aléatoire simple	Plantes entières	Sous serre
	Aléatoire stratifié puis simple		
	Aléatoire simple	Feuilles et Racines	Sous serre
INRAA (Sidi Mehdi)	Aléatoire stratifié puis simple	Feuilles	
	Aléatoire stratifié puis simple et composite	Feuilles	
ONID (Ghamra)	Aléatoire stratifié simple; par niveaux puis aléatoire simple	Plantes entières	Serre multi-chapelle

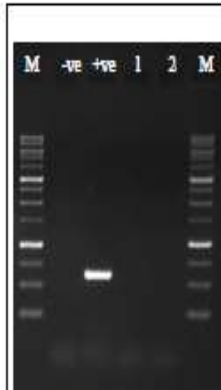
Ech. Type d'échantillonnage ; **Org. Inf.** Organe infecté ; **Sys.** Système de culture, **Prv.** Année de prélèvement

Annexe 2. Préparation du milieu de culture PDA

- Peser de 250 g de pomme de terre épluchée, lavée et découpée en petits cubes ;
- Faire les bouillir dans l'eau distillée pendant 20 minutes, les écraser pour obtenir une purée puis filtrer le bouillon à l'aide d'une mousseline ;
- Faire dissoudre 20 g de glucose et autant d'agar-agar, en homogénéisant la solution ;
- Ajuster le mélange obtenu jusqu'à un litre en ajoutant de l'eau distillée ;
- Autoclaver le mélange (contenu dans des flacons) dans une autoclave à 120 °C, pendant 20 minutes, en tenant compte que les flacons ne doivent pas être remplis à ras et les bouchons doivent être plus au moins dévissés avant la stérilisation ;
- Près de bec Bunsen, couler le milieu obtenu dans des boîtes de Pétri.

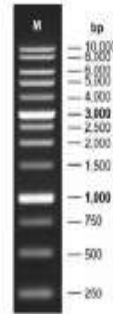
Fungi, Internal transcribed spacer (ITS) PCR results, ~ 700 bp

1. Gel Photo



Comment:
All samples showed no band. Repeat with 10X dilution of gDNA for verification.

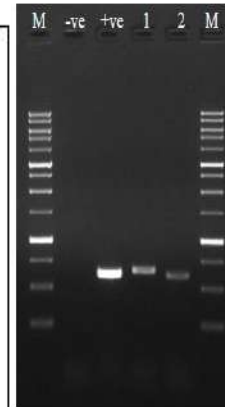
Aliquots of 1 ul PCR were run on 1% TAE agarose gel at 100V for 60 min.
-ve: No template control
+ve: Positive control



1st BASE

GMs: BK1-0140
ExactMatch: 9kb
DNA ladder
(250 – 10,000 bp)

Verification with 10X dilution gDNA (ITS gene primers)



Comment:
All samples showed positive band.

Aliquots of 1 ul PCR were run on 1% TAE agarose gel at 100V for 60 min.
-ve: No template control
+ve: Positive control

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
Trichoderma asperellum isolate T-11-25 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	475	475	100%	6e-130	100.00%	MT341772.1
Trichoderma asperellum strain Tasp7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	475	475	100%	6e-130	100.00%	MN639284.1
Trichoderma asperellum isolate CNPMF29 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	475	475	100%	6e-130	100.00%	MN493637.1
Trichoderma asperellum isolate CNPMF25 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	475	475	100%	6e-130	100.00%	MN493633.1

Annexe 3. Identification de l'espèce de *Trichoderma asperellum*

Annexe 4. Différents milieux de cultures utilisés pour la mise en culture de *T. asperellum*

Milieu de culture	Ingrédients (01 L)	Richesse	pH du milieu de démarrage
PDA	250g pomme de terre glucose 20g agar-agar	Amidon et glucose	6 Légèrement acide
Carotte	400 g carotte 20g agar-agar	Saccharose	3 Fortement acide
Avoine	70 grammes avoine 20g agar-agar	Maltose	2 Fortement acide
Datte	15 ml de Robb (1kg de dattes sur 2L d'eau) 20g agar-agar	Fructose et glucose naturel	3 Fortement acide
Betterave	400g de betterave rouge 20g agar-agar	Saccharose	4 Fortement acide
Milieu sélectif	0,2 g MgSO ₄ ·7H ₂ O 0,9 g K ₂ HPO ₄ 1 g NH ₄ NO ₃ 0,15 g KCl 0,15 g Rose Bengal 6,3 g glucose 7,20 g agar-agar	Glucose	4 Fortement acide

Annexe 5. Flore fongique associée à la tomate dans la région de l'Oued Righ (2016 à 2020)

Organe attaqué	2016				
	Zaouia Abidia	Timacine	Nezla	Berkadjia	Mégarine
Tige	<i>Penicillium</i> sp. <i>A. niger</i> <i>F. oxysporum</i> <i>Alternaria</i> spp. <i>T. roseum</i> <i>Didymella</i> sp. <i>Stemphylium</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>Stemphylium</i> spp. <i>T. roseum</i> <i>Penicillium</i> sp. <i>F. oxysporum</i> <i>Ulocladium</i> sp.		<i>S. sclerotiorum</i> <i>B. cinerea</i>	
Feuille	<i>Alternaria</i> spp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>A. niger</i> <i>F. oxysporum</i>	<i>Alternaria</i> spp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Monilinia</i> sp.	<i>Alternaria</i> spp. <i>Penicillium</i> sp. <i>T. roseum</i> <i>F. oxysporum</i> <i>Stemphylium</i> spp. <i>Rhizopus</i> sp.	<i>Alternaria</i> spp.	<i>Alternaria</i> spp. <i>Stemphylium</i> spp.
Racine	<i>Alternaria</i> spp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Stemphylium</i> spp. <i>A. niger</i> <i>T. roseum</i> <i>Rhizopus</i> sp. <i>F. oxysporum</i>	<i>Alternaria</i> spp. <i>F. oxysporum</i> <i>Stemphylium</i> spp.		<i>S. sclerotiorum</i> <i>B. cinerea</i>	

Organe attaqué	2017/2018	
	Sidi Mehdi (INRAA)	Sidi Mehdi (CFVA)
Tige	<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>F. oxysporum</i>	<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Alternaria</i> spp.
Feuille		<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Alternaria</i> spp.
Racine	<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i> <i>A. niger</i>

Organe attaqué	2018/2019	
	Sidi Mehdi (INRAA)	Oum T'your
Tige	<i>F. oxysporum</i>	
Feuille	<i>Alternaria</i> spp. <i>Cladosporium</i> sp.	<i>Bipolaris</i> sp. <i>A. niger</i> <i>F. oxysporum</i> spp.
Racine	<i>F. oxysporum</i>	

Organe attaqué	Sidi Mehdi (INRAA) 2019
Feuille	<i>Alternaria</i> spp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>F. oxysporum</i> <i>Ulocladium</i> sp. <i>A. flavus</i> <i>Penicillium</i> sp. <i>Rhizopus</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp. <i>Neotyphodium</i> sp.

Organe attaqué	2020		
	Ghamra (ONID)	Sidi Mehdi (INRAA)	Sidi Mehdi (CFVA)
Tige	<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Ulocladium</i> sp. <i>S. sclerotiorum</i> <i>Trichoderma</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.		<i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Ulocladium</i> sp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Cladosporium</i> sp.
Fruit	<i>S. sclerotiorum</i> <i>Alternaria</i> spp. <i>Rhizopus</i> sp. <i>Cladosporium</i> sp.		
Pétiole	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Trichoderma</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>A. niger</i> <i>Cladophialophora</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp.		<i>Cladosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Rhizopus</i> sp. <i>A. flavus</i>
Feuille	<i>Alternaria</i> spp. <i>Cladosporium</i> sp. <i>Cladophialophora</i> sp. <i>Rhizopus</i> sp. <i>Ulocladium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp.	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Alternaria</i> spp. <i>Rhizopus</i> sp. <i>A. flavus</i> <i>F. oxysporum</i>	<i>Alternaria</i> spp. <i>Rhizoctonia</i> sp. <i>Penicillium</i> sp. <i>Rhizopus</i> sp.
Collet	<i>Rhizopus</i> sp. <i>Trichoderma</i> sp. <i>F. oxysporum</i> <i>S. sclerotiorum</i>		
Racine	<i>Trichoderma</i> sp. <i>S. sclerotiorum</i>		<i>Cladosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> spp.

Annexe 6

Tableau : Classement des symptômes de *F. oxysporum* sur les plants de tomate selon l'échelle de RODRIGUES et MENEZES (2006)

Plante	1		2		3		4		5	
	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.
Après 15 jours	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Après 21 jours	0	3	0	2	0	1	0	4	0	2
Après 30 jours	0	4	0	4	0	4	0	4	0	4

Tém. : Témoin, Inoc. : Plante inoculée

Tableau : Analyses descriptives des données obtenues de l'inoculation de *F. oxysporum* sur les plants de tomates

	N	Moyenne	Stand. err.	Minimum	Maximum
Notation1	5	0,40	0,25	0	1
Notation2	5	2,40	0,51	1	4
Notation3	5	4	0	4	4

N : Nombre d'échantillon ; Stand. err. : Standard erreur

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

	Statistique	ddl	p
Traitement	0,961	5	0,814

ddl : degré de liberté ; p \geq 0,05

Tableau : Test de Student mené après 21 jours d'évaluation de *F. oxysporum*

	ddl	F	p
Comparaison Inter-groupes	8	4,71	0,002

ddl : degré de liberté ; p : Signification \leq 0,05

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

	Statistique	ddl	p
Notation1	0,684	5	0,006
Notation2	0,961	5	0,814

Ddl : Degré de liberté ; p \geq 0,05

		Récapitulatif du test d'hypothèse			
		Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
N Total	5	Les distributions de Notation1, Notation3 and Notation2 sont identiques.	Analyse de la variance par rang d'ordre 2 de Friedman à échantillons associés	,008	Rejeter l'hypothèse nulle.
Statistique de test	9,579				
Degrés de liberté	2				
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,008				
Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est ,05.					

Figure : Test de Friedman mené sur les trois notations d'inoculation de la fusariose sur plants

Annexe 7

Tableau : Classement des symptômes de *F. oxysporum* sur les fruits de tomate selon l'échelle de ROSERO-HERNANDEZ et al. (2019)

Fruit	1		2		3		4		5	
	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.	Tém.	Inoc.
Après 11 ^{ème} jours	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1
Après 13 ^{ème} jours	0	1	1	1	0	1	0	2	0	1
Le 16 ^{ème} jour	0	1	3	1	0	2	0	3	0	2

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

	Statistique	ddl	p
Témoin	0,552	5	0,000
Inoculé	0,821	5	0,119

Ddl : Degré de liberté ; $p \geq 0,05$

Récapitulatif du test d'hypothèse				
	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de Notation3 est identique sur les catégories de Traitement.	Test de Kruskal-Wallis à échantillons indépendants	,063	Retenir l'hypothèse nulle.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est ,05.

Figure : Test de Kruskal-Wallis mené sur les trois notations d'inoculation de la fusariose sur fruits

Annexe 8

Tableau : Développement des colonies de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (cm) en présence de *T. asperellum*

Test		Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 6
Témoin	Boite 1	0,6	2,5	4	5	6,5	8,5
	Boite 2	1	2,5	4,1	5,5	6,8	8,5
	Boite 3	0,7	1,5	2,5	2,9	6,1	8,5
	Boite 4	0,7	2,5	4	5	6,5	8,5
	Boite 5	0,7	2,5	4	5	6,5	8,5
Compétition	Boite 1	0,7	2	2	2,5	2,5	2,5
	Boite 2	0,7	1,2	3	4	4	4
	Boite 3	0,6	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6
	Boite 4	0,7	1,7	2,4	3,8	3,8	3,8
	Boite 5	0,6	1,5	3	3,7	3,7	3,7
Antibiose	Boite 1	0,7	1,6	1,7	1,8	1,8	1,8
	Boite 2	0,7	1,1	2,5	3,5	4,3	4,3
	Boite 3	0,6	1,3	1,4	1,3	2,7	2,7
	Boite 4	0,6	1,1	1,8	2	4,5	4,5
	Boite 5	0,6	0,9	2	3,5	5	8,5
Mycoparasitisme	Boite 1	0,5	0,5	2	2	2	2
	Boite 2	0,5	0,5	3	3	3	3
	Boite 3	0,5	0,5	2	2	2	2
	Boite 4	0,5	0,5	2,8	2,8	2,8	2,8
	Boite 5	0,5	0,5	2,6	2,6	2,6	2,6

Tableau : Analyses descriptives de l'effet inhibiteur de *T. asperellum*

	Moyenne	Ecart-type	Minimum	Maximum
Compétition	2,92	1,42	0,6	4
Antibiose	4,36	2,57	1,8	8,5
Mycoparasitisme	2,48	0,46	2	3

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

Tests	Statistique	ddl	p
Compétition	0,817	5	0,110
Antibiose	0,902	5	0,423
Mycoparasitisme	0,868	5	0,257

ddl : Degrés de liberté ; p > 0,05

Tableau : Test d'ANOVA à 1 facteur de l'effet inhibiteur de *T. asperellum*

	ddl	Moyenne des carrés	F	p
Inter-groupes	3	37,633	16,996	0,000

ddl : Degrés de liberté ; p < 0,05

Tableau : Test d'homogénéité de la variance de Levene basé sur les moyennes de l'effet inhibiteur de *T. asperellum*

	Statistique de Levene	ddl1	ddl2	p
Test de Levene	1,889	2	12	0,194

ddl : Degrés de liberté ; **p** : Signification $\geq 0,05$

Tableau : Comparaisons multiples des moyennes (test de Tukey) de chaque test d'antagonisme

Test	Comparaison	p
Compétition^a	Antibiose ^a	0,409
	Mycoparasitisme ^a	0,914
Antibiose^a	Compétition ^a	0,409
	Mycoparasitisme ^a	0,234
Mycoparasitisme^a	Compétition ^a	0,914
	Antibiose ^a	0,234

Diff. de moy. : Différence des moyennes ; **p** : La différence moyenne est significative $\leq 0,05$; Les lettres différentes se diffèrent significativement selon Tukey ($p \leq 0,05$).

Annexe 9

Tableau : Diamètres du développement de *T. asperellum* (cm) en présence de différentes sources carbohydratées et en fonction du temps

J	Milieu sélectif						PDA						Carotte						Avoine						Datte						Betterave					
	1	2	3	4	5	M	1	2	3	4	5	M	1	2	3	4	5	M	1	2	3	4	5	M	1	2	3	4	5	M	1	2	3	4	5	M
2	0,7	0,9	1	0,8	0,7	0,82	0,7	1	0,9	0,9	0,9	0,88	0,8	0,9	1	0,7	0,8	0,84	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6	0,58	1	1	1	0,9	0,8	0,94	0,8	0,8	1	0,8	0,8	0,84
3	1,2	1	2	1,5	1,2	1,38	2,5	2	2,6	3,5	1	2,32	1,2	2	2	2,5	2	1,94	0,7	5,5	5	5,5	4,3	4,2	4	4,4	4,5	4,5	4,5	4,38	5,1	4,1	4,9	4,5	5	4,72
4	2,5	3,3	5,5	3,5	2,1	3,38	3,3	3,7	3,5	3,6	5,1	3,84	2,7	3,1	3,5	3,1	3	3,08	6	7,5	8	8	8,5	7,6	8	8	8,1	8,1	8	8,04	7,5	5	6	6,5	7	6,4
5	5,2	5,8	7,5	5,7	5	5,84	7	8	8,5	5,5	8	7,4	5,5	5,5	5,7	5,5	5,5	5,54	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,1	8,3	8,4	8,3	8,2	8,26	8,3	7	7,4	7,1	8	7,56
6	7,5	8,5	8,5	6,5	8	7,8	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5

J: jour; M: Moyenne

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

	Statistique	ddl	p	
Croissance mycélienne	Milieu sélectif	0,903	5	0,426
	PDA	0,748	5	0,028
	Carotte	0,942	5	0,680
	Datte	0,859	5	0,223
	Betterave	0,684	5	0,006

Ddl: Degrés de liberté; **p:** Signification $\geq 0,05$

N Total	30
Statistique de test	24,504
Degrés de liberté	5
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,000

	Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
1	La distribution de Croissance mycélienne est identique sur les catégories de Source de carbone.	Test de Kruskal-Wallis à échantillons indépendants	,000	Rejeter l'hypothèse nulle.

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est ,05.

Figure : Test de Kruskal Wallis appliqué sur les données de croissance mycélienne de *T. asperellum* sur les différentes sources de carbone

Tableau : Tests de normalité de Shapiro-Wilk menés sur les données de croissance mycélienne obtenues sur chaque milieu de culture carbonique

Milieux de culture	Milieu sélectif			PDA			Carotte			Avoine			Datte			Betterave		
	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p
Jour 2	0,902	5	0,421	0,828	5	0,135	0,961	5	0,814	0,961	5	0,814	0,771	5	0,046	0,552	5	0,000
Jour 3	0,893	5	0,375	0,975	5	0,904	0,856	5	0,215	0,856	5	0,215	0,676	5	0,005	0,896	5	0,39
Jour 4	0,903	5	0,426	0,748	5	0,028	0,942	5	0,68	0,942	5	0,68	0,684	5	0,006	0,979	5	0,928
Jour 5	0,838	5	0,161	0,877	5	0,294	0,552	5	0,000	0,552	5	0,000	0,961	5	0,814	0,905	5	0,437
Jour 6	0,781	5	0,056	0,552	5	0,000	0,807	5	0,093	0,807	5	0,093	0,961	5	0,814			
Jour 7	0,698	5	0,009				0,868	5	0,258	0,868	5	0,258						
Jour 8	0,896	5	0,39															
Jour 9	0,881	5	0,314															

Stat. : Statistique, ddl : Degré de liberté, p ≥ 0.05

Tableau : Tests de Friedman menés sur les données de croissance mycélienne obtenues sur chaque milieu de culture en fonction du temps

	Milieu sélectif	PDA	Carotte	Avoine	Datte	Betterave
Khi-deux	33,495	33,776	34,174	34,174	35	35
ddl	7	7	7	7	7	7
p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

ddl : Degré de liberté, p : Signification ≤ 0.05

Annexe 10

Tableau : Développement des colonies (cm) de *T. asperellum* sous différents traitements (salinité et température)

g/l	27 °C					30 °C					35 °C				
	0	0,5	2	6	10	0	0,5	2	6	10	0	0,5	2	6	10
1 Jour	2,7	3,5	3,3	3,3	3,1	4	4,1	3,5	3,5	3,2	3	3	3,1	3	2,3
	2,5	3	3	3,5	3,3	4,3	3	3,5	3,5	3,2	3	3	3,1	3,1	5,1
	3,5	3,3	3,2	2,8	3,1	2,8	3	3,6	3,5	3,4	3	3	3	3,1	2,8
2 Jour	7	6,4	8,1	7,2	7,3	4	8,2	8,5	7,3	7,5	5,1	5,8	6	5,4	8
	7,1	7,7	8,5	8	7,2	8	7,5	8,5	7,9	7,6	5,1	5,8	7,3	5,6	4,7
	7	7	8	7,7	8,1	8	8,2	8,1	6,8	7,8	5,1	5,8	5,7	5,6	5,6
3 Jour						8,5	8,5	8,5	7,6	7,5	8,5	8,5	7,5	8,5	8
	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,4	7,6	7,6	7,9	7,5	7,7	8
						8,5	8,5	8,5	8,3	8,3	7,6	7,9	8	7,7	8,5
4 Jour	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5

Tableau : Analyses descriptives de développement des colonies (cm) de *T. asperellum*

T°	Moyenne				
	0 g/l	0,5 g/l	2 g/l	6 g/l	10 g/l
27 °C	7,03	7,03	8,2	7,63	7,53
30 °C	6,67	7,97	8,3	7,33	7,63
35 °C	5,1	5,8	6,33	5,53	6,1
Erreur Standard					
	0 g/l	0,5 g/l	2 g/l	6 g/l	10 g/l
27 °C	0,03	0,38	0,15	0,23	0,28
30 °C	1,33	0,23	0,13	0,32	0,09
35 °C	0	0	0,49	0,07	0,98
Minimum					
	0 g/l	0,5 g/l	2 g/l	6 g/l	10 g/l
27 °C	7	6,4	8	7,2	7,2
30 °C	4	7,5	8,1	6,8	7,5
35 °C	5,1	5,8	5,7	5,4	4,7
Maximum					
	0 g/l	0,5 g/l	2 g/l	6 g/l	10 g/l
27 °C	7	7,7	8,5	8	8,1
30 °C	8	8,2	8,5	7,9	7,8
35 °C	5,1	5,8	7,3	5,6	8

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

Lots salins	27 °C			30 °C			35 °C		
	Statistique	ddl	p	Statistique	ddl	p	Statistique	ddl	p
0 g/l	0,750	3	0	0,750	3	0	0,885	3	0,339
0,5 g/l	0,998	3	0,915	0,750	3	0,000	0,750	3	0,000
2 g/l	0,893	3	0,363	0,750	3	0,000	0,936	3	0,510
6 g/l	0,980	3	0,726	0,997	3	0,90*	0,885	3	0,339
10 g/l	0,832	3	0,194	0,964	3	0,63*	0,750	3	0,000

Ddl: Degrés de liberté; p: $\geq 0,05$

27 °C :

N Total		15
Statistique de test		9,528
Degrés de liberté		4
Sig. asymptotique (test bilatéral)		,049

Récapitulatif du test d'hypothèse				
Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision	
1 La distribution de Développement mycélien est identique sur les catégories de Lots salins.	Test de Kruskal-Wallis à échantillons indépendants	,049	Rejeter l'hypothèse nulle.	

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est ,05.

30 °C :

N Total		15
Statistique de test		7,814
Degrés de liberté		4
Sig. asymptotique (test bilatéral)		,099

Récapitulatif du test d'hypothèse				
Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision	
1 La distribution de Développement mycélien est identique sur les catégories de Lots salins.	Test de Kruskal-Wallis à échantillons indépendants	,099	Retenir l'hypothèse nulle.	

Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est ,05.

35 °C :

N Total		15
Statistique de test		8,107
Degrés de liberté		4
Sig. asymptotique (test bilatéral)		,088

Récapitulatif du test d'hypothèse				
Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision	
1 La distribution de Développement mycélien est identique sur les catégories de Lots salins.	Test de Kruskal-Wallis à échantillons indépendants	,088	Retenir l'hypothèse nulle.	

Annexe 11

Tableau : Taux d'absorbance optique des spores de *T. asperellum* sous différents traitements

	Boîte	27 °C	30 °C	35 °C
Témoin	1	0,011	0,238	0,013
	2	0,009	0,24	0,015
	3	0,01	0,24	0,015
0,5 g/l	1	0,002	0,223	0,078
	2	0,001	0,226	0,081
	3	0,001	0,227	0,109
2 g/l	1	0,006	0,257	0,179
	2	0,004	0,265	0,18
	3	0,007	0,269	0,186
6 g/l	1	0,008	0,307	0,109
	2	0,031	0,309	0,106
	3	0,025	0,311	0,103
10 g/l	1	0,006	0,272	0,2
	2	0,014	0,279	0,209
	3	0,011	0,286	0,207

Tableau : Statistiques descriptives relatives à l'absorbance optique de *T. asperellum*

Température	Salinité g/l	Moyenne	Erreur Standard	Minimum	Maximum
27 °C	0	0,01	0,000667	0,009	0,011
	0,5	0,001333	0,000444	0,001	0,002
	2	0,005667	0,001111	0,004	0,007
	6	0,021333	0,008889	0,008	0,031
	10	0,010333	0,002889	0,006	0,014
30 °C	0	0,239333	0,000889	0,238	0,24
	0,5	0,225333	0,001556	0,223	0,227
	2	0,263667	0,004444	0,257	0,269
	6	0,309	0,001333	0,307	0,311
	10	0,279	0,004667	0,272	0,286
35 °C	0	0,014333	0,000889	0,013	0,015
	0,5	0,089333	0,013111	0,078	0,109
	2	0,181667	0,002889	0,179	0,186
	6	0,106	0,002	0,103	0,109
	10	0,205333	0,003556	0,2	0,209

Tableau : Tests de normalité de Shapiro-Wilk

Niveaux de sels	27 °C			30 °C			35 °C		
	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p	Stat.	ddl	p
0 g/l	1,000	3	1,000	0,750	3	0,000	0,750	3	0,000
0.5 g/l	0,750	3	0,000	0,923	3	0,463	0,822	3	0,168
2 g/l	0,964	3	0,637	0,964	3	0,637	0,855	3	0,253
6 g/l	0,929	3	0,485	1,000	3	1,000	1,000	3	1,000
10 g/l	0,980	3	0,726	1,000	3	1,000	0,907	3	0,407

Stat. : Statistique, **ddl** : Degré de liberté, **p** : Signification $\geq 0,05$

27 °C		30 °C		35 °C	
N Total	15	N Total	15	N Total	15
Statistique de test	10,515	Statistique de test	13,524	Statistique de test	13,005
Degrés de liberté	4	Degrés de liberté	4	Degrés de liberté	4
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,033	Sig. asymptotique (test bilatéral)	,009	Sig. asymptotique (test bilatéral)	,011

Figure : Tests de Kruskal Wallis appliqués sur les données de l'absorbance de *T. asperellum* en fonction de la salinité du milieu

Annexe 12

Tableau : Evaluation des symptômes caractéristiques à la fusariose inoculée dans la tomate sous différents traitements

Plante	préventif			simultané			curatif			T. négatif			T. positif		
	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	0	0	3
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4
3	0	0	0	1	4	4	0	0	0	4	4	4	3	4	4
4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	4	4	4	4	4	4
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4	4	4
6	0	4	4	0	0	4	1	4	4	4	4	4	3	4	4
7	0	4	4	0	4	4	1	4	4	4	4	4	3	4	4
8	0	4	4	3	4	4	2	4	4	2	4	4	0	4	4
9	0	4	4	3	4	4	4	4	4	1	3	4	3	4	4
10	0	4	4	0	4	4	4	4	4	0	0	4	3	4	4

N1 : notation de symptômes en 03 Mars ; **N2** : notation de symptômes en 10 Mars ; **N3** : notation de symptômes en 02 Avril

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

Incidence de la fusariose	Statistique	ddl	p
Témoin positif	0,366	10	0,000
Traitement négatif	0,655	10	0,000
Traitement simultané	0,594	10	0,000
Traitement curatif	0,655	10	0,000

ddl : Degrés de liberté ; $p \geq 0,05$

		Récapitulatif du test d'hypothèse			
		Hypothèse nulle	Test	Sig.	Décision
N Total	50	La distribution de l'incidence de la fusariose est identique sur les catégories de Traitement.	Test de Kruskal-Wallis à échantillons indépendants	,027	Rejeter l'hypothèse nulle.
Statistique de test	10,971				
Degrés de liberté	4				
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,027				
Les significations asymptotiques sont affichées. Le niveau de signification est ,05.					

Figure : Test de Kruskal-Wallis appliqué sur les dernières données de l'incidence de la fusariose sous différents traitements

Tableau : Test de normalité de Shapiro-Wilk

	Incidence de la fusariose	Statistique	ddl	p
N1	Témoin non traité	0,659	10	0,000
	Témoin Chimique	0,728	10	0,002
	Traitement simultané	0,606	10	0,000
	Traitement curatif	0,748	10	0,003
N2	Témoin non traité	0,475	10	0,000
	Témoin Chimique	0,366	10	0,000
	Traitement préventif	0,655	10	0,000
	Traitement simultané	0,655	10	0,000
N3	Traitement curatif	0,655	10	0,000
	Témoin Chimique	0,366	10	0,000
	Traitement préventif	0,655	10	0,000
	Traitement simultané	0,594	10	0,000
	Traitement curatif	0,655	10	0,000

N1 : notation de symptômes en 03 Mars ; **N2** : notation de symptômes en 10 Mars ; **N3** : notation de symptômes en 02 Avril **ddl** : Degrés de liberté ; $p \geq 0,05$

N Total	10	N Total	10	N Total	10
Statistique de test	5,000	Statistique de test	12,286	Statistique de test	10,000
Degrés de liberté	2	Degrés de liberté	2	Degrés de liberté	2
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,082	Sig. asymptotique (test bilatéral)	,002	Sig. asymptotique (test bilatéral)	,007
Témoin non traité		Témoin chimique		Traitement préventif	
N Total	10	N Total	10		
Statistique de test	11,143	Statistique de test	6,000		
Degrés de liberté	2	Degrés de liberté	2		
Sig. asymptotique (test bilatéral)	,004	Sig. asymptotique (test bilatéral)	,050		
Traitement simultané		Traitement curatif			

Figure : Tests de Friedman appliqué sur les données de l'incidence de la fusariose dans chaque traitement en fonction du temps

Annexe 13

PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
3	3.431	26.37	C:\Database\NIST02.L n-Butyl ether	13195	000142-96-1	80
			Butane, 1-(2-chloroethoxy)-	15529	018583-96-5	72
			Etanol, 2-propoxy	8249	000111-76-2	64
2	4.133	0.44	C:\Database\NIST02.L Butene, 1-isocyanato-	47723	1000236-36-3	59
			Cyclobutane, 1-hexyl-2,3-dimethyl-	34835	055170-84-8	38
3	6.766	3.12	C:\Database\NIST02.L Di-tert-butyl ether	13216	006163-66-2	50
			2-Propanol, 2-methyl-	8648	000079-05-0	35
			2-Propanol, 1-methoxy-2-methyl-	4684	001587-64-2	35
4	21.030	0.46	C:\Database\NIST02.L Ketene	54	000463-51-4	2
			Metane, diazo-	61	000334-88-3	2
			Nitrogen	16	007727-37-9	1
5	22.017	0.31	C:\Database\NIST02.L Cyclopropane carboxamide, 2-cyclop	60920	331416-19-4	49
			propyl-2-methyl-N-(1-cyclopropyleth			
			yl)-			
			Cholesterol-3,22,26-triol 16-[2-[forn	169159	1000252-58-3	38
			methylethyl)-			
			3H-Indene, 2-butyl-5-hexyloctahydr	96982	055044-33-2	25
			o-			
6	26.378	38.56	C:\Database\NIST02.L 9-Octadecenoic acid, (E)-	107524	000112-79-8	50
			Erucic acid	23622	000112-86-7	45
			3,3-Propanediol, 2-dodecyl	84853	010305-80-2	45

7	26.734	10.17	C:\Database\NIST02.L 13-Tetradecen-1-ol acetate	90869	056221-91-1	90
			2,3-Dihydroxypropyl elaidate	143460	002716-53-2	80
			Cyclotetrasiloxane	135651	000297-03-0	53
8	27.060	6.36	C:\Database\NIST02.L Oleic Acid	107519	000112-80-1	81
			2-Methyl-2,7,13-octadecadienol	106377	1000130-90-5	74
			9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	143480	000111-03-5	55
9	27.656	10.85	C:\Database\NIST02.L 7-Pentadecyne	61699	022089-89-0	91
			1-Eicosene	106395	003452-07-1	56
			2-Methyl-7,7,13-octadecadienol	106377	1000130-90-5	52
10	28.454	5.38	C:\Database\NIST02.L Cyclopropanoic acid, 2-octyl-	106376	056196-06-6	62
			2-Methyl-7,7,13-octadecadienol	106377	1000130-90-5	60
			1-Eicosene	106395	003452-07-1	56

NEAFL.M Mon Oct 26 15:20:59 2020

Figure : Composés volatils de l'extrait butanolique de *T. asperellum*

N#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	3.240	20.93	C:\Database\NIST02.L Butanoic acid	1989	000187-92-6	86
			Butanoic acid	1986	000187-92-6	86
			4-Bromobutyric acid	33395	002623-87-2	56
2	4.893	0.72	C:\Database\NIST02.L Butanoic acid, butyl ester	20032	000189-21-7	89
			Propenoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	20153	000057-05-8	72
			Propenoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	20152	000057-05-8	72
3	5.734	0.53	C:\Database\NIST02.L 3H-Tetrazole, 5-methyl-	1307	000476-36-2	59
			2-Ethylthiolane, 5,5-dioxide	21931	010270-50-3	48
			Cyclobutane, 3,2-dimethyl-, trans-	6640	019351-98-1	48
4	6.397	0.20	C:\Database\NIST02.L Undecane	27117	001120-21-4	81
			Tridecane	45542	000629-58-5	89
			Undecane	27119	001120-21-4	72
5	8.996	1.01	C:\Database\NIST02.L Butanoic acid, amyl ester	28538	000186-31-0	53
			2-Furamethanone, tetrahydro-3-methyl-hepta-1,6-dien-5-ol	11059	034789-63-5	59
6	10.895	0.21	C:\Database\NIST02.L Butanoic acid, 2-methyl-1-methyl-2-methyl ester	28819	000415-61-4	72
			Butanoic acid, 1-methylbutyl ester	28829	000415-61-4	72
7	10.525	0.68	C:\Database\NIST02.L Cyclopropane, nonyl-	34735	074663-85-7	95
			1-Heptadecene	81253	006765-39-5	95
			Cyclododecane	34780	000294-62-2	94
8	11.317	0.55	C:\Database\NIST02.L .beta.-Phenylethyl butyrate	50310	000183-52-6	78
			.beta.-Phenylethyl butyrate	50310	000183-52-6	78
			Propenoic acid, 2-phenylethyl ester	41062	000122-70-1	72
9	13.825	0.56	C:\Database\NIST02.L 9-Eicosene, (E)-	106399	074685-29-3	98
			1-Eicosene, (E)-	106400	074685-33-9	98
			5-Eicosene, (E)-	106398	074685-36-5	95
10	15.279	0.71	C:\Database\NIST02.L 1-Octadecene	89783	000112-88-9	98
			Dichloroacetic acid, heptadecyl ester	146886	1000282-98-2	93
			5-Eicosene, (E)-	106398	074685-36-6	90
11	15.685	0.24	C:\Database\NIST02.L 18-Heptadecenal	99755	1000144-57-9	95
			E-2-Tetradecen-1-ol	64462	1000130-83-7	86
			18-Nonadecan-1-ol	107628	1000142-89-2	86
12	15.733	0.82	C:\Database\NIST02.L N-Phenethylbenzenesulfonamide	94895	077198-99-3	78
			Benzenesulfonamide, N-butyl-	64847	000322-84-2	59
			Benzenesulfonamide, N-butyl-	64848	000322-84-2	58
13	16.514	0.20	C:\Database\NIST02.L 1,2-Dioxadiazine	100935	053057-53-7	35
			3-Trifluoroacetoxypentadecane	129714	1000245-47-8	14
			1,2,3,3'-Tetracyclopentane, 2'-di	109086	055202-68-3	32
14	17.324	3.82	C:\Database\NIST02.L 1-Eicosene, (E)-	106400	074685-33-9	94
			Trichloroacetic acid, pentadecyl ester	148519	074335-53-0	64
			Trichloroacetic acid, hexadecyl ester	152927	076339-54-1	64
15	18.170	0.87	C:\Database\NIST02.L 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester	143480	000111-03-5	49
			Cyclohexane, 1-(1,5-dimethylhexyl)-	106410	056089-20-2	62
			4-(4-methylpentyl)-			
			Cyclohexanemethanol	54927	001892-12-2	43
16	18.368	0.22	C:\Database\NIST02.L Undec-10-ynoic acid	43834	002777-65-3	37
			2-Cyclopentene-1-undecanoic acid, (+)-	85684	000459-67-6	27
			Cyclopentanedicarboxylic acid	90871	000663-48-2	23
17	18.497	0.24	C:\Database\NIST02.L Cyclopropane carboxamide, 2-cyclopropyl-2-methyl-N-(1-cyclopropylethyl)-	60920	331416-19-4	47
			9-Tricosene, (Z)-	129664	027510-02-4	25
			9-Tricosene, (Z)-	129665	027510-02-4	25
18	18.983	0.45	C:\Database\NIST02.L Oleic Acid	107519	000112-80-1	46
			Undecylenic Acid	45170	000112-30-9	38
			12-Octadecenoic acid, methyl ester	115442	095554-46-2	25
19	19.155	1.39	C:\Database\NIST02.L 17-Pentatriacontene	168856	000971-80-0	65
			Hexadecanoic acid, butyl ester	124071	000111-06-0	43
			1-Undecene, 5-methyl-	34752	074638-38-9	41
20	19.941	0.56	C:\Database\NIST02.L Olefin, heptadecyl-	107529	057868-04-2	78
			1-Cyclohexanone	61782	114618-84-5	78
			8-Hexadecenal, 14-methyl-, (Z)-	89763	000609-53-2	78
21	18.107	0.13	C:\Database\NIST02.L Cyclohexanecarboxylic acid	35008	000441-63-0	47
			6-Bromohexanoic acid, octyl ester	120462	3000281-91-3	37
			Cyclohexane, 1-(cyclohexylmethyl)-	61719	054934-95-1	27
			4-methyl-, cis-			
22	20.659	0.49	C:\Database\NIST02.L Cyclohexacyclotetradecene, 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20-icosahydro-	119955	014113-62-3	90
			9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	106288	000068-33-3	90
			2,6,17-Octadecadienyl-1-ol acetate	121995	006252-73-5	86
23	20.899	0.48	C:\Database\NIST02.L Oleic Acid	107519	000112-80-1	91
			9-Octadecanamide, (Z)-	106874	000301-02-0	35
			1,1-Dimethyl-2-[2-methyl-1-(methoxycarbonyl)prop-2-yl]hydrazine	39060	057812-29-0	22
24	21.638	0.22	C:\Database\NIST02.L 1-Cyclohexenone	61702	114618-84-5	80
			Cyclopropanoic acid, 2-octyl-, E-2,1,3,12-Nonadecatriene	95830	1000131-11-3	64
25	22.244	0.44	C:\Database\NIST02.L Adamanane, 1-isothiocyanato-3-methyl-	60884	136860-48-5	68
			Propanedioic acid, mononitride, 2-1,2,7,8,10,12,14,16,18,20,22,24,26,28,30,32,34,36,38,40,42,44,46,48,50,52,54,56,58,60,62,64,66,68,70,72,74,76,78,80,82,84,86,88,90,92,94,96,98,100,102,104,106,108,110,112,114,116,118,120,122,124,126,128,130,132,134,136,138,140,142,144,146,148,150,152,154,156,158,160,162,164,166,168,170,172,174,176,178,180,182,184,186,188,190,192,194,196,198,200,202,204,206,208,210,212,214,216,218,220,222,224,226,228,230,232,234,236,238,240,242,244,246,248,250,252,254,256,258,260,262,264,266,268,270,272,274,276,278,280,282,284,286,288,290,292,294,296,298,300,302,304,306,308,310,312,314,316,318,320,322,324,326,328,330,332,334,336,338,340,342,344,346,348,350,352,354,356,358,360,362,364,366,368,370,372,374,376,378,380,382,384,386,388,390,392,394,396,398,400,402,404,406,408,410,412,414,416,418,420,422,424,426,428,430,432,434,436,438,440,442,444,446,448,450,452,454,456,458,460,462,464,466,468,470,472,474,476,478,480,482,484,486,488,490,492,494,496,498,500,502,504,506,508,510,512,514,516,518,520,522,524,526,528,530,532,534,536,538,540,542,544,546,548,550,552,554,556,558,560,562,564,566,568,570,572,574,576,578,580,582,584,586,588,590,592,594,596,598,600,602,604,606,608,610,612,614,616,618,620,622,624,626,628,630,632,634,636,638,640,642,644,646,648,650,652,654,656,658,660,662,664,666,668,670,672,674,676,678,680,682,684,686,688,690,692,694,696,698,700,702,704,706,708,710,712,714,716,718,720,722,724,726,728,730,732,734,736,738,740,742,744,746,748,750,752,754,756,758,760,762,764,766,768,770,772,774,776,778,780,782,784,786,788,790,792,794,796,798,800,802,804,806,808,810,812,814,816,818,820,822,824,826,828,830,832,834,836,838,840,842,844,846,848,850,852,854,856,858,860,862,864,866,868,870,872,874,876,878,880,882,884,886,888,890,892,894,896,898,900,902,904,906,908,910,912,914,916,918,920,922,924,926,928,930,932,934,936,938,940,942,944,946,948,950,952,954,956,958,960,962,964,966,968,970,972,974,976,978,980,982,984,986,988,990,992,994,996,998,1000,1002,1004,1006,1008,1010,1012,1014,1016,1018,1020,1022,1024,1026,1028,1030,1032,1034,1036,1038,1040,1042,1044,1046,1048,1050,1052,1054,1056,1058,1060,1062,1064,1066,1068,1070,1072,1074,1076,1078,1080,1082,1084,1086,1088,1090,1092,1094,1096,1098,1100,1102,1104,1106,1108,1110,1112,1114,1116,1118,1120,1122,1124,1126,1128,1130,1132,1134,1136,1138,1140,1142,1144,1146,1148,1150,1152,1154,1156,1158,1160,1162,1164,1166,1168,1170,1172,1174,1176,1178,1180,1182,1184,1186,1188,1190,1192,1194,1196,1198,1200,1202,1204,1206,1208,1210,1212,1214,1216,1218,1220,1222,1224,1226,1228,1230,1232,1234,1236,1238,1240,1242,1244,1246,1248,1250,1252,1254,1256,1258,1260,1262,1264,1266,1268,1270,1272,1274,1276,1278,1280,1282,1284,1286,1288,1290,1292,1294,1296,1298,1300,1302,1304,1306,1308,1310,1312,1314,1316,1318,1320,1322,1324,1326,1328,1330,1332,1334,1336,1338,1340,1342,1344,1346,1348,1350,1352,1354,1356,1358,1360,1362,1364,1366,1368,1370,1372,1374,1376,1378,1380,1382,1384,1386,1388,1390,1392,1394,1396,1398,1400,1402,1404,1406,1408,1410,1412,1414,1416,1418,1420,1422,1424,1426,1428,1430,1432,1434,1436,1438,1440,1442,1444,1446,1448,1450,1452,1454,1456,1458,1460,1462,1464,1466,1468,1470,1472,1474,1476,1478,1480,1482,1484,1486,1488,1490,1492,1494,1496,1498,1500,1502,1504,1506,1508,1510,1512,1514,1516,1			

#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	1.383	22.78	C:\Database\WIS102.L Methylene Chloride Methylene Chloride Methylene Chloride	1582 000075-09-2 91 1582 000075-09-2 53 1581 000075-09-2 53		
2	1.428	7.06	C:\Database\WIS102.L Hexane Hexane Butane, 1-chloro-2-methyl-	1795 000118-54-3 83 1796 000118-54-3 76 4984 000066-13-7 53		
3	1.690	2.12	C:\Database\WIS102.L 1-Butanol 1-Butanol 1-Butanol	816 000071-36-9 90 817 000071-36-3 81 822 000071-36-3 81		
4	2.403	0.15	C:\Database\WIS102.L Dichloroacetaldehyde Methylene Chloride Methylene Chloride	6021 000079-02-7 50 1583 000075-09-2 46 1581 000075-09-2 43		
5	3.662	28.55	C:\Database\WIS102.L 2,3-Butanediol Formic acid, 1-methylpropyl ester Propane, 2-ethoxy-	2250 000513-05-9 47 4246 000509-40-2 47 2072 000625-54-7 40		
6	4.295	30.97	C:\Database\WIS102.L Butanoic acid Butanoic acid Pentanoic acid	1989 000187-92-6 87 1986 000187-92-6 86 4157 000189-52-4 50		
7	4.983	0.19	C:\Database\WIS102.L Heptaethylene glycol Ethanol, 2-(2-(ethenoxy)ethoxy)- 4-threo-2-ethylthreosine	130518 005617-32-3 38 13825 000929-37-3 38 21438 1000214-75-7 38		
8	5.308	0.17	C:\Database\WIS102.L Hydrazine, 1,2-dimethyl- Hexanoic acid Propanoic acid, propyl-	268 000108-73-8 58 7058 000142-62-1 58 20912 000016-62-6 48		
9	5.468	0.17	C:\Database\WIS102.L Phenol Phenol	2536 000108-95-2 38 2538 000108-95-2 38 2540 000108-95-2 38		
10	5.793	0.17	C:\Database\WIS102.L 1H-Tetrazole, 5-methyl- Succinic anhydride Succinic anhydride	1387 000076-36-2 46 3523 000108-36-5 43 3522 000108-36-5 43		
11	6.236	0.18	C:\Database\WIS102.L 1-Propene, 3,1'-thiodic- L-Valine, N-(1-methyl-ethyl)-, 1-methyl ester 2,4-Di(3H)-Pyrimidinone, dihydro-	7140 013922-06-4 40 56871 056884-97-8 38 6909 000568-67-4 35		
12	6.389	0.09	C:\Database\WIS102.L Butane, 1,2,4-trimethoxy- Ethane, methoxy 2-Heptanol, 3-methyl-	22801 020637-48-3 43 285 000549-67-0 38 13239 011367-46-1 38		
13	6.586	0.13	C:\Database\WIS102.L Ethane, methoxy- Methoxyacetic acid, heptyl ester	285 000549-67-0 43 4775 168928-36-3 43		
14	7.194	0.12	C:\Database\WIS102.L 2-Chloroethyl vinyl sulfide Phenylethyl Alcohol Phenylethyl Alcohol	8453 081142-02-1 43 9688 000068-12-8 42 9697 000068-12-8 42		
15	7.593	0.06	C:\Database\WIS102.L 1,1,4-Triazolo[2-amino, 5-(2-(2- methoxyethyl)- Arcolein, dimethyl acetal 1-Hydroxy-3-methyl-2-butanone	29966 018864-90-9 35 4194 000044-68-4 47 4224 038960-22-2 27		
16	8.041	0.18	C:\Database\WIS102.L Hydrazine, 1,2-dimethyl- Hydrazine, 1,2-dimethyl- Triazole, 2-ethyl-4,5-dihydro-	250 000549-73-8 49 278 000546-73-8 38 7588 016982-46-8 35		
17	9.049	1.47	C:\Database\WIS102.L Furan, tetrahydro-2-(methoxymethyl)- Furan, tetrahydro-2-(methoxymethyl)- 2-Hexene, 1-methoxy-, (E)-	7976 019354-27-9 72 7973 019354-27-9 64 7375 056052-83-6 59		
18	9.097	0.38	C:\Database\WIS102.L 3-Methoxyhex-1-ene Butanoic acid, 3-hydroxy-4-(benzyl oxy)-, ethyl ester Butanol, 3-(2,2-dimethylpropoxy)	7274 108213-41-2 43 80535 1000196-81-8 43 29885 074793-66-1 38		
19	9.866	0.12	C:\Database\WIS102.L Butanedioic acid Butanedioic acid Butanedioic acid	8407 000118-15-6 38 8406 000118-15-6 38 8405 000118-15-6 35		
20	10.105	0.38	C:\Database\WIS102.L Butanoic acid, 2-butenoxy-1-methyl-1- -oxyethyl ester Butanoic acid, 2-butenoxy-1-methyl-1- -oxyethyl ester Furan, tetrahydro-2-(methoxymethyl)-	66593 007492-70-8 72 66592 007492-70-8 72 7976 019354-27-9 59		
21	10.603	0.35	C:\Database\WIS102.L Beta-Phenylethyl butyrate Benzenepropionic acid, alpha-hydroxy-, ethyl ester Benzenepropionic acid, alpha-(hydroxy- methyl)- Benzenepropenitrile	42331 013674-16-3 50 42312 006811-98-9 38 13523 000645-99-8 30		
22	11.321	0.19	C:\Database\WIS102.L Beta-Phenylethyl butyrate Propenoic acid, 2-methyl-, 2-phenyl ethyl ester Hexanoic acid, 2-phenylethyl ester	50150 000103-52-6 83 50387 000103-48-0 83 69324 006790-37-5 74		
23	13.041	0.06	C:\Database\WIS102.L Methyl 7,9-trideca-1,11-diene-1-yl ether 1-Octadecene 1-Octadecene	62979 1000131-00-8 49 89782 000112-88-9 42 89783 000112-88-9 42		
24	14.085	0.06	C:\Database\WIS102.L Cyclohexanone, 4-methoxy- Furan, 2-ethoxy-2,3-dihydro-4-methoxy- yl- Acetic acid	11815 013674-16-3 30 11890 110431-25-9 38 253 000064-19-7 22		
25	14.325	0.04	C:\Database\WIS102.L Eucalyptol 1,3-Dioxolane-2-cyanoethyl- Cyclohexanone, 3-(2-oxoethyl)-	25480 000470-82-6 38 26371 1000243-37-1 22 4548 1000163-16-5 13		
26	14.656	0.11	C:\Database\WIS102.L Methyl 4,6-decadienyl ether Cyclooctane, (methoxymethoxy)- Methane, [(1-ethynylcyclohexyl)oxy] thio-	34620 1000130-93-8 52 37257 042604-11-5 38 34431 005689-21-2 25		
27	14.828	0.06	C:\Database\WIS102.L Estra-1,3,5(10)-trien-17-beta-ol Benzenepropionic acid, ethyl ester Cyclopropyl[3',2',4',5']furan[2,3-b][1] benzopyran-11(3H)-one, 2,3,6,9a-tetrahydro-1,3-dihydro-4,9- methoxy-	92346 002529-04-8 35 43050 000021-28-5 18 123553 055446-27-8 14		
28	15.283	0.37	C:\Database\WIS102.L Tetradecanoic acid Tetradecanoic acid	75071 000544-63-0 64 75072 000544-63-0 55 75070 000544-63-0 46		
29	15.596	0.11	C:\Database\WIS102.L Benzosol-2-(30)-one, 8-oxosulfonyl phenylsulfonyle Benzenebutylformate, N-butyl- Benzenebutylformate, N-butyl-	142458 1000099-69-4 47 64867 003622-84-2 46 40129 000098-09-9 43		
30	15.750	0.42	C:\Database\WIS102.L Benzenebutylformate, N-butyl- Benzenebutylformate, N-butyl- N-(2-(2-aminoethyl)-benzenesulfonamido)	64868 003622-84-2 94 64867 003622-84-2 91 63280 002619-21-8 78		
31	16.296	0.09	C:\Database\WIS102.L Oleic Acid 9-Benzocyclo[3.3.1]nonene, 9-(2-P ropen-1-yl)- Cyclohexane, 1-(1,5-dimethyl-ethyl)	187519 000112-80-1 55 43280 1000262-57-7 25 106410 056009-20-2 25		
32	16.696	0.74	C:\Database\WIS102.L 1-Hexadecene 1-Hexadecene Cyclohexadecane	72488 000629-73-2 96 72487 000629-73-2 95 72491 000629-65-8 95		
33	17.347	1.80	C:\Database\WIS102.L n-Hexadecanoic acid n-Hexadecanoic acid n-Hexadecanoic acid	92227 000057-19-3 97 92228 000057-19-3 97 92226 000057-19-3 95		
34	17.642	0.43	C:\Database\WIS102.L 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- Octadecanal 11-Dodecen-1-ol trifluoroacetate	106287 000068-13-3 90 49247 000638-66-0 87 105983 128792-46-1 86		
35	18.818	0.08	C:\Database\WIS102.L 9,12-Octadecadienal, (Z)- 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- 9-Octadecenoic acid, (E)-	96962 056554-35-9 95 106288 000068-13-3 90 107527 000112-79-8 90		
36	18.178	0.51	C:\Database\WIS102.L Oleic Acid Cyclopropanoacetal, 2-oxo-1,12- methyl-E,E-2,13-octadecadien-1- ol	107517 000112-80-1 95 106318 1000130-90-8 64		
37	18.618	0.33	C:\Database\WIS102.L 1,2-15,16-Diisopropylhexadecane 9,12-Octadecadienyl chloride, (Z)- 7,9- 9,17-Octadecadienal, (Z)-	90079 1000152-65-8 92 106288 000068-13-3 96 96962 056554-35-9 87		
38	18.993	0.27	C:\Database\WIS102.L 9,12-Octadecadienal, (Z)- 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- 1,2-15,16-Diisopropylhexadecane	96962 056554-35-9 96 106288 000068-13-3 96 90079 1000152-65-8 93		
39	19.165	0.31	C:\Database\WIS102.L Cycloicosene Cyclopentane, 1,1,3-triaethyl- Octadecanoic acid	106397 000296-56-8 60 6616 004516-69-2 52 106062 000057-11-8 51		
40	19.656	0.06	C:\Database\WIS102.L 2-Methyl-2,7,9,13-octadecadienol 7,11,13-octadecadiene-1-ol 1,22-Docosanol	106377 1000130-90-8 80 98146 1000131-18-8 72 138153 022513-81-1 62		
41	19.957	0.12	C:\Database\WIS102.L 2-E,2,13-Octadecadien-1-ol 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- 7,7-18,12-Hexadecadienal	98140 1000131-10-3 89 106287 000068-13-3 86 79958 1000130-86-8 84		
42	20.178	0.05	C:\Database\WIS102.L 7,7-8,18-Hexadecadien-1-ol Oleic Acid 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	81223 1000130-91-8 92 107517 000112-80-1 89 106288 000068-13-3 84		
43	20.989	0.44	C:\Database\WIS102.L 9-Octadecanamide, (Z)- 9-Octadecanamide, (Z)- Cyclohexanecarboxamide	106877 000301-02-8 91 106878 000301-02-8 53 15463 001122-56-1 46		
44	21.407	0.02	C:\Database\WIS102.L cis-9-Hexadecenal 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- Cyclopentadecanone, 2-hydroxy-	83206 056219-04-6 87 106288 000068-13-3 62 82445 084727-18-8 56		
45	21.608	0.04	C:\Database\WIS102.L Bicyclo[10.8.0]heicosane, (E)- 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- 1H-Indene, octahydro-, cis-	105390 1000155-95-8 83 106289 000068-13-3 59 10537 004551-51-3 55		
46	22.248	0.12	C:\Database\WIS102.L 1,7-Benzenedicarboxylic acid, diis ooctyl ester 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono (2-ethylhexyl) ester 4-Hydroxycyclohexanecarboxylic acid, 3-hydroxy gamma-5-(hydroxymethyl)-2-methyl-	154383 027554-26-3 64 105069 004376-20-9 64 34195 000066-72-8 49		
47	22.531	0.04	C:\Database\WIS102.L 18,13-Octadecadienoic acid, methyl ester 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)- methyl ester Oleic Acid	114381 056554-62-2 90 114388 000112-63-0 90 107519 000112-80-1 83		
48	23.311	0.09	C:\Database\WIS102.L cis-9-Hexadecenal Oleic Acid 9,17-Octadecadienal, (Z)-	81206 056219-04-6 80 107517 000112-80-1 62 96962 056554-35-9 59		
49	24.115	0.68	C:\Database\WIS102.L 13-Docosanamide, (Z)- 13-Docosanamide, (Z)- 9-Octadecanamide, (Z)-	135943 000112-84-5 78 135945 000112-84-5 46 106877 000301-02-8 42		
50	26.210	2.29	C:\Database\WIS102.L Elaidic acid, isopropyl ester Oleic Acid Eruic acid	129956 022147-34-8 90 107519 000112-80-1 81 136421 000112-86-7 59		
51	26.388	0.38	C:\Database\WIS102.L Cyclopropanoacetal, 2-oxo-1,12- Oleic Acid 1,3,12-Nonadecatriene	106376 056196-06-6 90 107519 000112-80-1 46 95028 1000131-11-4 25		
52	26.548	0.43	C:\Database\WIS102.L 2-Octadecyl-propene-1,3-diol Eruic acid 2-Methyl-2,7,9,13-octadecadienol	133943 000337-61-1 44 134223 000112-80-7 42 106377 1000130-90-5 41		
53	26.824	0.43	C:\Database\WIS102.L 1-Octadecene 9-Octadecenoic acid, (Z)- Oleic Acid	123981 001599-67-3 80 107523 000093-99-3 35 107533 000112-80-1 30		
54	27.205	0.25	C:\Database\WIS102.L p-Menth-8(10)-en-9-ol, cis- Cyclohexane, 1-(1,5-dimethyl-ethyl)- 4-(4-methylpentyl)- 2,3-Dihydroxypropyl chloride	35306 015714-13-3 47 106410 056009-20-2 45 143480 000276-53-2 44		
55	27.506	0.25	C:\Database\WIS102.L 7-Pentadecyne Cyclohexane, 1-(1,5-dimethyl-ethyl)- 4-(4-methylpentyl)- 1,3,12-Nonadecatriene	61099 022089-83-0 50 106410 056009-20-2 42 95928 1000131-11-3 51		
56	27.696	0.07	C:\Database\WIS102.L 7-Pentadecyne 2-Methyl-2,7,9,13-octadecadienol E-2-Methyl-3-tetradecen-1-ol aceta te	61099 022089-83-0 91 106377 1000130-90-5 81 95337 1000130-81-2 80		
57	27.831	0.17	C:\Database\WIS102.L 2-Methyl-2,7,9,13-octadecadienol p-Menth-8(10)-en-9-ol, cis- 7-Pentadecyne	106377 1000130-90-5 64 35306 015714-13-3 59 61099 022089-83-0 59		
58	28.249	0.21	C:\Database\WIS102.L Oleic Acid 7-Pentadecyne 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-dihy droxypropyl ester	107519 000112-80-1 56 61699 022089-83-0 55 143480 000111-03-5 40		
59	28.439	0.14	C:\Database\WIS102.L 1-Eicosene 2-Methyl-2,7,9,13-octadecadienol Oleic Acid	106395 003452-07-1 56 106377 1000130-90-5 45 107519 000112-80-1 44		
60	29.023	0.23	C:\Database\WIS102.L Oleic Acid 1-Nonadecene 1-Hexadecene	107519 000112-80-1 81 98176 010435-45-5 53 72488 000629-73-2 43		

DEFAULT.M Mon Oct 26 15:27:40 2020

Figure : Composés volatils de l'extrait méthanolique de *T. asperellum*

Isolement et identification de quelques agents responsables des maladies fongiques de la tomate (*Lycopersicum esculentum* L.) dans la région de Oued Righ et essais de lutte biologique (*In Vitro* et *In Vivo*) en utilisant *Trichoderma asperellum* contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Résumé

L'objet de cette étude consiste à l'identification de la flore fongique isolée de la tomate dans la région de Oued Righ. Ainsi que la mise en évidence de l'effet antagoniste, *In Vitro* et *In Vivo*, d'une souche de *Trichoderma asperellum* vis-à-vis *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, agent causal du flétrissement fusarien de la tomate.

L'inventaire a révélé un ensemble de 38 agents fongiques essentiels à la plante sujette. Il s'agit de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* spp., *Monilinia* sp., *Didymella* spp., *Ulocladium* sp., *Stemphylium* spp., *Trichothecium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Neotyphodium* sp., *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Cladophialophora* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma asperellum* et *Trichoderma* spp.

Un pathotype virulent de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* a été inhibé (directement et indirectement) par *Trichoderma asperellum* à travers trois tests d'antagonisme à savoir : compétition, antibiose et mycoparasitisme soient des taux intéressants d'inhibition, atteignant jusqu'à 70%, ont été obtenus dans les essais de laboratoire. L'agent biologique a également confirmé son efficacité préventive et curative en luttant contre la fusariose soit une valeur de réduction de la maladie de 50% a été enregistré sur une variété de tomate (Tafna) infectée. Comme il a également surmonté quelques facteurs abiotiques critiques caractéristiques à la région d'étude (salinité et température élevées).

L'effet inhibiteur de *Trichoderma asperellum* a été ensuite enquêté à travers l'analyse des métabolites volatils sur trois extraits alcooliques où l'antagoniste a produit une large gamme de substances. Une vingtaine d'un cumul de 84 métabolites est fongicide dont les acides gras (butanoïque et oléique) représentent la composante majeure. De ce fait, l'agent biologique a dévoilé un grand pouvoir fongicide méritant d'être introduite dans un programme de lutte intégrée à l'égard du champignon vasculaire testé.

Mots-clés : Flore fongique, *In Vitro*, *In Vivo*, *Trichoderma asperellum*, Flétrissement fusarien, Tomate, Oued Righ

Isolation and identification of some agents responsible for tomato fungal diseases (*Lycopersicum esculentum* L.) in Wadi Righ region and biological control tests (*In Vitro* and *In Vivo*) using *Trichoderma asperellum* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*

Abstract

The aim of this study is to identify the fungal flora associated from tomatoes in Wadi Righ region. As well as the identification of the antagonistic effect, *In Vitro* and *In Vivo*, of *Trichoderma asperellum* strain against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, the causal agent of *Fusarium* wilt of tomatoes.

The inventory has revealed a bunch of 38 fungal agents essential to the plant. These are : *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* spp., *Monilinia* sp., *Didymella* spp., *Ulocladium* sp., *Stemphylium* spp., *Trichothecium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Neotyphodium* sp., *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Cladophialophora* sp., *Rhizopus* sp., *Trichoderma asperellum* et *Trichoderma* spp.

A virulent pathotype of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* is inhibited (directly and indirectly) by the antagonistic *Trichoderma asperellum* through three named tests: competition, antibiosis and mycoparasitism where interest rates of inhibition, reaching up to 70%, are obtained with in laboratory tests. The biological agent also confirmed its preventive and curative efficacy in controlling *Fusarium* wilt with a disease reduction value of 50% recorded on an infected tomato variety (Tafna). As it overcame some critical abiotic factors which are characteristic to the study area (high salinity and temperature).

The inhibitory effect of *Trichoderma asperellum* is then investigated through the analysis of volatile metabolites on three alcoholic extracts where the antagonistic produced a wide range of substances. About twenty of 84 cumulative compounds are fungicides, of which fatty acids (Butyric and oleic) represent the major component. Thereby, the biological agent showed a great fungicidal power that deserves to be introduced into an integrated management program against the vascular fungus tested.

Keywords : Fungal flora, *In Vitro*, *In Vivo*, *Trichoderma asperellum*, *Fusarium* wilt, Tomato, Wadi Righ

عزل وتشخيص بعض العوامل المسؤولة عن أمراض الطماطم الفطرية (*Lycopersicum esculentum* L.) في منطقة وادي ريغ مع تجارب مكافحة بيولوجية (في الشروط المخبرية وعلى النبات الحي) باستخدام *Trichoderma asperellum* ضد *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد العوامل الفطرية المعزولة من نبات الطماطم في منطقة وادي ريغ. بالإضافة إلى إلقاء الضوء على التأثير المضاد، في الشروط المخبرية وعلى النبات الحي، لسلالة من *Trichoderma asperellum* ضد *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*، العامل الفطري المسبب للذبول الفيزاريومي لدى نبات الطماطم.

كشفت الجرد عن مجموعة من العوامل الفطرية تتكون من 38 نوع مرتبط بالنبات موضوع الدراسة. يتعلق الأمر بـ: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia* spp., *Alternaria* spp., *Cladosporium* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Fusarium oxysporum* spp., *Monilinia* sp., *Didymella* spp., *Ulocladium* sp., *Stemphylium* spp., *Trichothecium roseum*, *Botrytis cinerea*, *Neotyphodium* sp., *Bipolaris* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Cladophialophora* sp., *Trichoderma* spp. و *Rhizopus* sp., *Trichoderma asperellum*.

تم تثبيط الفطر شديد الضرر *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (بشكل مباشر وغير مباشر) بواسطة *Trichoderma asperellum* المضاد خلال ثلاثة اختبارات وهي: التنافس، التضاد والتطفل الفطري حيث تم الحصول على معدلات تثبيط موفقة تصل إلى غاية 70% في التجارب المخبرية. كما أكد العامل البيولوجي فعاليته الوقائية والعلاجية في السيطرة على الذبول الفيزاريومي بخفضه للمرض الفطري بنسبة 50% مسجلة على صنف طماطم مصاب (Tafna). كما تغلب أيضا على بعض العوامل اللاحيوية الحرجة والخاصة بمنطقة الدراسة (الملوحة العالية وارتفاع درجة الحرارة).

على إثر ذلك، تم التحقق من تأثير *Trichoderma asperellum* المثبط من خلال الكشف عن المستقلبات الطيارة في ثلاث مستخلصات كحولية حيث أنتج الفطر المضاد مجموعة كبيرة من المكونات. عشرون من أصل 84 مركب يعتبرون مبيدات فطرية منها الأحماض الدهنية (الحمض الزبدي وحمض الزيت) والتي تمثل المكون السائد. وعليه أظهر العامل البيولوجي قدرة كبيرة في إبادة الفطريات الممرضة تجعله يستحق المساهمة في برنامج مكافحة متكاملة ضد فطر الأوعية النباتية الناقلة الذي تم اختباره.

الكلمات المفتاحية: نباتات فطرية، الشروط المخبرية، في الجسم الحي، *Trichoderma asperellum*، الذبول الفيزاريومي، الطماطم، وادي ريغ.