

# République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis –Mostaganem-  
Faculté des Sciences de  
La nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة والحياة

## DEPARTEMENT D'AGRONOMIE MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BENMANA Manar**

**MEDDAH Amel**

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

**Spécialité : Protection des végétaux**

**Effet antifongique "*in vitro*" et "*in planta*"  
de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de  
*Colletotrichum* sp., agent de l'antracnose des  
agrumes**

DEVANT LE JURY

Présidente :	BOUALEM Malika	Professeur	Université de Mostaganem
Examinatrice :	BERGHEUL Saida	MCA	Université de Mostaganem
Encadrante :	SAIAH Farida	MCB	Université de Mostaganem

Thème réalisé au laboratoire du Protection des végétaux

**Année universitaire : 2024/2025**

# Remerciements

*Au-dessus de tout, nous remercions **Dien** Tous Puissant, pour nous avoir donné la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail.*

*Ce travail a été réalisé au laboratoire de Protection des végétaux de l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem sous la direction de Professeur **SALAH Farida**. Qui a su nous faire confiance pour la réalisation de ce travail de recherche. Nous le remercions pour son attention, son don d'écoute, sa tolérance et sa disponibilité, nous lui témoignons toute notre reconnaissance pour nous avoir guidé et prodigué des conseils sur le plan scientifique que sur le plan humain. Nous espérons que ce mémoire soit l'occasion de vous exprimer notre respectueuse considération, merci encore, Madame.*

*Nos remerciements vont au président du jury Mme **BOUALEM Malika**, d'avoir accepté de présider et de juger ce travail.*

*Nous tenons à remercier Mme **BERGEUL Saïda** D'avoir d'examiner ce mémoire, mais également pour sa précieuse aide ainsi que sa disponibilité à notre égard.*

*Un remerciement spécial à Monsieur **MAHIOU DJAMEL**, professeur à l'Université de Mostaganem qui nous a porté son aide et ses conseils pour finaliser ce travail.*

*Un remerciement spécial madame **BADAOUI Mahdjouba Ikram**, pour sa présence, son aide fructueuse tout au long de période de notre étude.*

*Je tiens à remercier tous les techniciens du laboratoire de protection des végétaux pour leurs disponibilité et leurs précieuses aides durant la période de notre stage.*

*Nous n'oublierons pas de remercier tous ceux qui nous ont soutenus et encouragés tout au long de la réalisation de ce travail.*

## *Dédicace*

*Avant tout, je dois rendre grâce à dieu de m'assavoir donner le  
courage de terminer ce travail*

*Je dédie spécialement ce modeste travail :*

*A celle qui a été toujours la source d'inspiration et de courage **ma**  
**mère***

*A celui qui a inséré le gout de la vie et le sens de la responsabilité  
**mon père***

*A mes frères "Abdel Kader, Mohamed et Seifelddine "*

*A mes chères sœurs "Sabrina, Chaibia, Aya et Ismahane"*

*A mes amies proches ", Karima, Amel, Karima, "*

*Particulièrement **Ma copine "Manar"***

*A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que connue  
moi.*

*Manar*

## Dédicace

Avant tout, je dois rendre grâce à dieu de m'assavoir donner le courage de terminer ce travail

Je dédie ce travail spécialement :

**A ma mère**, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices.

**A mon père**, pour son soutien, son affection et la confiance qu'il m'accorde.

**A ma chères sœur " Nouara " et mes frères " Mokhtar et Abdelhay "**

**À ma chère grand-mère,**

Tu as été une lumière douce dans nos vies, un refuge de tendresse et de sagesse. Même si tu n'es plus parmi nous, ton amour continue de réchauffer nos cœurs chaque jour. Merci pour tous les souvenirs précieux, les rires partagés et la force que tu nous as donnée. Tu resteras à jamais dans nos pensées et nos prières.

A tous mes amis de promotion de zème année Master en protection des végétaux

A mes amies proches, **Hayet, Karima et Houda.**

A ma chère amie et binôme, **Manar**, pour son entente et sa sympathie

A toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

A tous les membres de ma familles et toute personne qui porte le nom **MEDDAH**

À toutes les personnes que nous n'avons pas nommées ici, ainsi qu'à toutes celles que j'ai connues.

**Amel**

## **Résumé**

Ce présent travail porte sur l'étude de l'activité antifongique "in vitro" et "in planta" de deux espèces différentes de *Trichoderma* sp. sur *Colletotrichum* sp., agent causal de l'antrachnose par confrontation directe et confrontation indirecte (exposition aux composés volatils). Par ailleurs, des études "in planta" ont été menées sur les plantules de poivron.

Les résultats obtenus révèlent que la confrontation indirecte d'isolat de *Trichoderma* AM entraîne une réduction de la croissance mycélienne et de la sporulation de *Colletotrichum* sp. En revanche, le test de confrontation directe des colonies de *Trichoderma* MW provoque une inhibition, suivie d'un arrêt de la croissance à distance. Cependant, le test in planta a démontré que l'isolat MW présente un fort effet d'antagonisme vis-à-vis de *Colletotrichum*, notamment en traitement préventif, par rapport à l'isolat AM.

**Mots clés** : antagonisme, activité antifongique, *Trichoderma* spp., *colletotrichum* sp., poivron, in vitro, in planta

## **Abstract**

The present study focuses on the in vitro and in planta antifungal activity of two different species of *Trichoderma* sp. on *Colletotrichum* sp., the causal agent of anthracnose, using two methods : direct confrontation and remote confrontation. In addition, in planta studies were carried out on bell pepper seedlings.

Results showed that indirect confrontation with *Trichoderma* AM isolates led to a reduction in mycelial growth and sporulation of *Colletotrichum* sp. In contrast, direct confrontation with *Trichoderma* MW colonies resulted in inhibition, followed by cessation of growth at a distance. However, the in-plant test demonstrated that the MW isolate had a strong antagonistic effect on *Colletotrichum*, particularly as a preventive treatment, compared with the AM isolate.

**Key words** : antagonism, antifungal activity, *Trichoderma* sp., *colletotrichum* sp., bell pepper, in vitro study, in planta

## ملخص

تُرَكز هذه الدراسة على النشاط المضاد للفطريات في المختبر وفي النبات لنوعين مختلفين من فطريات *Trichoderma* sp. على فطر *Colletotrichum* sp. ، العامل المسبب لمرض الجمره الخبيثة، وذلك باستخدام طريقتين: المواجهة المباشرة والمواجهة عن بُعد.

بالإضافة إلى ذلك، أُجريت دراسات في النبات على شتلات الفلفل الحلو. أظهرت النتائج أن المواجهة غير المباشرة مع عزلات *Trichoderma* AM أدت إلى انخفاض في نمو الفطريات وتبويض فطر *Colletotrichum* sp. في المقابل، أدت المواجهة المباشرة مع مستعمرات *Trichoderma* MW إلى تثبيط، تلاه توقف النمو عن بُعد. ومع ذلك، أظهر الاختبار في النبات أن عزلة MW كان لها تأثير مضاد قوي على *Colletotrichum* ، وخاصةً كعلاج وقائي، مقارنةً بعزلة AM.

### **الكلمات المفتاحية:**

، مضادات، نشاط مضاد للفطريات، *Trichoderma* sp. ، *Colletotrichum* sp. الفلفل، في المختبر، في النبات،

# Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction ..... 1

## Partie bibliographique

Chapitre I : <i>Colletotrichum</i> sp. ....	2
1.1. Caractéristiques générales du genre <i>Colletotrichum</i> .....	2
1.2. La systématique du genre <i>Colletotrichum</i> sp .....	2
1.3. Écologie .....	3
1.4. Hôtes et diversité d'infection .....	3
1.5. Conditions environnementales favorables à la croissance du pathogène .....	4
1.6. Culture sur milieu artificiel .....	4
1.7. Symptomatologie .....	5
• Sur feuilles .....	5
• Sur fruits .....	5
1.8. Biologie .....	6
1.9. Les Moyens de lutte contre l'antracnose .....	8
Chapitre II : Les plantes hôtes de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	9
2.2. Les agrumes .....	11
2.2.1. Caractéristiques des agrumes .....	11
2.2.2. Historique et origine .....	11
2.2.3. Importance économique des agrumes .....	11
2.2.4. Systématique du agrumes .....	12
2.2.6- Caractères botaniques.....	13
2.2.7. Cycle de vie des agrumes.....	14
2.2.8. La situation phytosanitaire de l'agrume .....	14
2.2.3- Le poivron.....	16
2.2.3.1- Origine et répartition dans le monde .....	16
2.2.3.2- Importance économique de la culture de poivron à Mostaganem .....	16
2.2.3.3- Systématique du poivron .....	17
2.2.3.4- Les Stades phénologiques.....	17
2.2.3.5. les variétés .....	17

2.2.3.6. La situation phytosanitaire du poivron.....	18
Chapitre III : l'agent antagoniste.....	20
3.1. Introduction.....	20
3.2. Généralités sur les <i>Trichoderma</i> spp. ....	21
3.3. Taxonomie.....	21
3.4. Classification.....	23
3.5. Ecologie.....	23
3.6. Morphologie sur milieu artificiel.....	23
3.6.1-Aspect macroscopique.....	24
3.7-Le pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp.....	25
3.8-Mode d'action de <i>Trichoderma</i> en lutte biologique.....	26
3.8.1- Antibiose.....	26
3.8.2-Action par mycoparasitisme.....	27
3.8.3- Action par compétition.....	28
Chapitre I : Matériels et méthodes.....	29
1.1. Objectif.....	29
1.2. Matériels fongiques.....	29
1.3-Matériel végétale.....	30
1.4. Méthodes utilisées.....	30
1.4.1-Isolement de l'agent pathogène à partir des feuilles contaminées :.....	30
1.4.3.2- Identification macroscopique.....	33
1.4.3.3- Identification microscopique.....	33
1.4.3.4-Conservation des isolats.....	33
1.4.4-Etude des propriétés antagonistes de deux espèces de <i>Trichoderma</i> vis-à-vis de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	33
1.4.4.1-Etude "in vitro" de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma</i> sp. vis-à-vis de <i>Colletotrichum</i> sp.....	34
B-Confrontation indirect (substances volatiles).....	35
• Méthodes d'évaluation de la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum</i> sp.....	36
• Méthodes d'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne :.....	37
• Méthodes d'évaluation de la sporulation.....	37
• Mesure de la taille des conidies.....	38
1.4.4.2-Etude "in planta" de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma</i> sp. vis-à-vis de <i>Colletotrichum</i> sp.....	38
1.4.4.2.1-Semis des graines.....	38
• Repiquage :.....	39
1.4.4.2.2-Préparation de l'inoculum de <i>Colletotrichum</i> sp.....	39
1.4.4.2.3-Conduite de l'essai.....	41
• Calcul de l'indice de sévérité de la maladie.....	43

<b>II. Résultats et interprétation</b> .....	44
<b>2.1-Aspect macroscopique et microscopique des isolats</b> .....	44
2.1.1- Etude de l'aspect macroscopique et microscopique de <i>Colletotrichum sp.2</i> .....	44
2.1.2 Etude de l'aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma spp.</i> .....	44
2.1.3. Taille des conidies de l'agent pathogène : .....	45
<b>2.2.1-Etude "in vitro" de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp.</i> vis-à-vis de <i>Colletotrichum sp.</i> en confrontation directe</b> .....	45
2.2.1.1-Croissance mycélienne .....	45
2.2.1.3- Taux d'inhibition de la croissance mycélienne .....	47
2.2.1.4-Sporulation .....	48
2.2.1.6-Taux d'inhibition de la sporulation.....	49
<b>2.2.2-Etude "in vitro" de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp.</i> vis-à-vis de <i>Colletotrichum sp.</i>, en confrontation indirecte</b> .....	50
2.2.2.1- Croissance mycélienne .....	50
2.2.2.2- Vitesse de croissance mycélienne.....	51
2.2.2.3- Taux d'inhibition de croissance mycélienne .....	52
2.2.2.4- sporulation .....	52
2.2.2.5- Taux d'inhibition de sporulation indirect.....	53
<b>2.3- Etude "in planta" de l'activité antagoniste de <i>Trichoderma sp.</i> vis-à-vis de <i>Colletotrichum sp.</i></b> .....	54
2.3.1-Indice de sévérité de la maladie.....	54
2.3.2-Longueur de partie aérienne .....	55
<b>III. Discussion</b> .....	57
<b>Conclusion</b> .....	59

## Liste des tableaux

Tableau 1 : les different plantes hôte de <i>Colletotrichum</i> sp.....	24
Tableau 2 : les principaux ravageurs d'agrumes .....	29
Tableau 3 : Différentes maladies cryptogamique du poivron .....	32
Tableau 4 : Principales maladies virales du poivron.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Tableau 5 : Protocole expérimentale .....	42

## Liste des figures

Figure 1 : Symptômes de <i>Colletotrichum</i> sp. Sur différentes cultures .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 2 : Cycle biologique de <i>Colletotrichum</i> sp. L'agent causal de l'anthracnose .....	8
Figure 3 : Les 5 sections systématiques de <i>Trichoderma</i> sp. et quelques-unes des espèces y appartenant selon les espèces agrégées .....	22
Figure 4 : aspect macroscopique de <i>trichoderma</i> sp. ....	24
Figure 5 : aspect microscopique de <i>trichoderma</i> sp. ....	25
Figure 6 : préparation des échantillons du matériel végétale pour L'isolement .....	31
Figure 7 : Isolement du champignon à partir de feuille des agrumes, des feuilles et des fruits de tomate ..	31
Figure 8 : test de confrontation directe .....	35
Figure 9 : Test de confrontation indirecte .....	36
Figure 10 : semis des graines de poivrons variété <i>flourida</i> .....	38
Figure 11 : Repiquage des plantes de poivron dans les pots .....	39
Figure 12 : Présentation des colonies de même âge cultivées après 07 jours pour la préparation de l'inoculum. ....	40
Figure 13 : Suspension conidiennes de <i>Colletotrichum</i> sp. et <i>trichoderma</i> sp. Ayant servi à l'inoculation des plantes .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 14 : Aspect macroscopique de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 15 : Caractéristique microscopique de <i>Colletotrichum</i> sp. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 16 : Aspect macroscopique de <i>trichoderma</i> spp. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 17 : Caractéristique microscopique de l'agent antagoniste <i>trichoderma</i> sp. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 18 : Mesure de taille des conidies à l'aide d'un micrométrique .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 19 : de <i>Trichoderma</i> spp. sur la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum</i> sp. en confrontation directe.....	46
Figure 20 : Effet de <i>Trichoderma</i> spp., sur la vitesse de croissance de <i>Colletotrichum</i> sp., en confrontation directe .....	47
Figure 21 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum</i> sp., sous l'effet de la confrontation directe avec les isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	48
Figure 22 : : Effet de <i>Trichoderma</i> spp., sur la sporulation de <i>Colletotrichum</i> sp., en confrontation directe .....	49
Figure 23 : Taux d'inhibition de la sporulation de <i>Colletotrichum</i> sp., sous l'effet de la confrontation directe avec les isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Figure 24 : Effet de <i>Trichoderma</i> spp., sur la croissance mycélienne de .....	50
Figure 25 : Effet de <i>Trichoderma</i> spp., sur la vitesse de croissance de <i>Colletotrichum</i> sp., en confrontation indirecte.....	51
Figure 26 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Colletotrichum</i> sp., sous l'effet de la confrontation indirecte avec les isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	52
Figure 27 : Taux d'inhibition de la sporulation de <i>Colletotrichum</i> sp., sous l'effet de la confrontation indirecte avec les isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	53
Figure 28 : Taux d'inhibition de la sporulation de <i>Colletotrichum</i> sp., sous l'effet de la confrontation indirecte avec les isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	54
Figure 29 : Indices de sévérité chez les plants de poivron inoculé par <i>Colletotrichum</i> sp. et traités avec <i>Trichoderma</i> spp.....	55
Figure 30 : Longueurs moyennes des plantules inoculées par <i>Colletotrichum</i> sp. et traités par <i>Trichoderma</i> sp.....	56

## Liste des abréviations

**C°** Degré Celsius.

**Cm** Centimètre.

**g** Gramme.

**m** Mètre.

**µm** Micromètre.

**µl** Microlitre

**mm** Millimètre.

**PDA** Potato Dextrose Agar.

**CWA** coconut watery endosperm

**pH** Potentiel d'hydrogène.

**%** Pourcent.

**Sp/ml** Spore par 1 millilitre

**CMV** Virus de la mosaïque du concombre

**AIMV** Virus de la mosaïque de la Luzerne

**ATP** adénosine triphosphate

**L** croissance mycélienne.

**D** diamètre de colonie.

**d** diamètre de l'explant

**V** vitesse de la croissance

**I (%)** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

**IM** l'indice de sévérité de la maladie

# **Introduction**

## Introduction

Le genre *Colletotrichum* a été signalé comme l'un des dix agents pathogènes végétaux les plus importants au monde, compte tenu de son importance économique (Dean et al. 2012). L'antracnose causée par les espèces de ce genre pourrait affecter plusieurs plantes, des ligneuses aux herbacées, entraînant des pertes économiques importantes dans les régions tropicales, subtropicales et tempérées. Elle peut se développer sur les fruits, les feuilles, les tiges, les tubercules et les semis, au champ ou en serre. Elle est également importante car elle provoque des maladies post-récolte sur les fruits et légumes (Cannon et al. 2012 ; Damm et al. 2012a, b ; Udayanga et al. 2013). Les espèces de *Colletotrichum* présentent différents modes de vie, généralement classés comme nécrotrophes, hémibiotrophes, latents et endophytes (De Silva et al. 2017). La détection et le contrôle des maladies causées par les espèces de *Colletotrichum* pourrait être difficile en raison du cycle de vie complexe de nombreuses espèces, de la capacité à changer de mode de vie et de l'infection croisée potentielle de différents hôtes végétaux (O'Connell et al. 2012).

Face à l'ampleur des pertes agricoles engendrées par les espèces de *Colletotrichum* et à la complexité de leur biologie, les méthodes de lutte conventionnelles se révèlent souvent insuffisantes ou peu durables. Dans ce contexte, la lutte biologique apparaît comme une alternative prometteuse, permettant de limiter l'impact de ces pathogènes tout en réduisant l'usage des produits phytosanitaires chimiques. Elle repose sur l'utilisation d'organismes antagonistes capables d'interférer avec le développement du champignon pathogène à différentes étapes de son cycle infectieux. (Lepoivre, 2003).

La réussite de la lutte biologique nécessite l'application d'un agent de bio contrôle efficace. L'efficacité est notamment liée à l'utilisation de plusieurs modes d'action (Cook, 1993 ; Benbrook et al., 1996 ; Fernandes, 2005.) et à la capacité de l'agent de lutte biologique à coloniser et à s'installer dans le milieu rhizosphérique des plantes (Singh et al., 2003). Parmi les champignons, le genre *Trichoderma* forme un important groupe d'antagonistes.

Dans ce travail a eu pour objectifs d'étudier in vitro et in planta, l'effet antagonistes de *Trichoderma* spp., vis-à-vis de *Colletotrichum* sp.

Ce présent mémoire contient deux (02) partie :

La première partie de ce travail est consacrée à une étude bibliographique portant sur le champignon pathogène *Colletotrichum* spp., les plantes hôtes utilisées dans cette étude, ainsi que sur l'agent de lutte biologique *Trichoderma* spp.

La deuxième partie présente le matériel et les méthodes mis en œuvre, suivis des résultats obtenus, de leur analyse et de la discussion, pour aboutir à une conclusion générale.

# **Partie bibliographique**

## Chapitre I : *Colletotrichum* sp.

### 1.1. Caractéristiques générales du genre *Colletotrichum*

L'antracnose est une maladie cryptogamique fréquente et économiquement importante, affectant un large éventail de plantes cultivées à travers le monde. Cette maladie est principalement causée par des champignons phytopathogènes appartenant au genre *Colletotrichum*, responsables de dégâts importants sur les cultures, tant en champ qu'en post-récolte (Prusky et al., 2000 ; Bailey et Jeger, 1992).

Le genre *Colletotrichum* appartient à la division des Ascomycota, classe des Sordariomycetes. Il regroupe un ensemble d'espèces responsables de nombreuses pathologies végétales, notamment l'antracnose (Dean et al., 2012).

Ces champignons se développent selon deux modes reproductifs : une forme asexuée ou anamorphe (*Colletotrichum* spp.) produisant des conidies hyalines, unicellulaires ou faiblement cloisonnées, et sont produites dans des structures caractéristiques, les acervules, parfois accompagnées de poils foncés appelés setae. Et une forme sexuée ou téléomorphe (*Glomerella* spp.) (Dentika, 2021).

La taxonomie de *Colletotrichum* a longtemps été source de confusion en raison de sa grande variabilité morphologique et de l'absence observée de reproduction sexuée dans certaines espèces (Lapeyre de Bellaire, 1999). Von Arx (1957) estimait le nombre d'espèces entre 29 et plus de 700 selon les critères taxonomiques employés. Avec l'avènement des outils de biologie moléculaire, une révision importante de la systématique a été opérée. À ce jour, la base de données MycoBank recense environ 802 enregistrements pour le genre *Colletotrichum*, bien que seulement 66 espèces soient actuellement reconnues comme valides (Hyde et al., 2009).

### 1.2. La systématique du genre *Colletotrichum* sp

Selon Ajay (2014), les espèces de *Colletotrichum* sont classées comme suit

Règne :	Fungi
Division :	Ascomycota
Classe :	Sordariomycetes
Ordre :	Phyllachorales
Famille :	<i>Phyllachoraceae</i>
Genre :	<i>Colletotrichum</i>

### 1.3. Écologie

L'anthraxose est une maladie fongique largement répandue qui est causée principalement par des espèces du genre *Colletotrichum*, qui sont des champignons phytopathogènes très adaptables. Ces agents pathogènes sont responsables d'infections sur une large gamme de plantes hôtes cultivées ou sauvages, notamment dans les régions tropicales et subtropicales où les conditions environnementales leur sont favorables (Cannon et *al.*, 2012 ; Freeman et Shabi, 1996). Quand la température est modérée à élevée et que l'humidité est élevée, l'anthraxose se développe facilement. C'est aussi le cas quand les conditions d'aération ne sont pas bonnes ou que les plantes sont blessées. En effet, cela facilite la pénétration du champignon. La propagation des conidies de *Colletotrichum* se fait principalement par l'eau (pluie, irrigation), le vent, les outils agricoles ou encore les insectes vecteurs.

Les champignons responsables de l'anthraxose peuvent survivre dans les résidus végétaux, les semences contaminées ou sur des plantes hôtes secondaires, ce qui assure leur persistance entre les cycles culturaux. Ils sont capables de coloniser rapidement les tissus végétaux. Ils produisent des structures spécialisées (appelées «appressoria») qui facilitent la pénétration dans l'hôte. L'importance écologique de *Colletotrichum* réside dans sa capacité à s'adapter à des milieux variés et à établir des interactions complexes avec les plantes, allant de la pathogénicité à l'endophytisme (Cannon et *al.*, 2012 ; Than et *al.*, 2008).

### 1.4. Hôtes et diversité d'infection

Les espèces de *Colletotrichum* présentent un spectre d'hôtes très large, infectant plus de 200 espèces végétales appartenant à différentes familles botaniques (Dentika, 2021). Parmi les plantes d'intérêt agricole particulièrement sensibles figurent la fraise (*Fragaria ananassa*), la pomme (*Malus domestica*), les agrumes (*Citrus* spp.), les fruits à noyau (*Prunus* spp.), ainsi que les principales céréales telles que le maïs (*Zea mays*) et le sorgho (*Sorghum bicolor*) (Baroncelli et *al.*, 2017).

Cette diversité d'hôtes est principalement attribuée à la grande capacité d'adaptation du pathogène. L'infection est le résultat de mécanismes biochimiques et mécaniques, permettant au champignon de contourner les systèmes de défense des plantes (Dentika, 2021).

### **1.5. Conditions environnementales favorables à la croissance du pathogène**

La température optimale pour la croissance de *Colletotrichum* sp. Est de 25 à 28°C. Les températures variant de 20 à 30°C favorisent particulièrement l'infection (Davis et al., 1987).

La croissance et la sporulation de *Colletotrichum* sp. Sont favorisées par un pH de 6. La germination est cependant meilleure dans des milieux légèrement plus acides (Sharma et Kulshrestha, 2015).

Une humidité relative supérieure à 95% est requise pour la germination des conidies et la formation des appressoria (Sharma et Kulshrestha, 2015). À l'inverse, une faible humidité inactive rapidement les spores (Ponte, 1996). Le champignon reste inactif pendant la saison sèche et devient actif lorsque les conditions environnementales sont favorables (Sharma et Kulshrestha, 2015).

Les milieux PDA (potato dextrose agar) et CWA (coconut watery endosperm agar) sont particulièrement favorables à sa croissance (Santoso et al., 1996). La gélose de Richard favorise la croissance mycélienne aérienne, tandis que la gélose de farine d'avoine ou de maïs est plus propice à la sporulation (Kulshrestha et Sharma, 2021).

La lumière favorise la sporulation mais n'est pas indispensable à la croissance. Le pH optimal est de 6. La température optimale de croissance est de 25-28°C, et la croissance est totalement inhibée à 10°C (Kulshrestha et Sharma, 2021).

### **1.6. Culture sur milieu artificiel**

De nombreux travaux ont été réalisés sur divers paramètres de croissance de *Colletotrichum* sur milieu artificiel. Pour cela, des milieux solides ont été utilisés. Ces milieux comprenaient l'effet de la concentration et de la composition des milieux sur la croissance et la sporulation.

Sur des milieux tels que le PDA (potato dextrose agar) et le CWA (coconut watery endosperm), qui contiennent des quantités appropriées d'hydrates de carbone, de protéines, de minéraux et de lipides, le *Colletotrichum* se développe bien (Slade et al., 1987 ; Santoso et al., 1996).

Parmi les différents milieux de culture, la gélose de Richard et de Brown favorise la croissance du mycélium aérien, tandis que la farine d'avoine et la gélose de farine de maïs sont plus propices à la sporulation. En outre, les anneaux de *Colletotrichum* se développent abondamment et présentent peu de soies. L'acide glutamique et l'alanine favorisent une croissance et une sporulation maximales. La croissance est complètement inhibée à une température de 10 °C (Kulshrestha et Sharma, 2021).

La lumière n'est pas nécessaire, mais elle favorise la sporulation, et le pH 6 (pour la croissance et la sporulation) permet une meilleure germination sur un milieu plus acide. Pour une croissance maximale, il faut utiliser le milieu Czapeck et une gélose à l'extrait de levure (Kulshrestha et Sharma, 2021).

### **1.7. Symptomatologie**

Selon Corbaz (1991), l'origine étymologique du terme « anthracnose » provient du grec « anthrax ». Il s'agit d'une altération nécrotique des parties aériennes de la plante.

Les premiers symptômes de l'anthracnose sont décrits comme des taches brunes à noires, ainsi que des lésions sur les tiges et les jeunes pousses de nombreux végétaux, qui apparaissent au fur et à mesure que la maladie progresse et conduisent finalement à la nécrose des tissus ou à la mort (figure :1)

- **Sur feuilles**

Les symptômes se présentent sous forme de taches brun foncé à noires, rondes à circulaires, le bord est souvent plus foncé, parfois entouré d'un halo jaunâtre (chlorose) qui, à une phase ultérieure de l'infection, montrera les fructifications du champignon (minuscules taches noires dispersées). Les tissus endommagés par divers facteurs environnementaux sont plus sensibles à la colonisation par l'anthracnose (Nait Messaoud et Ouabba, 2018).

- **Sur fruits**

Sur les fruits, on peut observer des lésions brun sombre, gorgées d'eau, avec des mouchetures rosâtres ou orange. L'anthracnose ne se produit habituellement que sur les fruits qui ont été endommagés par d'autres agents, tels que les coups de soleil, les brûlures chimiques, les dommages causés par les ravageurs, Les lésions sont des taches brunes à noires de 1,5 mm ou plus de diamètre. La pourriture est habituellement ferme et sèche ; cependant, si l'infection progresse en profondeur, le fruit peut devenir mou. Lorsqu'ils sont conservés dans des conditions humides, les tissus infectés peuvent développer des masses de spores de couleur rose à saumon. En revanche, en conditions sèches, les spores prennent des teintes allant du brun au noir. Sur les fruits sensibles à l'éthylène, les lésions sont initialement plates, de couleur argentée, avec une texture coriace. Sur les fruits déverdis, une grande partie de la surface peut être affectée. Progressivement, les lésions deviennent brunâtres à gris-noir, évoluant vers une pourriture molle à mesure que l'infection progresse (Nait Messaoud et Ouabba, 2018). Cependant, en raison des conditions agro climatiques variables, les symptômes de la maladie peuvent varier selon la région, l'hôte et l'environnement.



**Figure 1** : Symptômes de *Colletotrichum* sp. sur différentes cultures (Jones et *al.*, 2014).

A et B : sur feuilles et fruits des agrumes ; C : sur fruit de tomate ; D : sur fruit de poivron

### 1.8. Biologie de *Colletotrichum* sp.

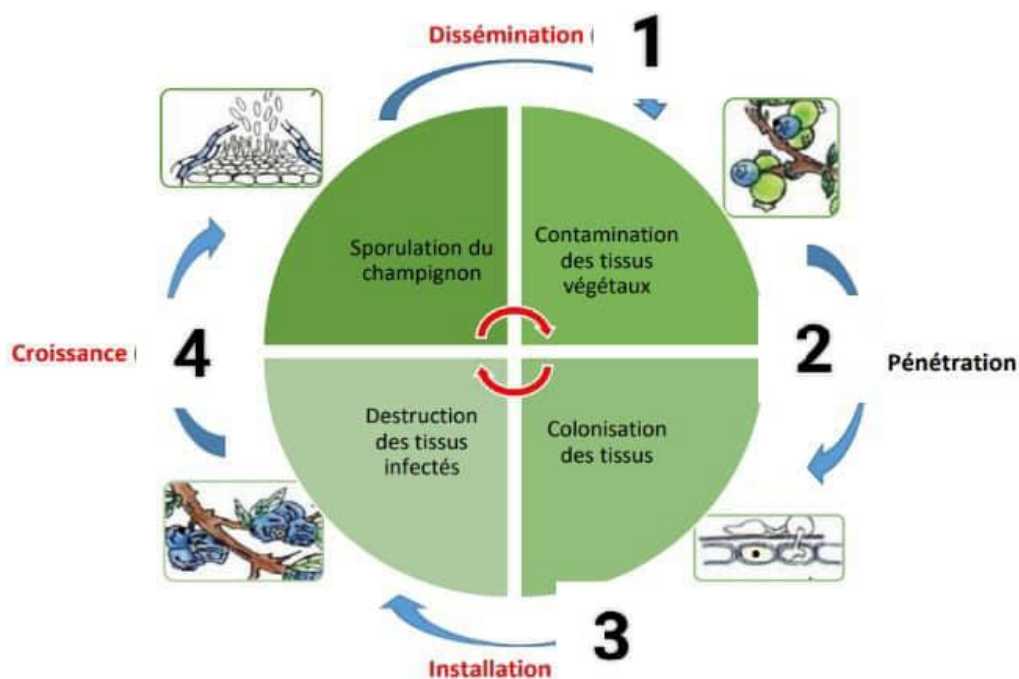
L'antracnose est une maladie causée par des champignons phytopathogènes qui colonisent préférentiellement les tissus blessés, affaiblis ou sénescents, provoquant ainsi des lésions superficielles (cutanées) et des infections internes.

L'agent pathogène se développe sur le bois mort présent dans la canopée et se propage localement par éclaboussures de pluie, forte rosée ou irrigation par aspersion. Lors de ces dispersions, les spores sont déposées sur les tissus sensibles des jeunes feuilles et des fruits immatures.

Les spores sexuelles (ascospores), bien que produites en plus faible quantité, jouent un rôle important dans la dispersion à longue distance grâce à leur capacité à être transportées par le vent (suspension aérienne). Après la germination des spores, le champignon forme des structures de repos (structures de dormance), qui lui permettent de rester latent jusqu'à ce qu'une blessure ou des conditions favorables surviennent.

Les conditions favorables (température de 25 à 28 °C ; pH entre 5,8 et 6,5 et humidité relative supérieure à 95%), provoquent l'interaction du pathogène avec l'hôte qui commence par la germination des spores à la surface de la plante pour former des structures d'infection mélanisées appelées appressoria suivie par la pénétration du tissu hôte. A ce stade, des hyphes d'infection épaisse sont produites dans les cellules infectées primaires, ce stade est appelé stade biotrophe de l'infection après cela, le champignon se transforme soudainement en phase nécrotrophe d'infection qui se caractérise par la formation d'hyphes secondaires minces. Ce sont ces hyphes secondaires qui commencent à coloniser les cellules voisines et qui finissent par entraîner le développement de lésions visibles à la surface de site d'infection. Enfin, les spores sont formées à la surface des tissus infectés, puis elles sont dispersées par les insectes, le courant d'air et les éclaboussures d'eau pour commencer un autre cycle d'infection (figure : 2) (Munch et *al.*, 2008).

La maladie est particulièrement problématique chez les fruits récoltés précocement et soumis à un déverdissement de plus de 24 heures. En effet, l'exposition prolongée à l'éthylène stimule la croissance du champignon, favorisant ainsi l'apparition des symptômes post-récolte (Serrano et *al.*, 2010).



**Figure 2 :** Cycle biologique de *Colletotrichum* sp. L'agent causal de l'antracnose (Dentika, 2021)

### 1.9. Les Moyens de lutte contre l'antracnose

La lutte efficace contre les maladies de *Colletotrichum* implique généralement l'utilisation d'une ou la combinaison des méthodes suivantes :

- La résistance variétale
- La lutte préventive
- Le contrôle chimique
- Le contrôle biologique au moyen d'organismes antagonistes (Wharton et Diéguez-Uribeondo, 2004).

### 10. Lutte biologique

Les méthodes de lutte biologique contre les maladies à *Colletotrichum* font maintenant l'objet d'une attention croissante, bien que le potentiel du contrôle biologique par l'effet des antagonistes de la phyllosphère se soit réalisé depuis un certain temps (Lenné et Parbery, 1976).

## Chapitre II : Les plantes hôtes de *Colletotrichum* sp.

### 2.1. Introduction

L'antracnose, également appelée maladie du charbon (du grec *anthrax* et du latin *carbo*), est une maladie cryptogamique qui touche de nombreuses plantes cultivées. Parmi les arbustes fruitiers les plus sensibles, on retrouve le cerisier, le framboisier, ainsi que des plantes potagères comme le haricot, le pois et la tomate (Dita et *al.*, 2003).

Les anthracnoses sont fréquentes sur les cultures maraîchères et fruitières, mais aussi sur les plantes ornementales et les cultures pérennes, qu'elles soient industrielles ou traditionnelles, telles que le palmier à huile, l'hévéa, le caféier ou le cacaoyer. Elles affectent également de nombreuses cultures vivrières comme l'igname, le manioc ou la patate douce (Resplandy et *al.*, 1954 ; Chevaugéon, 1956 ; Boisson et Renard, 1967). Il est capable d'infecter environ 470 genres végétaux, provoque aussi des pertes post-récolte (Prusky et Plumbly, 1992 in Khiat et Guerfi, 2018), et peut même être isolé comme endophyte asymptomatique (Khiat et Guerfi, 2018). Le tableau 1, représente quelques plantes hôte de ce pathogène.

De manière générale, les anthracnoses sont considérées comme des maladies de faiblesse, favorisées par un déséquilibre physiologique des plantes. Le champignon pathogène cible préférentiellement les organes jeunes et vulnérables (jeunes feuilles, fleurs), ou pénètre rapidement par des blessures, souvent causées par des insectes (Maurice, 1982).

La maladie est souvent causée par *Colletotrichum gloeosporioides*, un champignon phytopathogène ubiquiste, responsable de pertes importantes. Il infecte aussi bien les monocotylédones (comme les graminées) que les dicotylédones supérieures (par exemple l'anacardier). *C. gloeosporioides* est largement réparti à l'échelle mondiale, plus abondant dans les régions tropicales et subtropicales que dans les zones tempérées (Lourd, 1982 ; Kim et *al.*, 2014 ; Cannon et *al.*, 2000 in Khiat et Guerfi, 2018).

Dans ce chapitre, nous aborderons les plantes utilisées dans la partie expérimentale : celle servant à l'isolement du champignon ainsi que celle sur laquelle a été réalisé le test in planta, notamment les agrumes et le poivron.

**Tableau 1:** les différentes plantes hôte de *Colletotrichum* sp.

Nom commun	Nom scientifique	Famille botanique	Caractéristiques de la plante hôte	Symptômes d'antracnose	Espèce de <i>Colletotrichum</i> (Reference)
Haricot	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Fabaceae	Plante herbacée, cycle court, cultivée pour ses graines riches en protéines	Taches noires sur gousses, feuilles et tiges	<i>C. lindemuthianum</i> (Pastor – Corrales et Tu,1989)
Poivron	<i>Capsicum annuum</i>	Solanaceae	Plante herbacée, sensible à l'humidité, fruits creux riches en vitamine C	Lésions sombres, pourriture des fruits	<i>C. capsici</i> , <i>C. gloeosporioides</i> (Than et al.,2008)
Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>	Solanaceae	Plante herbacée à croissance rapide, très cultivée, fruits rouges charnus	Pourriture en zones circulaires sur fruits	<i>C. coccodes</i> , <i>C. acutatum</i> (Freeman et al.,1998)
Fraisier	<i>Fragaria ananassa</i>	Rosaceae	Petite plante rampante, sensible à l'humidité, fruits sucrés consommés frais	Pourriture dure, taches sombres	<i>C. acutatum</i> (Peres et al.,2005)
Mangue	<i>Mangifera indica</i>	Anacardiaceae	Arbre vigoureux, fruits riches en sucre et fibres, climat tropical	Lésions circulaires, chute de fruits	<i>C. gloeosporioides</i> (Arauz,2000)
Goyave	<i>Psidium guajava</i>	Myrtaceae	Arbuste tropical, fruits riches en vitamine C, feuillage dense	Pourriture des fruits	<i>C. gloeosporioides</i> (Ploetz et al.,1999)
Caféier	<i>Coffea arabica</i>	Rubiaceae	Arbuste cultivé en altitude, feuilles persistantes, graines utilisées pour le café	Chute prématurée de feuilles	<i>C. kahawae</i> (Perfect et al.,1999)
Soja	<i>Glycine max</i>	Fabaceae	Plante riche en huile et protéines, fixatrice d'azote, cultivée à grande échelle	Taches foliaires, lésions nécrotiques	<i>C. truncatum</i> (Damm et al.,2012)
Papaye	<i>Carica papaya</i>	Caricaceae	Plante tropicale à croissance rapide, fruits sucrés riches en papaine, très sensibles à l'humidité	Taches noires enfoncées sur fruits mûrs, pourriture post-récolte	<i>C. gloeosporioides</i> (Mahadevakumar et al.,2016)

## **2.2. Les agrumes**

### **2.2.1. Caractéristiques des agrumes**

D'après Praloran (1971), les agrumes sont de petits arbres ou des arbustes qui atteignent généralement entre 5 et 15 mètres de hauteur, et qui sont souvent épineux, à feuillage dense et persistant, à l'exception de quelques variétés hybrides dont les feuilles sont caduques ou semi Le fruit est formé de segments contenant les graines. L'épiderme de l'endocarpe est blanc et recouvert d'une écorce dont les glandes à essence sont très nombreuses. Celles-ci deviennent jaunes ou orange à maturité. Selon EL Otmani (2005), les agrumes sont généralement classés parmi les espèces végétales pérennes moyennement sensibles au froid, car ils ne peuvent pas survivre à des températures aussi froides que celles que supportent les espèces ligneuses, qui se trouvent dans des zones de latitudes élevées où les températures peuvent atteindre des valeurs proches de 40 °C.

### **2.2.2. Historique et origine**

Selon Parloran (1971), le défi de déterminer avec précision le point d'origine géographique des agrumes est rendu complexe par l'existence de variétés issues d'une hybridation naturelle entre différentes espèces de cette famille de plantes. Malgré cette incertitude quant aux frontières exactes du centre d'origine des agrumes, il est clair que celui-ci se trouve principalement dans le Sud-Est asiatique. Tanaka admettrait, selon Praloran en 1971, que le centre principal couvrirait l'Assam et le nord de la Birmanie, à la bordure sud-est de l'Himalaya. Deux centres secondaires ont été formés : la région côtière de la Chine méridionale et le sud du Japon. D'après Praloran (1971), les spécialistes s'entendent pour dire que la culture des agrumes est née en Chine et en Inde, il y a plus de 5 000 ans.

### **2.2.3. Importance économique des agrumes**

Les agrumes représentent la première catégorie fruitière en termes de valeur en commerce international ; cette importance est justifiée par leur :

- Consommation comme des produits frais ou après leur transformations (jus, sirop).
- Grande qualité nutritive riche, en vitamine C, B6, et constituent une source de fibres, d'acide ascorbique et folique, du potassium et du calcium.
- Effet bénéfique sur la santé en contribuant dans la diminution des risques de maladies cardio-vasculaires et d'autres maladies (ITAFV, 2014).

#### 2.2.4. Systématique du agrumes

D'après (Praloran, 1971), la position taxonomique des agrumes est la suivante :

Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Eudicotes
Sous classe :	Archichlomydeae
Ordre :	Germinale (Rutales)
Famille :	Rutaceae
Genre :	<i>Poncirus, Fortunella</i> et <i>Citrus</i>

#### 2.2.5. Quelques variétés d'agrumes cultivées en Algérie

##### a) Orangers (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) ;

En Algérie, on cultive plusieurs variétés d'oranges. Mais la plus appréciée est l'orange Portugaise demi-sanguine. C'est un fruit de qualité qui est vendu du début de février à la fin d'avril.

##### b) Mandarinier

Selon Loussert (1989), les mandariniers sont un groupe d'espèces qu'il est possible de distinguer. On peut citer, par exemple, les mandariniers satsuma (*Citrus unshiu*), les mandariniers communs (*Citrus deliciosa*), les clémentiniers (*Citrus clementina*) et les autres mandariniers (*Citrus reticulata*).

##### c) Citronnier (*Citrus limon* L.)

Comme pour les autres arbres fruitiers, il existe de nombreuses variétés de citronniers dont les fruits, dissemblables, ont des époques de maturité différentes, comme les variétés Eureka, Meyer et citronnier panaché (Benedicte et Baches, 2011).

##### d) Pomelo (*Citrus paradisi*)

On distingue les pomelos « jaunes » (ou « blancs », ou « communs ») des pomélos « roses » (Benedicte et Baches, 2011).

##### e) Bigaradier (*Citrus aurantium*)

D'après Esclapon (1975), le bigaradier et ses divers clones sont principalement cultivés pour leurs fleurs, leurs fruits, leurs feuilles et leurs brouts de taille. Ces derniers assurent la production d'une eau de fleur d'oranger, de confiture (avec les fruits mûrs) et de vins apéritifs (avec les fruits verts) après distillation.

### **2.2.6- Caractères botaniques**

Ce sont des petits arbres de 5 à 10 m de haut, dicotylédones, dialypétale, hypogynes et composés de deux parties

#### **2.2.6.1- Système racinaire**

Chez les agrumes, le système racinaire occupe plus de 70% de la taille de l'astre, les racines ont un pivot qui peut dépasser 2m au-dessous de la surface, ces racines fibreuses se prolonger généralement bien au-delà de la canopée (Walter et Sarm, 2002).

#### **2.2.6.2-Système aérien**

##### **a) Feuilles**

Les feuilles sont simples, de 4 à 8 cm de longueur, unifoliées, denses, avec des pétioles ailés et articulés (Macker, 1985).

##### **b) Fleurs**

Les fleurs sont généralement de couleur blanche, de 4 à 5 pétales imbriqués, souvent recourbés vers l'amère, souvent très odorantes (Benedicte et Baches, 2011). Les fleurs ont entre 2 à 4 cm de diamètre, axillaires, parfumées, simples souvent parfaites (ayant les étamines et les pistils fonctionnels) et parfois staminées (comportant des étamines tout en étant dépourvues de pistils) (Somon, 1987).

##### **c) Fruits**

De forme et de coloration variable en fonction des différents groupes auxquelles ils appartiennent.

##### **d) Rameaux**

Les rameaux, parfois épineux, connaissent plusieurs vagues de croissance, la plus importante étant celle du printemps (Virbei-Alonso, 2011).

### 2.2.7. Cycle de vie des agrumes

Les agrumes sont des arbres fruitiers à feuilles persistantes, le cycle de vie de ces arbres débute par une phase de dormance suivi par une phase de débourrement ou il y a le gonflement des bourgeons et le développement des feuilles suivis par une phase de floraison (début, pleine et fin).

### 2.2.8. La situation phytosanitaire des agrumes

#### 2.2.8.1 Principales maladies

De nombreuses maladies importantes qui touchent les agrumes un peu partout dans le monde sont :

- *Pseudomonas syringae* Vanhall (maladie bactérienne).
- *L'Exocortis* causé par un viroïde et transmis par voies mécaniques (Loussert, 1987).
- Les maladies d'origine cryptogamique qui sont nombreuses, et parmi lesquelles on peut citer la fumagine, la moisissure verte, la pourriture ou encore l'anthracnose, cette dernière étant causée notamment par des champignons du genre *Colletotrichum*, qui constitue le sujet principal de notre étude.

#### 2.2.8.2 Principaux ravageurs

En Algérie, les agrumes sont attaqués par plusieurs espèces d'insectes, comme les cochenilles, la mouche des fruits, les aleurodes et les pucerons. Ces insectes causent divers dégâts, comme l'indique le Tableau 2.

**Tableau 2** : les principaux ravageurs d'agrumes (ACTA, 2008).

<b>Nom scientifique</b>	<b>Commun</b>	<b>Description et dégâts</b>
<i>Toxoptera aurantii</i> <i>Aphispiraecola</i>	Pucerons	Les fleurs avortent et les très jeunes feuilles se déforment.
<i>Phyllocnistis citrella</i>	Mineuse des feuilles	Les feuilles sont minées entre les deux épidermes par une chenille de micro-lépidoptère.
<i>Scirtothrips aurantii</i>	Thrips	Les feuilles se déforment. Celle-ci est provoquée par les piqûres d'insectes.

### **2.2.3- Le poivron**

Le poivron est une plante de la famille des Solanacées, il est de la même espèce que le piment cultivé mais est issu de la sélection de variétés dites "douces". C'est une plante qui est vivace en milieu tropical mais qui est le plus souvent cultivée comme une annuelle afin de bénéficier de sa productivité. Le poivron est sensible aux coups de soleil mais exigeant en température.

Son développement maximal se situe aux alentours de 15 à 25° C et des températures trop élevées (28-30° C) peuvent entraîner une importante coulure des fleurs. Il est donc recommandé de la cultiver durant les mois les plus frais de l'année (de mai à septembre).

Le poivron peut atteindre 1 m à 1,5 m de hauteur et donne des fruits, de différentes formes (carré, long, conique...), verts durant leur croissance mais dont la couleur peut varier à maturité selon la variété (jaune, rouge, orange...).

#### **2.2.3.1- Origine et répartition dans le monde**

Le poivron (*Capsicum annum L.*) est originaire d'Amérique centrale et d'Amérique du sud, elle a un peu plus d'un siècle abordé et conquis tous les continents dans leurs parties tropical sous tempérées chaudes (Pochard et *al.*, 1992).

Il est cultivé dans toutes les régions tropicales du monde, ainsi que dans les régions tempérées chaudes (Polese et Devaux, 2007).

#### **2.2.3.2- Importance économique de la culture de poivron à Mostaganem**

Les années 80, la wilaya de Mostaganem a introduit, dans ses activités agricoles pour la première fois, la plasticulture dans la région de Siret pour la culture de poivron (Ghelamallah, 2009). Cette technique s'est propagée par la suite, dans tout le territoire de la wilaya qui a connu un développement intensif de la production du poivron (Ghelamallah, 2009). Entre 2005 et 2014, la superficie couverte en serre a connu une évolution sensible en passant de 1258 ha en 2006 à 1548 ha en 2013. Par contre, nous notons une réduction de sa superficie durant l'année 2014 où elle a enregistré 1192 ha.

Entre 2003 et 2014, la région a connu une augmentation sensible des superficies cultivées en tomate et poivron. Ceci est dû à l'implantation de nombreux agriculteurs venus des régions de Chlef et de Tipaza pour exploiter les zones du littoral conçues pour la production de la tomate-primeur (Ghelamallah, 2009).

### 2.2.3.3- Systématique du poivron

Le poivron (*Capsicum annum* L.), est une plante dicotylédone qui appartient à la famille des solanacées, sa classification selon Cronquist, (1981) est la suivante :

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre :</b>	Solanales
<b>Famille :</b>	Solanaceae
<b>Genre :</b>	<i>Capsicum</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Capsicum annum</i> ; Linnaean (1753)

### 2.2.3.4- Les Stades phénologiques

Selon ITCMI (2010), Le cycle végétatif du poivron suit plusieurs stades végétatifs qui sont :

- Stade 0 : Levée
- Stade 1 : Les cotylédons sont étalés
- Stade 2 : Deux feuilles étalées sur la tige principale
- Stade 3 : Davantage de feuilles étalées sur tige
- Stade 4 : Début floraison
- Stade 5 : Floraison
- Stade 6 : Développement du fruit

### 2.2.3.5. Les variétés du poivron

Les poivrons sont généralement classés en deux types selon leur forme (Belkhiri et Sefih, 2016) :

- Les variétés américaines sont plus ou moins carrées, à trois ou quatre lobes et à chaire épaisse ; Les variétés italiennes sont allongées et pointues, plus mince. A Mostaganem, les agriculteurs cultivent et apprécient les variétés suivantes :
- Pour le plein champ : Asgrew (quatre coins) et poivron doux d'Espagne.
- Sous serre : Magister Hybride F1, Florida Hybride F1.

### 2.2.3.6. La situation phytosanitaire du poivron

#### 2.2.3.6.1 Les maladies cryptogamiques

Le sol est habité de façon permanente par de nombreux organismes. Il existe aussi une microflore. Pour les cultures maraichères, on rencontre plusieurs types de champignons responsables de maladies cryptogamiques (Belkhiri, et Sefih, 2016) :

**Tableau 3:** Différentes maladies cryptogamique du poivron

Maladie	Agent responsable	Nature des dégâts
Mildiou	<i>Phytophthora capsici</i>	Nécrose brune bien délimitée au niveau du collet Flétrissement brutal des plantes.
Oïdium	<i>Livellia taurica</i>	Taches jaunâtres sur les feuilles ponctuellement nécrotiques, parfois couvertes d'un feutrage blanc.
Alternariose	<i>Alternaria solani</i>	Taches noires de Taille variable, plus ou moins arrondies, bien délimitées, taches ovales sur tige.
Anthraxnose	<i>Colletotrichum atramentarium</i>	Taches déprimées Circulaires sur fruits, le centre de ces taches noircit légèrement.

#### 2.2.3.6.2 Les maladies virales

Selon Simon (1994), 40% des maladies à virus sont transmises par les insectes, dont le groupe le plus redoutable est celui des pucerons. La transmission se fait lors des piqûres de prise de nourriture, on distingue deux types de transmission :

Un mode non persistant, localisé au niveau des stylets, le virus disparaît lors que les insectes muent

Mode persistant, les particules sont ingérées avec la salive, passant de l'intestin dans l'hémolymphe, puis dans les glandes salivâtes, où elles persistent même si l'insecte mue

**Tableau 4** : Principales maladies virales du poivron (Belkhiri, et Sefih, 2016)

Maladies	Agent responsable	Nature des dégâts
Mosaïque du Concombre	Virus de la mosaïque du concombre (CMV)	Mosaïque en taches annulaires, en arabesque et marbrure
Mosaïque de la Luzerne	Virus de la mosaïque de la Luzerne (AIMV)	Provoque des symptômes nécrotiques mort de certains bourgeons suivis de la production d'un nouveau feuillage présentant une forte Mosaïque blanche et jaune
Mosaïque de la Pomme de terre	Mosaïque de la Pomme de terre	Mosaïque vert brillant avec parfois nécroses des nervures

#### 2.2.3.6.3 Les maladies bactériennes

- Flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) :

- flétrissement initialement unilatéral puis généralisé ;  
 - brunissement des vaisseaux et des tissus adjacents ;  
 - chancre ouvert sur les pétioles.

- Gale bactérienne (*Xanthomonas vesicatoria*) :

Des petites taches noires apparaissent sur les sépales, puis se propagent sur les fruits pour prendre une apparence ligneuse et festonnée.

- Le chancre bactérien (*Corynebacterium michiganense*) :

Le flétrissement est accompagné de chancres longitudinaux sur la tige et les pétioles, puis la moelle noircit.

#### 2.2.3.6.4 Les ravageurs du poivron

La culture du poivron est soumise à des attaques régulières des ravageurs (acariens et nématodes) et d'insectes (thrips, aleurodes et puceron).

## Chapitre III : l'agent antagoniste

### 3.1. Introduction

Au du XXe siècle, quasi simultanément en phytopathologie et entomologie, l'appellation lutte biologique fut proposée pour désigner toute méthode phytosanitaire mettant en œuvre des organismes vivants. L'étude de Sanford (1926) sur les facteurs influençant la pathogénicité de la bactérie *Streptomyces scabines* matérialise ce concept en observant que des microorganismes saprophytes pouvaient entraîner une diminution de l'intensité des symptômes de ce phytopathogène du sol. Quelques années plus tard, Weindling mis en évidence que le champignon *Trichoderma lignorum* parasitait d'autres champignons du sol.

La synthèse de molécules destinées à combattre les maladies et organismes nuisibles allait freiner les progrès de la lutte biologique et ses développements pratiques. Les efforts de l'industrie chimique permirent des progrès spectaculaires dans la protection phytosanitaire des cultures et, à partir des années 1950, les substances pharmaceutiques apparaissaient comme la solution à privilégier pour lutter contre les agents pathogènes des cultures (Lepoivre, 2003).

Cependant, les limites associées à l'usage intensif des produits phytosanitaires de synthèse sont vite apparues : apparition de souches résistantes, effets toxiques sur la faune non cible, pollution des sols et des ressources hydriques, ainsi que risques pour la santé humaine.

Face à ces enjeux, la lutte biologique retrouve une place stratégique dans les programmes de gestion intégrée des maladies. Elle s'impose aujourd'hui comme une alternative écologique et durable, fondée sur l'utilisation d'organismes vivants antagonistes pour limiter le développement des pathogènes. Des champignons tels que *Trichoderma* spp. ou des bactéries comme *Pseudomonas fluorescens* suscitent un intérêt croissant pour leur efficacité démontrée contre divers agents phytopathogènes, notamment ceux du genre *Colletotrichum*, responsables d'antracnoses destructrices sur de nombreuses cultures.

La protection conférée par un agent de lutte biologique repose sur un ou plusieurs mécanismes d'action. Ces mécanismes incluent la compétition pour les nutriments ou l'espace, le parasitisme, la production de substances toxiques pour le pathogène (antibiose), ainsi que la stimulation des défenses naturelles de la plante (Thomashow et Weller, 1996 ; Saiah, 2004).

### 3.2. Généralités sur les *Trichoderma* spp.

Le genre *Trichoderma* regroupe un ensemble de champignons imparfaits saprophytes qui se retrouvent couramment dans le sol, sur le bois mort, les débris végétaux et les organes aériens des plantes. Il est reconnu facilement en culture grâce à la couleur généralement verdâtre de ses spores et le port typique de ses phialides (en forme de quilles) (Caron, 2002).

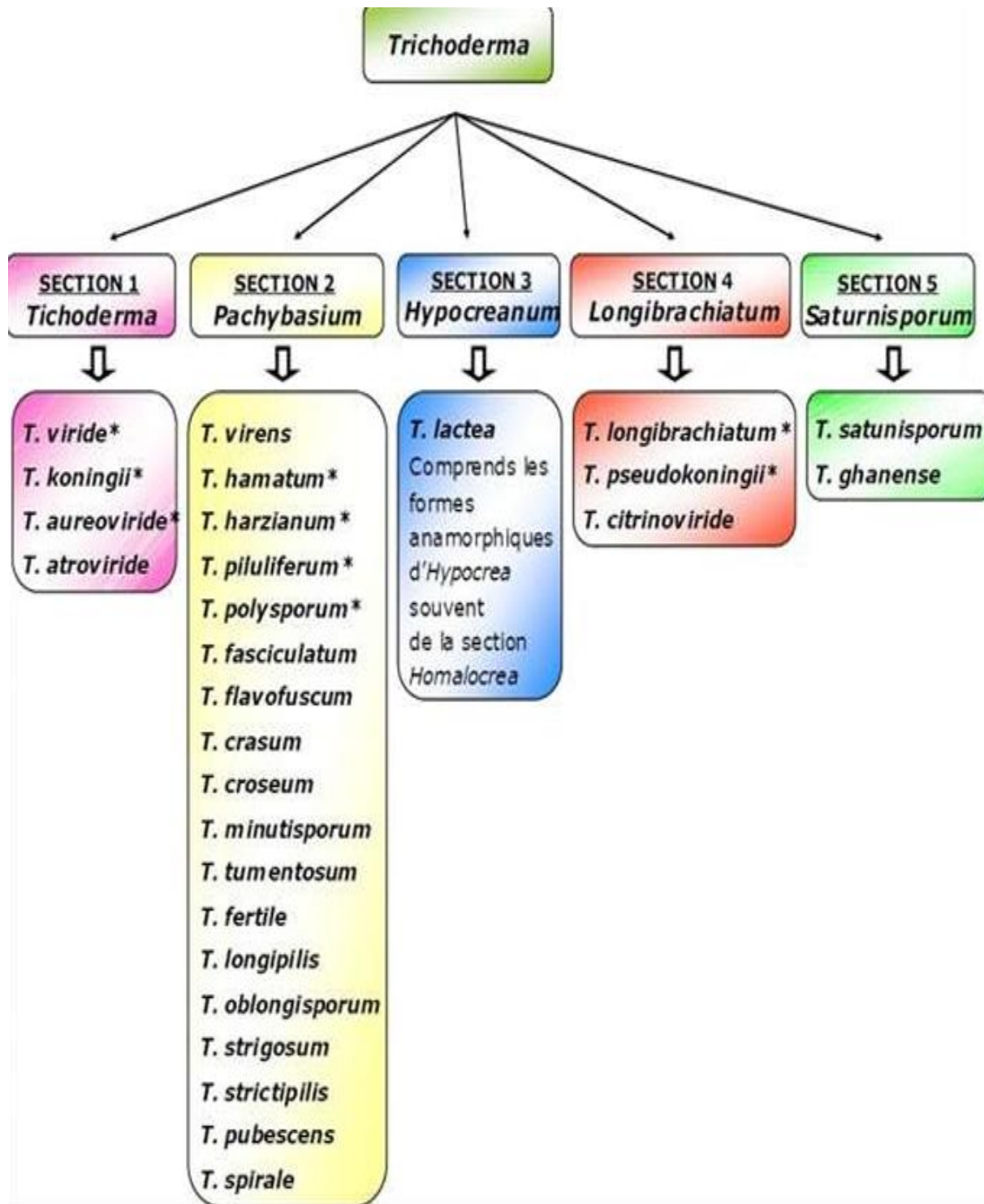
Le genre *Trichoderma* peut être responsable d'infections chez les patients immunodéprimés, bien que l'homme ne leur soit qu'un hôte accessoire (Roquebert, 1996). Sous certaines conditions, ils peuvent provoquer chez lui des infections opportunistes fatales (Munoz et al., 1997). Il a été constaté que le développement des *Trichoderma* sp., Chez l'Homme est souvent le fait de déficits immunitaires spontanés ou post-thérapeutiques, qui en favorise la survenue et en augmente la gravité (Ragnaud et al., 1984).

### 3.3. Taxonomie

La classification des espèces du genre *Trichoderma* a suscité de nombreuses études et beaucoup de polémique. En biologie, la notion d'« espèce » repose généralement sur la capacité de deux individus à se reproduire entre eux. Or, les champignons anamorphes du genre *Trichoderma* ne présentent pas de reproduction sexuée observable, rendant leur classification systématique particulièrement complexe. Dès lors, les chercheurs se sont appuyés sur des critères morphologiques et culturels, en particulier la structure des appareils sporogènes.

Le premier *Trichoderma* a été décrit en 1794 par Persoon, qui en identifie quatre espèces initiales. Plus tard, en 1969, Rifai propose une classification plus fonctionnelle, fondée sur le concept d'« espèces agrégées ». Cette approche repose sur des caractères microscopiques, tout en tenant compte de la grande variabilité morphologique observée au sein du genre. Une espèce agrégée regroupe plusieurs espèces morphologiquement proches et difficiles à distinguer de manière fiable.

Rifai définit ainsi neuf espèces agrégées : *T. aureoviride*, *T. hamatum*, *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. longibrachiatum*, *T. piluliferum*, *T. polysporum*, *T. pseudokoningii* et *T. viride*, en acceptant une certaine variabilité intra-spécifique dans chaque groupe (figure :4) (Rifai, 1969 in Bissett, 1991).



**Figure 1** : Les 5 sections systématiques de *Trichoderma* sp. et quelques-unes des espèces y appartenant selon les espèces agrégées de Rifai, 1969 in Bissett, 1991 .

### 3.4. Classification

La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* sp. Se présente comme suit (Bissett, 2004) :

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

### 3.5. Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux diverses conditions environnementales, le genre *Trichoderma* est largement répandu dans la nature, aussi bien dans les milieux terrestres que marins (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998). Les espèces de *Trichoderma* se distinguent par une croissance rapide et une aptitude à coloniser une grande variété de substrats, ce qui en fait des composants majeurs de la mycoflore des sols et des environnements aquatiques (Widden et Abitbol, 1980 ; Kubicek et al., 2003).

Les *Trichoderma* terrestres se rencontrent dans presque tous les types de sols, qu'ils soient forestiers ou agricoles, ainsi que sur les matières végétales en décomposition. Ils sont également fréquemment présents dans le compost destiné à la culture industrielle des champignons comestibles, bien qu'ils soient rarement des parasites des plantes vivantes (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

La prédominance des *Trichoderma* dans de nombreux écosystèmes s'explique par leur capacité à produire une grande diversité de substances bioactives, notamment des enzymes hydrolytiques et des métabolites secondaires. Cette aptitude confère à ces champignons un rôle écologique important dans les chaînes biologiques et les cycles de décomposition (Widden et Abitbol, 1980 ; Vining, 1990 ; Kubicek et al., 2003).

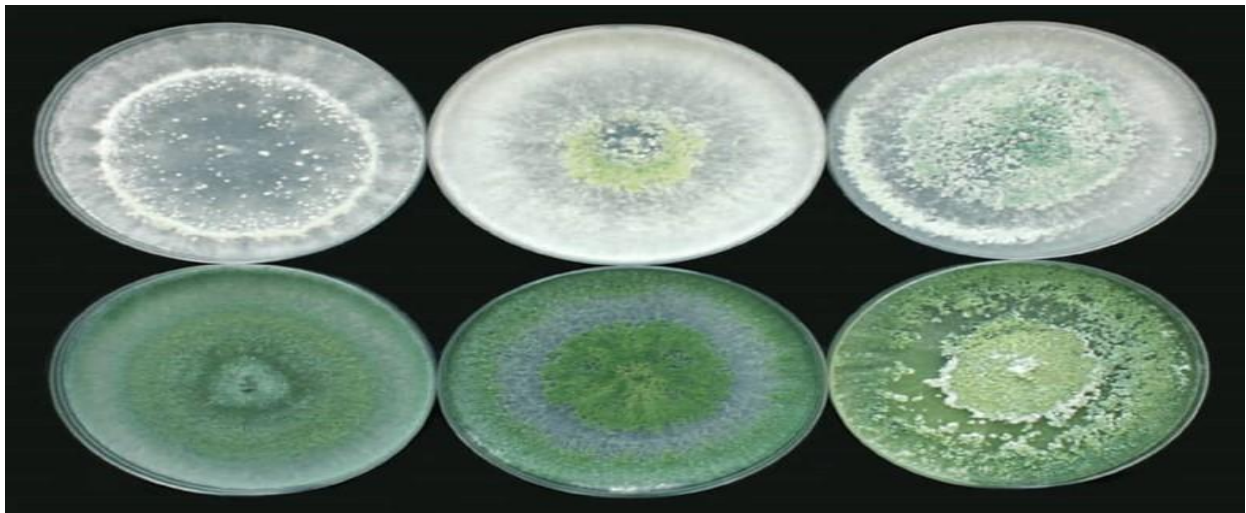
### 3.6. Morphologie sur milieu artificiel

La majorité des espèces de *Trichoderma* sont morphologiquement très semblables et difficiles à distinguer en raison de leur ressemblance macroscopique et microscopique. Cette confusion taxonomique a longtemps limité la précision des études faites sur ce genre. Les méthodes

moléculaires, basées sur les polymorphismes des séquences d'ADN et les amplifications par PCR, se sont avérées très utiles pour caractériser les isolats de ce genre, tant dans des études d'identification (Hjeljord et Tronsmo, 1998) que dans l'élaboration de classifications phylogénétiques (Kullnig-Gradinger et al., 2002) ;

### 3.6.1-Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies de *Trichoderma* spp., Observé sur milieu PDA (Pomme de Terre Dextrose Agar), révèle une croissance rapide et une colonisation étendue de la surface du milieu. Les colonies apparaissent d'abord blanchâtres, puis évoluent vers des teintes vertes à vert foncé en raison d'une sporulation abondante. La texture varie selon l'espèce, allant d'un aspect cotonneux à granuleux. Le revers de la boîte de Petri reste généralement incolore, mais peut parfois présenter une pigmentation jaunâtre. Les colonies affichent des contours irréguliers avec une marge bien définie. De plus, une odeur forte et caractéristique est souvent perceptible. Cette apparence permet une première orientation dans l'identification (Bencheikh, 2012).

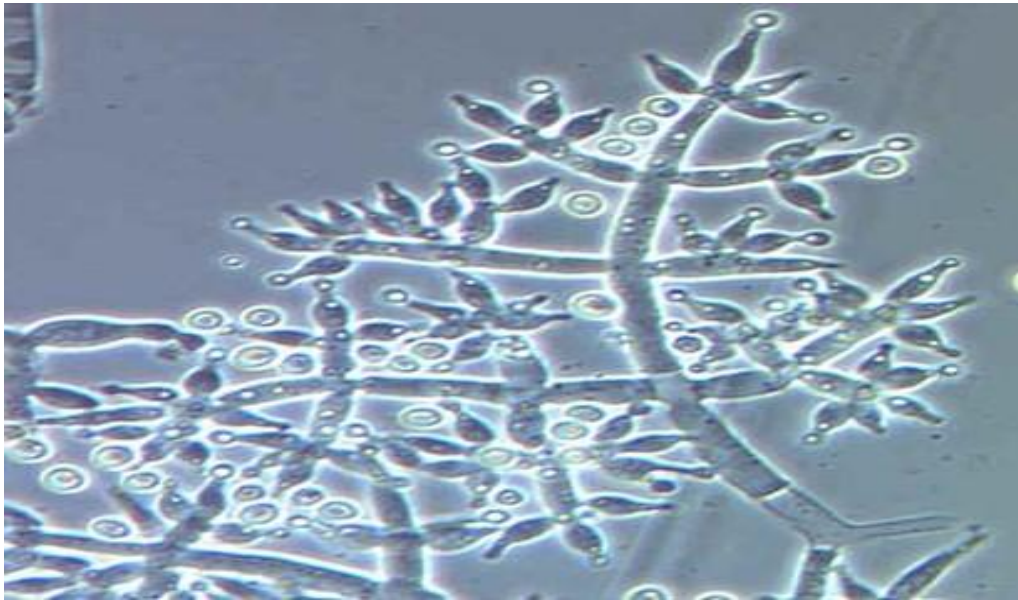


**Figure 2 :** Aspect macroscopique de *Trichoderma* sp.

(Anonyme 2025)

### 3.6.2-Aspect microscopique

Au microscope optique on peut observer un mycélium hyalin, septé et ramifié. Les conidiophores sont courts, ramifiés de manière pyramidale. Les phialides sont en forme de bouteille, disposées en verticilles. Les conidies sont unicellulaires, elliptiques à subglobuleuses, lisses ou légèrement rugueuses. Elles sont généralement regroupées en amas mucilagineux verts. La sporulation est abondante, surtout à la surface du milieu de culture (Gams, W., & Bissett, J. 1998)



**Figure 3** : aspect microscopique de *Trichoderma* sp. (Roussos, 1987).

### 3.7-Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* spp.

Les propriétés antagonistes des souches de *Trichoderma* sont connues depuis 1887, comme le rapporte une publication scientifique précoce (Abdiche et Khireddine, 2016). Depuis, de nombreuses études ont confirmé l'efficacité de ces champignons dans la lutte contre diverses maladies des plantes. Cette efficacité repose sur plusieurs atouts biologiques et écologiques :

- ✓ Une grande capacité d'adaptation écologique, qui se manifeste par leur présence dans les sols du monde entier, sous des conditions environnementales très variées ;
- ✓ Une aptitude à se développer sur des substrats simples et peu coûteux, ce qui facilite leur culture en laboratoire et en industrie ;
- ✓ Une production diversifiée de composés bioactifs, notamment des enzymes lytiques (chitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases), des antibiotiques naturels et des phytohormones qui favorisent la croissance et renforcent les défenses des plantes (Benítez et *al.*, 2004).

La présence de *Trichoderma* spp., dans le sol exerce donc à la fois un rôle curatif (en limitant la progression des pathogènes) et préventif (en stimulant la résistance des plantes) (Harman et al., 2004). Ces champignons induisent la production de substances messagères qui activent les mécanismes de défense de la plante. Cette résistance systémique induite s'accompagne, à court terme, d'une surexpression des gènes liés à la défense dans l'ensemble de la plante, renforçant ainsi sa capacité à réagir face à une agression pathogène.

Par ailleurs, les *Trichoderma* spp., présentent une diversité génétique importante, ce qui leur confère un potentiel considérable pour la production de substances naturelles. Ces composés incluent des biopesticides, mais aussi des biofertilisants et biofongicides largement utilisés en agriculture durable. Malgré leur succès commercial, des limites subsistent, notamment une efficacité moindre dans les conditions naturelles du terrain.

Ainsi, pour améliorer les stratégies de lutte biologique, il est essentiel de sélectionner des souches hautement antagonistes, adaptées à des conditions agroécologiques spécifiques et capables de maintenir leur efficacité au champs (Debbi, 2019).

### **3.8-Mode d'action de *Trichoderma* en lutte biologique**

Les espèces de *Trichoderma* agissent selon plusieurs stratégies d'actions complémentaires qui leur confèrent une efficacité remarquable en lutte biologique. Ces mécanismes incluent notamment la compétition pour les nutriments et l'espace, le mycoparasitisme, ainsi que la production de composés antifongiques. Leur efficacité dépend toutefois de plusieurs facteurs environnementaux comme la nature du sol, le PH, ou encore l'activité microbienne déjà présente. *Trichoderma* peut adapter sa réponse en fonction des caractéristiques spécifiques de l'agent pathogène ciblé, ce qui renforce son rôle central dans les programmes de biocontrôle intégré.

#### **3.8.1- Antibiose**

Les différentes souches du genre *Trichoderma* sont productrices de plus de 100 métabolites secondaires aux propriétés antibiotiques. La production de ces antibiotiques dépend de paramètres environnementaux tels que le substrat colonisé, le pH ou la température. On peut classer ces antibiotiques en trois groupes :

- ✓ Les composés volatils,
- ✓ Les composés solubles dans l'eau (substances non volatiles),

- ✓ Les peptaiboles qui agissent avec la membrane plasmique. Néanmoins, les mécanismes d'action de certains antibiotiques sont encore insuffisamment connus (Almi, 2015).

En effet, les deux premiers groupes d'antibiotiques sont dérivés de plusieurs voies métaboliques, ce qui les rend plus complexes et diversifiés. Par contre, le troisième groupe, les peptaiboles, forme le plus important groupe d'antibiotiques avec plus de 300 molécules, dont 54 sont isolées à partir de *Trichoderma harzianum* (Peptaibol Database, 2007), parmi les molécules bioactives en antibioses, on en cite six : 6-pentyl-2 $\alpha$ -pyron-2-one (6PP), les koningins (A, B et G), l'acide harzianique, la trichodermine, l'harzianolide et la harzianimine (Almi, 2015).

### 3.8.2-Action par mycoparasitisme

Le mycoparasitisme est la façon dont un champignon attaque directement un autre. C'est un processus nutritionnel. L'une des principales explications de leur action antagoniste à l'égard des champignons phytopathogènes telluriques est l'activité mycoparasitaire de *T. harzianum*. Ce type d'antagonisme direct est un phénomène complexe qui se déroule en plusieurs étapes successives. La première étape est appelée stimulation du chimiotropisme. Suite à la sécrétion d'un stimulus chimique par l'hôte, l'antagoniste perçoit sa présence et dirige les hyphes mycoparasitaire directement vers lui.

La deuxième étape est la reconnaissance spécifique, durant laquelle le champignon antagoniste identifie la surface cellulaire de l'agent pathogène. Le mycoparasite adhère aux parois de son hôte. Cette adhésion est due à la présence de lectines sur le mycélium des champignons pathogènes. Ces lectines se lient à des sucres spécifiques présents sur les parois cellulaires de l'antagoniste. Ce processus est appelé « liaison d'agglutinine ».

La troisième étape c'est le contact physique et enroulement où l'interaction entre les deux champignons se manifeste de deux façons possibles.

- ✓ Soit les hyphes de *T. harzianum* s'enroulent autour de ceux du pathogène,
- ✓ Soit, ils poussent parallèlement à ceux du pathogène, en établissant un contact étroit.

À ce stade, des structures spécialisées comme des haustoria ou des crochets peuvent se former pour renforcer l'adhésion.

La quatrième étape, c'est la pénétration et destruction des hyphes. Durant cette dernière le *T. harzianum* pénètre les hyphes du pathogène, ce qui entraîne une série de réactions : granulation, vacuolisation cytoplasmique, perforation de la paroi cellulaire, perte de turgescence, et finalement

lyse des cellules du pathogène. Ce processus de destruction est facilité par la sécrétion d'enzymes lytiques extracellulaires (telles que les chitinases et glucanases), ainsi que de peptaïboles, qui contribuent à la dégradation de la paroi cellulaire du champignon cible, permettant ainsi l'invasion par *T. harzianum* (Dendouga, 2017).

### **3.8.3- Action par compétition**

Les agents pathogènes sont combattus et dégradés par les biodégradeurs, *Trichoderma* dans leurs phases saprophytiques, surtout lorsque les nutriments sont le facteur limitant. En effet, pour qu'une espèce de *Trichoderma* soit efficace, elle doit coloniser la rhizosphère à une distance de plus de 2 cm de la graine. Une fois installée, elle crée une zone d'interaction dans la partie cortex des racines. Cette zone sécrète des molécules, comme les sidérophores, qui permettent d'absorber le fer et d'arrêter la croissance du pathogène. Pour cette raison, l'efficacité de l'agent antagoniste est influencée par la composition du sol. *Trichoderma* possède la capacité d'obtenir l'ATP à partir du métabolisme de différents sucres, comme les dérivés de polymères. C'est ce qui permet aux souches de *Trichoderma* d'utiliser efficacement les nutriments disponibles (Almi, 2015).

# **Partie expérimentale**

## Chapitre I : Matériels et méthodes

### 1.1. Objectif

L'étude a pour objectif d'évaluer l'activité antifongique, à la fois in vitro et in planta, de deux espèces différentes de *Trichoderma* sp. Sur le développement du champignon phytopathogène *Colletotrichum* sp.

L'évaluation in vitro a porté sur deux paramètres biologiques principaux : la croissance mycélienne et la sporulation du pathogène. Deux types de confrontation ont été utilisés pour cette évaluation :

- La confrontation directe, où les deux champignons sont mis en culture sur le même milieu afin d'observer les interactions physiques et la capacité d'inhibition de *Trichoderma* sur *Colletotrichum* ;
- La confrontation indirecte, qui permet d'évaluer l'effet des composés volatils et solubles produits par *Trichoderma*, sans contact physique entre les deux micro-organismes.

Par ailleurs, des tests in planta ont été réalisés afin de confirmer l'efficacité de ces espèces de *Trichoderma* dans des conditions proches du milieu naturel de la plante hôte, et d'évaluer leur potentiel en tant qu'agents de biocontrôle dans une stratégie de lutte intégrée.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de phytopathologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), situé sur le site 3 de l'Université Abd El Hamid Ibn Badis de Mostaganem, ainsi qu'à l'atelier agricole de l'université, localisé à Mazagran.

### 1.2. Matériels fongiques

L'ensemble des tests in vitro ont été effectués sur le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar).

#### 1.2.1-Agent pathogène

L'isolat a été *colletotrichum* sp. Utilisé dans cette étude a été isolé à partir des feuilles de bigaradier présentant des symptômes d'attaque. Après identification et purification l'isolat a été conservé sur milieu PDA incliné pour les tests ultérieurs.

Dans le cadre de cette expérience, nous avons également procédé à l'isolement à partir d'autres organes végétaux infectés tels que des feuilles de tomate ainsi que sur des fruits de tomate présentant des symptômes de l'anthracnose. Malheureusement ces prélèvements n'ont pas permis d'isoler ce champignon.

### 1.2.2-Agent antagoniste

Deux isolats de *Trichoderma* sp ont été utilisé pour cette étude. Le premier a été isolé par Mme SAIAH F. et conservé au niveau du laboratoire de Protection des végétaux. Le second a été isolé à partir du sol de pomme de terre cultivé dans la région de Fornaka.

### 1.3-Matériel végétale

L'étude in planta a été effectuée sur des plantules de poivron variété Florida cultivé sur pots. Le semis a été réalisé au mois de mars, alors que la plantation a été effectué le mois d'avril.

### 1.4. Méthodes utilisées

#### 1.4.1-Isolement de l'agent pathogène à partir des feuilles contaminées :

Plusieurs étapes ont été suivi pour isoler le champignon phytopathogène à partir des tissus végétaux infectés. Les étapes sont les suivantes :

- **Prélèvement des échantillons**

Des feuilles présentant des symptômes caractéristiques de l'antracnose (taches, brûlures, décolorations, etc.) ont été sélectionnées. Ces feuilles malades ont été utilisées pour l'isolement, afin d'augmenter les chances d'obtenir l'agent pathogène responsable de la maladie.

- **Préparation des fragments de feuilles**

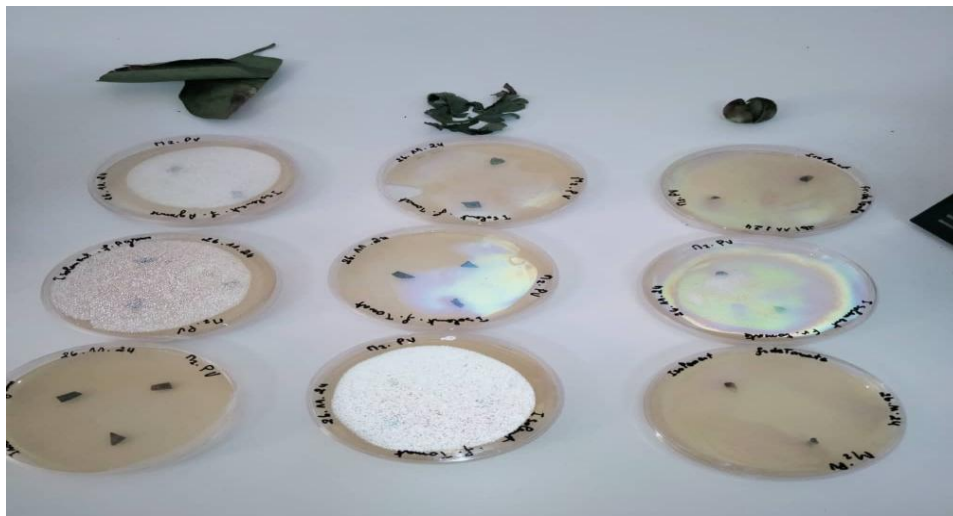
En conditions aseptiques, les feuilles sont découpées en petits fragments à l'aide d'un scalpel stérile (figure6). Les fragments sont ensuite désinfectés afin d'éliminer la microflore superficielle non spécifique, par trempage dans une solution d'eau javellisée stérile à 5 % pendant environ 3 minutes. Ils sont ensuite rincés deux fois dans de l'eau distillée stérile pendant 5 minutes. Après le rinçage, les fragments sont séchés sur du papier buvard stérile.

- **Mise en culture**

Les fragments désinfectés ont été déposés sur un milieu de culture nutritif PDA (Potato Dextrose Agar). Avant l'incubation, les boîtes de Pétri ont été soigneusement étiquetées et bien fermées. Dans le cadre de cette expérience, plusieurs isolements ont été réalisés afin d'augmenter les chances d'obtenir le champignon ciblé (Figure 7).



**Figure 4 :** préparation des échantillons du matériel végétale pour L'isolement (Originale, 2025)



**Figure 5 :** Isolement du champignon à partir de feuille des agrumes, des feuilles et des fruits de tomate (Originale, 2025)

### 1.4.2- Isolement de l'agent antagonisme à partir du sol :

L'isolement de *Trichoderma* à partir du sol, est réalisé selon la méthode de suspension dilution « Dilution plates » décrite par Davet et Rouxet (1997), sur le milieu gélosés PDA. Selon les étapes décrites ci-dessous

- **Prélèvement des échantillons de sol :**

Des échantillons de sol (prélevé à proximité des racines de plants de pomme de terre), ont été collectés de la région de Fornaka – Mostaganem. Ce type de sol constitue un habitat favorable à la présence de *Trichoderma*. Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'outils stériles afin d'éviter toute contamination.

- **Préparation de la suspension de sol :**

Une quantité de 10 g de sol de chaque échantillon a été mise en suspension dans 90 ml d'eau distillée stérile. Le mélange a été agité pendant 30 minutes afin d'homogénéiser la solution. Par la suite, une série de dilutions décimales ( $10^{-1}$  à  $10^{-3}$ ) a été réalisée (Leghlimi, 2013).

- **Ensemencement :**

Un volume de 1 ml de chaque dilution a été étalé à la surface de milieux gélosés, supplémentés d'un antibiotique afin d'inhiber la croissance bactérienne. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 25 °C pendant une durée de 7 jours (Leghlimi, 2013).

- **Purification**

La purification a concerné principalement les colonies dont les caractères cultureux sont différents. Il s'agit donc de prélever quelques spores ou une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et de l'ensemencer de manière aseptique dans des boîtes de Pétri contenant le PDA. Afin d'obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en un seul point au centre de la boîte (Almi, 2016).

### 1.4.3-Identification

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux et à la morphologie, mais aussi à des propriétés biochimiques qui nécessitent l'utilisation de milieux standard favorisant la croissance. Par conséquent, nous nous sommes basés pour l'identification des isolats sur leurs aspects macroscopiques et microscopiques

### 1.4.3.2- Identification macroscopique

L'examen macroscopique des isolats, permet de déterminer les caractères culturels tels que, la Croissance du champignon, le développement de ce dernier, le diamètre de la colonie, la texture, la couleur du thalle, la couleur du revers et l'odeur (Lecellier, 2013). La technique utilisée est simple, elle consiste à observer à l'œil nu les boîtes de pétri contenant les champignons purifiés.

### 1.4.3.3- Identification microscopique

Un fragment de culture est prélevé soigneusement à la marge du thalle à l'aide d'une anse stérile, et ensuite déposés entre lame et lamelle.

Plusieurs prélèvements en périphérie et au centre de la colonie sont parfois nécessaires. De même, il faut savoir répéter les montages afin de saisir le meilleur moment (culture ni trop jeune, ni trop âgée) pour observer la conidiogénèse (Almi, 2016).

L'identification microscopique d'un champignon prend en considération les caractères suivants :

- La forme du mycélium, la présence ou l'absence de cloisons, ainsi que la couleur et le mode de ramification.
- La forme et la taille des spores.
- La morphologie générale du champignon.

### 1.4.3.4-Conservation des isolats

Après avoir identifié les isolats, des cultures pures sont transférées dans des tubes à essais inclinés contenant le milieu P.D.A., leur conservation s'effectue à 4° C. Ainsi conditionnés ils peuvent être conservés jusqu'à 6 mois.

## 1.4.4-Etude des propriétés antagonistes de deux espèces de *Trichoderma* vis-à-vis de *Colletotrichum* sp.

Classiquement, dans les travaux consacrés à l'étude de microorganismes antagonistes aux agents, les auteurs passent d'abord par une étape préliminaire qui est une étude "*in vitro*" des potentialités antagonistes de ces microorganismes. Les germes ayant manifestés une activité antagoniste à l'égard du parasite sont testés "*in planta*" pour confirmer leur pouvoir antagoniste.

Nous avons donc essayé de suivre cette voie, ainsi, dans une première étape nous avons évalué " *in vitro* ", les potentialités antagonistes de 2 espèces de *Trichoderma* vis à vis de l'isolat de *Colletotrichum* sp. En seconde étape nous avons essayé de déterminer les potentialités de l'antagonisme des espèces étudiées " *in planta* ".

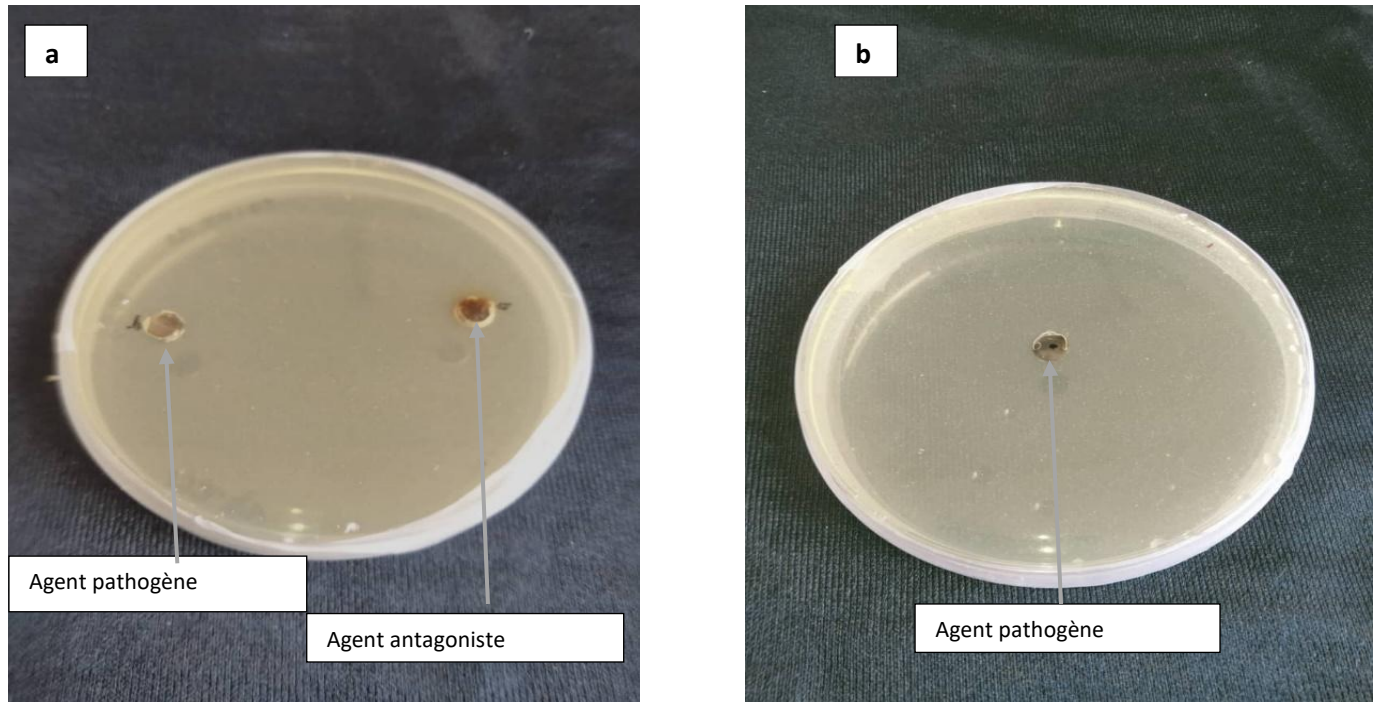
Cette activité a été étudiée selon deux méthodes

#### **1.4.4.1-Etude "in vitro" de l'activité antagoniste de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Colletotrichum* sp.**

On considère que l'antagonisme est le résultat de 4 mécanismes : compétition nutritive, mycoparasitisme, antibiose et effet des composées organiques volatiles (Lanuse et *al.*, 1983). La mesure de ce phénomène se fait par les deux (02) techniques suivantes :

##### **A-Confrontation directe**

Cette technique appelée aussi technique des cultures opposées, consiste à déposer dans des boîtes de Petri contenant environ 15 ml de milieu PDA, 4,5 cm l'un de l'autre, 2 explants de 6 mm de diamètre représentant le champignon parasite, et *Trichoderma*. L'un celui de l'agent pathogène (*colletotrichum* sp.) et l'autre l'isolat à tester (*Trichoderma* sp.) (Figure : 8a). Les boîtes témoins sontensemencés par un explant du champignon pathogène (Figure : 8b) (Patel et Brown, 1969 in Benhamou et Chet, 1996). 4 répétitions sont retenues pour chaque traitements. Les boîtesensemencées sont mises en incubation à l'obscurité à  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  jusqu'à ce que l'une des boîtes de l'essai est complétement recouverte par le mycélium. La croissance mycélienne est mesurée journalièrement



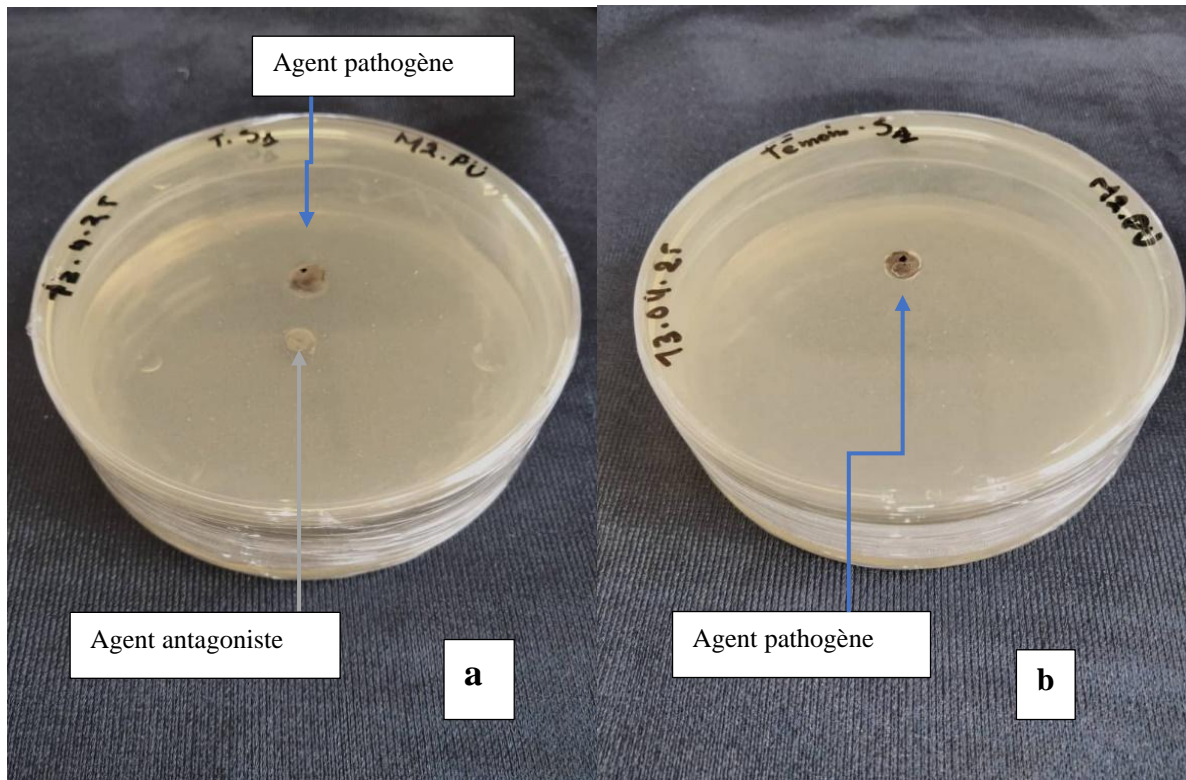
**Figure 6** : Test de confrontation directe (originale, 2025)

- a) Culture opposée sur la même boîte entre l'agent pathogène *Colletotrichum* sp et l'agent antagoniste *trichoderma* sp. Sur milieu PDA.
- b) Le témoin l'agent pathogène *Colletotrichum* sp. Sur milieu PDA.

### **B-Confrontation indirect (substances volatiles)**

Le principe de cette méthode repose sur la technique déjà utilisée par Camporta (1985). Il consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par la superposition de deux boîtes, *Trichoderma* sp. En bas et le pathogène (*Colletotrichum* sp.) en haut (Figure : 9a).

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de para film afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles. On expose ainsi l'isolat de *Colletotrichum* sp. À l'influence des substances volatiles émises par l'isolat de *Trichoderma* sp. Le témoin est formé par la superposition des deux boîtes, celle du haut contenant l'explant de *Colletotrichum* sp., alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA (Figure :9b). Les boîtes sont incubées à d'obscurité et à  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , jusqu'à ce que l'une des boîtes soit totalement recouverte par le mycélium. Quatre boîtes (04) sont retenues pour chaque traitement.



**Figure 7** : Test de confrontation indirecte (Originale, 2025)

- Cultures opposées sur deux boîtes différentes l'une contenant l'agent pathogène l'autre L'antagoniste *Trichoderma* sp. sur milieu PDA.
- Témoin sur deux boîtes opposées l'une contenant *Colletotrichum* sp. L'autre contenant uniquement le milieu PDA

- **Méthodes d'évaluation de la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp.**

Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique employée est celle décrite par Brewer (1960) et Leach (1962) in Saiah (2004), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante :

$$L = \frac{D - d}{2}$$

**L** : croissance mycélienne.

**D** : diamètre de colonie.

**d** : diamètre de l'explant

- **Méthodes d'évaluation de vitesse de la croissance mycélienne :**

Afin d'établir la vitesse de croissance en fonction du temps, des mesures journalières du diamètre de la colonie (Rappily, 1968), sont effectuées en appliquant la formule suivante :

$$V = \frac{(L2 - L1) + (L3 - L2) + (L4 - L3) + \dots (Ln - Ln - 1)}{n - 1}$$

V : vitesse de la croissance en (cm/j).

L : croissance mycélienne en (cm).

- **Méthodes d'évaluation du taux d'inhibition de la croissance mycélienne :**

L'évaluation de l'inhibition exercée par les deux souches de *Trichoderma* est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (Bellahcene, 1990) :

$$I(\%) = \left(1 - \frac{Vn}{V0}\right) \times 100$$

**I (%) :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

**Vn :** vitesse de croissance des colonies en présence de l'antagoniste (pour les deux souches de *Trichoderma* (cm/j).

**V0 :** la vitesse de croissance des colonies témoins (cm/j).

- **Méthodes d'évaluation de la sporulation**

La sporulation de *Colletotrichum* a été estimée après 7 jours d'incubation, Le comptage a été effectué à l'aide de la cellule de Malassez. Les valeurs sont exprimées en nombre de spores par unité de volume (ml) ; en utilise la même méthode d'évaluation de la sporulation pour les deux tests (directe et indirecte).

Le milieu de culture est raclé et mis dans un bécher contenant 10 ml d'eau distillée. La solution obtenue est ensuite mise sous l'agitation afin d'extraire les spores, puis filtrée à l'aide d'un tissu en mousseline dans un entonnoir menant à un bécher, pour éliminer les débris (fragments mycéliens) qui pourraient interférer avec l'observation.

De chaque suspension ainsi préparée, on prélève 3 échantillons de 100 µl qui sont examinés sous microscope au grossissement 40X. A l'aide d'une cellule de Malassez, on compte alors le nombre de conidies pour chaque échantillon (Yssaad et Medaouar, 2018).

- **Mesure de la taille des conidies**

Les mensurations microscopiques ont été effectuées à l'aide d'un micromètre préalablement étalonné. Les mesures ont porté sur des suspensions conidiennes issues d'une culture âgée de 10 jours, déposées entre lame et lamelle. La longueur et la largeur de 50 conidies ont été mesurées à l'aide d'un microscope optique au grossissement 40 X (Yssaad et Medaouar (2018)).

#### 1.4.4.2-Etude "*in planta*" de l'activité antagoniste de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Colletotrichum* sp.

Le test « in planta » a été effectuée sur la culture du poivron classé parmi la gamme d'hôte de l'agent pathogène *Colletotrichum* sp.

##### 1.4.4.2.1-Semis des graines

Le semis des graines de poivron a été effectué dans des plaques alvéolées remplies de tourbe désinfectée (Figure 10).



**Figure 8** : semis des graines de poivrons variété Florida (Originale, 2025)

- **Repiquage :**

La transplantation des plantules de poivrons a été réalisée lorsque les plants ont développé deux à trois vraies feuilles, soit 4 à 6 semaines après le semis. À ce stade, les plants sont suffisamment robustes pour être manipulés sans risque de les endommager, mais pas encore trop grands pour souffrir du repiquage (Tom le Jardinier, 2025).

Elle a été réalisée dans des pots de 18 cm de hauteur, de 20 cm de diamètre et d'une contenance de 5 kg. Le substrat utilisé est un mélange de 3/4 sol stérile + 1/4 de terreau. Trois (03) plantules sont repiquées dans chaque pot (Figure 11). Un arrosage quotidien a été réalisé durant toute la période de l'expérimentation.



**Figure 9 :** Repiquage des plantes de poivron dans les pots (Originale, 2025)

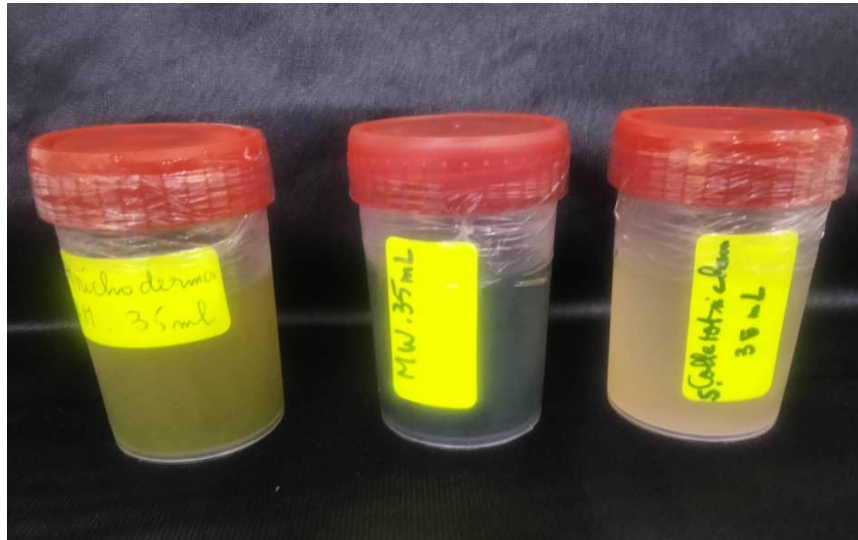
#### 1.4.4.2.2-Préparation de l'inoculum de *Colletotrichum* sp.

Les suspensions des inocula des isolats de *Trichoderma* spp. et *Colletotrichum* sp. sont préparées à partir de colonies âgées de 10 jours et cultivées sur le milieu P.D.A (figure :12), qui favorise la sporulation des champignons (Yang et al., 2015).



**Figure 10** : Présentation des colonies de même âge cultivées après 10 jours pour la préparation de l'inoculum (Originale, 2025)

Les explants sont prélevés et placés dans des tubes stériles contenant de l'eau distillée stérile. Les tubes sont hermétiquement fermés afin d'éviter toute contamination, puis soumis à une agitation par le vortex pendant plusieurs minutes pour maximiser la libération des conidies. Ensuite, le contenu a été filtré à travers de la mousseline stérilisée. Les concentrations en conidies a été déterminée à l'aide d'une cellule de Malassez et ajustée par dilution avec de l'eau distillée stérile afin d'obtenir une concentration de  $10^6$  conidies/ml pour *Colletotrichum* sp., et une concentration de  $10^8$  (Westerlund et al., 1974). Enfin, une goutte de Tween 20 (concentration finale à 0,01 %) est ajoutée à toutes les suspensions (figure :13) afin de permettre une bonne dispersion et l'adhésion des conidies au feuillage.



**Figure 11 :** Suspension conidiennes de *Colletotrichum* sp. et *Trichoderma* sp. ayant servi à l'inoculation des plantes (Originale, 2025)

#### 1.4.4.2.3-Conduite de l'essai

L'essai a été effectué sur des pots au niveau de la station expérimentale de l'université de Mostaganem selon un dispositif bi factoriel en randomisation totale, avec quatre répétitions et deux témoins, l'un non inoculé et l'autre inoculé uniquement avec le champignon parasite.

Le premier facteur étudié est le facteur traitement avec quatre modalités de facteur :

























- C+AM : Inoculation du pathogène (*Colletotrichum*) avec le traitement TM.
- C+MW : Inoculation du pathogène avec le traitement MW.
- T+ : Inoculation du pathogène seul, sans ajout d'antagonistes.
- T- : Témoin sans inoculation

Le deuxième facteur est le temps d'inoculation avec deux modalités de facteur :

- T/C : Les isolats de *Trichoderma* spp., sont appliqués 24 heures avant l'inoculation du pathogène.
- C/T : Le pathogène, *Colletotrichum* sp., est inoculé 24 heures avant l'application de *Trichoderma* spp. (Tableau :5)

Les pots inoculés et les pots témoins sont recouvertes d'un film plastique transparent pendant 48 heures, afin de maintenir une humidification fréquente des organes aériens des plantes et de faciliter la germination des spores.

Tableau 5 : Dispositif expérimentale

Traitements		Répétitions			
		R1	R2	R3	R4
C+AM	C/AM				
	AM/C				
C+MW	C/MW				
	MW/C				
C	T+				
T	T-				

#### 1.4.4.2.4. Paramètres étudiés :

Afin d'évaluer l'effet du traitement à base de *Trichoderma* sur des plants de poivron inoculés par *Colletotrichum* sp., agent pathogène responsable de l'antracnose, nous avons étudié deux paramètres principaux. Le premier concerne la quantification de la sévérité de la maladie sur les plants infectés en comparaison avec ceux traités par les *Trichoderma* spp., tandis que le second porte sur la mesure de la hauteur des plants inoculés comparativement à ceux non inoculés.

- **Calcul de l'indice de sévérité de la maladie**

L'évaluation de la sévérité de la maladie selon la méthode de Deressa et *al.*, (2015), repose sur l'observation d'un nombre fixe de feuilles par plant, à savoir cinq feuilles sélectionnées aléatoirement. Ces feuilles sont prélevées à différents niveaux du plant (bas, milieu et haut), car l'intensité de l'infection peut varier en fonction de l'âge des feuilles. Chaque feuille est ensuite notée en fonction de la surface foliaire atteinte par le pathogène, selon l'échelle suivante :

##### Classe % Surface atteinte

0	0 %
1	1–5 %
2	6–15 %
3	16–30 %
4	31–50 %
5	>50 %

Après avoir noté toutes les feuilles sélectionnées, les résultats obtenus sont appliqués à la formule suivante :

$$IM = \frac{\sum(ni \times i)}{N \times Z} \times 100 \quad \text{Où}$$

ni : nombre de feuilles dans chaque classe

i : numéro de la classe (0 à 5)

N : nombre total de feuilles observées

Z : classe maximale (ici 5)

- **Croissance en longueur**

A la fin de l'expérimentation, la hauteur totale de la tige est mesurée à l'aide d'un mètre ruban.

## II. Résultats et interprétation

### 2.1-Aspect macroscopique et microscopique des isolats

#### 2.1.1- Etude de l'aspect macroscopique et microscopique de *Colletotrichum* sp.

Les observations macroscopiques et microscopiques des cultures obtenues après l'isolement de l'agent pathogène à partir des feuilles des agrumes présentant les symptômes de maladie de l'antracnose suivi d'une purification montrent que ces isolats présentent des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques qui correspondent aux caractères morphologiques de genre *Colletotrichum* sp.

L'étude macroscopique des isolats purifiés a permis d'observer un pourtour du front de croissance régulier, le mycélium est blanc cotonneux avec présence de nombreuses taches noires, le revers est saumon clair (Figure :14).

L'étude microscopique montre que les conidies sont cylindriques, avec des contours d'extrémités arrondies ou tronquées. Les acervules portant les conidies sont bruns à noirs (Figure 15).

#### 2.1.2 Etude de l'aspect macroscopique et microscopique de *Trichoderma* spp.

Les observations macroscopiques et microscopiques des cultures obtenues après l'isolement de l'agent antagoniste à partir du sol de pomme de terre suivi d'une purification montrent que ces isolats présentent des caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques qui correspondent aux caractères morphologiques du genre *Trichoderma*.

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* sp. est observé à partir de cultures sur milieu PDA. Les colonies fongiques peuvent apparaître soit floconneuses, soit compactes en touffes colorées, avec parfois des formes intermédiaires. La coloration des colonies dépend de la pigmentation des phialides. Initialement, les conidies donnent naissance à un mycélium blanc disposé en cercle. Dès le deuxième jour d'incubation, une teinte verte se développe sur les parties aériennes du mycélium (Figure 16).

Au niveau microscopique (Figure 17), le mycélium se compose d'hyphes septés, ramifiés et à parois lisses. Les conidiophores, de forme conique ou pyramidale, sont également ramifiés et portent des phialides, qui ressemblent à des fioles ou à des quilles. Ces phialides produisent à leur tour des spores, appelées phialospores ou conidies

### 2.1.3. Taille des conidies de l'agent pathogène :

Les mesures des conidies par le micromètre (figure 18), sont représentées sur le tableau en annexe. Les valeurs de la longueur des conidies sont comprises entre 10.4  $\mu\text{m}$  -26  $\mu\text{m}$  avec une longueur moyenne de 15.22  $\mu\text{m}$ . Les valeurs de la largeur sont comprises entre 3.9  $\mu\text{m}$  -5.2  $\mu\text{m}$  avec une moyenne 4.89  $\mu\text{m}$ .

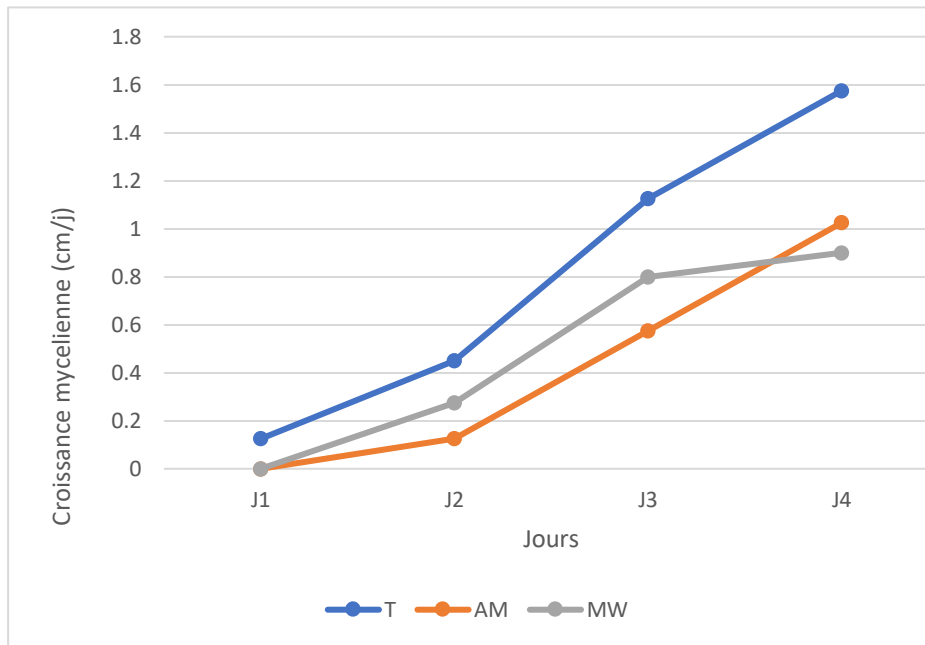
## 2.2- Etude "in vitro" des propriétés antagonistes de deux espèces de *Trichoderma* vis-à-vis de *Colletotrichum* sp.

### 2.2.1-Etude "in vitro" de l'activité antagoniste de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Colletotrichum* sp. en confrontation directe

#### 2.2.1.1-Croissance mycélienne

L'analyse de la courbe de croissance mycélienne (figure 19), montre que la croissance du témoin (*Colletotrichum* sp seul), dépasse largement la croissance de ce même champignon en confrontation directe avec les isolats de *Trichoderma* spp., avec une valeur atteignant 1,7 cm au 4<sup>-ème</sup> jour.

Comparativement au témoin, la croissance de *Colletotrichum* sp. Confronté à *Trichoderma* sp. Isolât AM n'a pas été influencée durant les deux premiers jours, cependant elle a progressé régulièrement mais lentement pour atteindre au 4<sup>-ème</sup> jour une croissance de 1,1 cm, Lors de la confrontation avec le deuxième isolât de *Trichoderma*, MW, une croissance intermédiaire est observée, se situant entre celle du témoin et celle du pathogène confronté à la souche AM. Au troisième jour, la progression de la souche MW est plus rapide que celle de la souche AM. Cependant, au quatrième jour, elle est dépassée par la souche AM, les deux atteignant des valeurs proches d'environ 1,1 cm.



**Figure 12** : de *Trichoderma* spp. sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp. en confrontation directe.

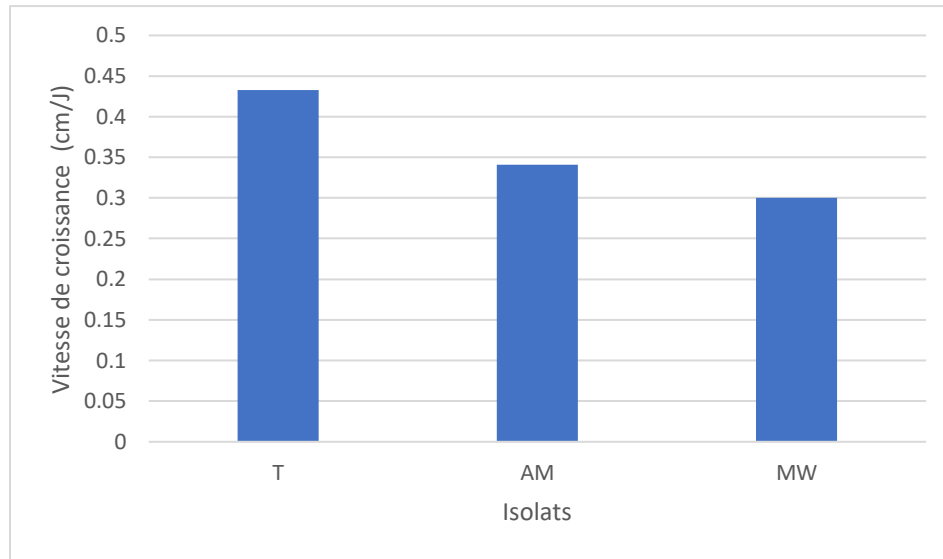
### 2.2.1.2-Vitesse de croissance

L'étude de la vitesse de croissance mycélienne des colonies de *Colletotrichum* sp. (Figure 20), a révélé une diminution significative en présence des isolats de *Trichoderma* spp., comparativement aux témoins.

La vitesse de croissance du pathogène seul (T) est la plus élevée, atteignant environ 0,43 cm/jour. Une croissance intermédiaire est observée lorsque *Colletotrichum* est confronté à l'isolat AM de *Trichoderma*, avec une vitesse d'environ 0,33 cm/jour, tandis que la croissance la plus faible est enregistrée avec la souche MW, soit environ 0,30 cm/jour.

Selon les résultats statistiques (figure), il apparaît que l'isolat MW de *Trichoderma* exerce une forte action inhibitrice sur la croissance mycélienne de l'agent pathogène.

Ces résultats confirment les résultats précédents concernant la croissance mycélienne, la vitesse de la croissance est augmentée avec l'augmentation de la croissance mycélienne et diminue avec celle-ci.

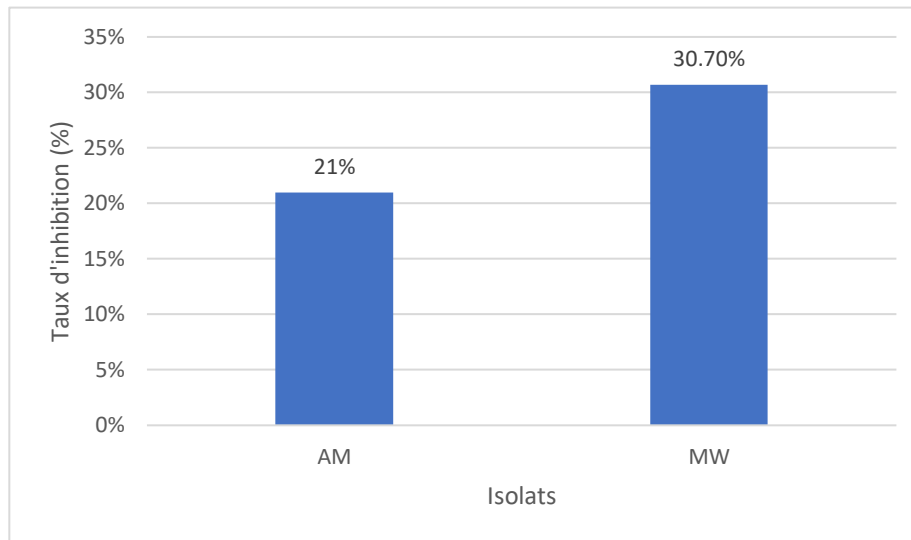


**Figure 13** : Effet de *Trichoderma* spp., sur la vitesse de croissance de *Colletotrichum* sp., en confrontation directe

### 2.2.1.3- Taux d'inhibition de la croissance mycélienne

D'après les résultats obtenus à partir des histogrammes (figure :21) représentant les taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp., par les deux isolats de *Trichoderma*, il apparaît que l'isolat MW présente un taux d'inhibition plus élevé, atteignant environ 30,7 %, contre 21 % pour l'isolat AM.

Ces résultats indiquent que l'isolat MW exerce une action inhibitrice plus marquée que l'isolat AM. Les deux taux sont statistiquement significatifs, avec des taux d'efficacité différents.



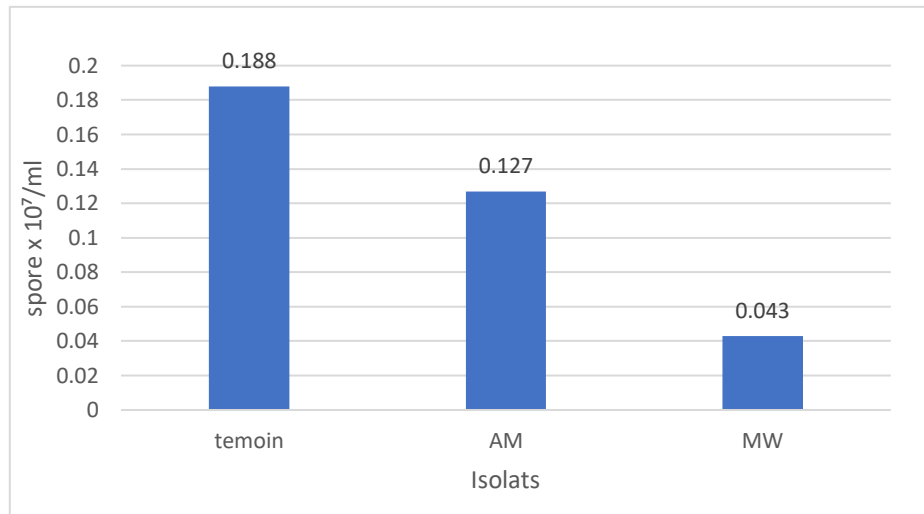
**Figure 14 :** Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp., sous l'effet de la confrontation directe avec les isolats de *Trichoderma* spp.

#### 2.2.1.4-Sporulation

D'après l'analyse de la Figure 22, on remarque que la sporulation des colonies de *Colletotrichum* sp., confrontées directement aux deux isolats de *Trichoderma*, est nettement inférieure à celle du témoin qui présente la sporulation la plus élevée, atteignant environ  $0,188 \times 10^7$  spores/ml.

En présence de l'isolat AM de *Trichoderma*, la sporulation est intermédiaire, avec une valeur d'environ  $0,127 \times 10^7$  spores/ml. Quant à l'isolat MW, elle entraîne une forte réduction de la sporulation, qui atteint environ  $0,043 \times 10^7$  spores/ml.

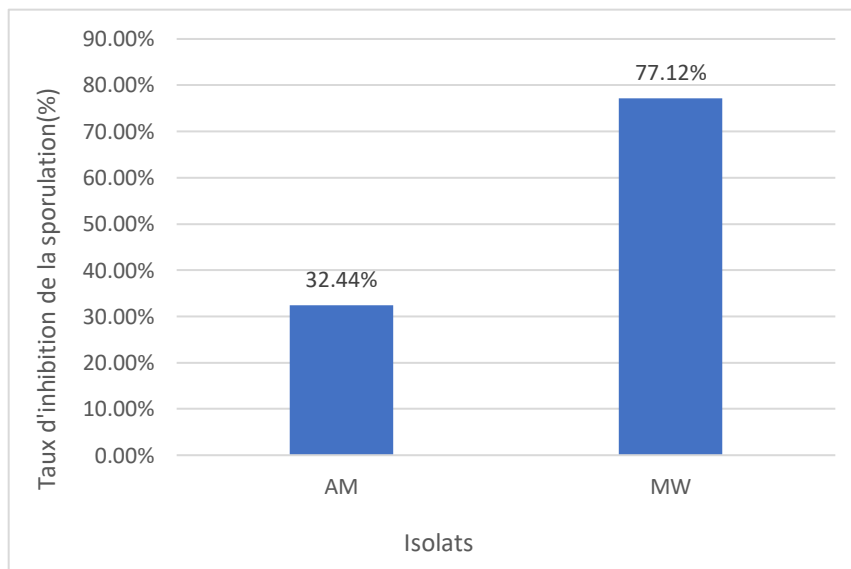
Ces résultats montrent que la sporulation du témoin est significativement plus élevée que celle observée en présence des deux isolats de *Trichoderma*, indiquant une inhibition notable de la sporulation par ces agents antagonistes.



**Figure 15 :** Effet de *Trichoderma* spp., sur la sporulation de *Colletotrichum* sp., en confrontation directe

#### 2.2.1.6-Taux d'inhibition de la sporulation

La Figure 23, illustre le taux d'inhibition de la sporulation de *Colletotrichum* sp. en présence des deux isolats de *Trichoderma*. On remarque que l'isolat MW présente un taux d'inhibition très élevé, atteignant environ 77 %, tandis que, l'isolat AM montre un taux plus faible, avoisinant 32,44 %. Ces résultats indiquent que l'isolat MW exerce une action inhibitrice beaucoup plus marquée que l'isolat AM lors d'une confrontation directe avec le pathogène.



**Figure 16 :** Taux d'inhibition de la sporulation de *Colletotrichum* sp., sous l'effet de la confrontation directe avec les isolats de *Trichoderma*

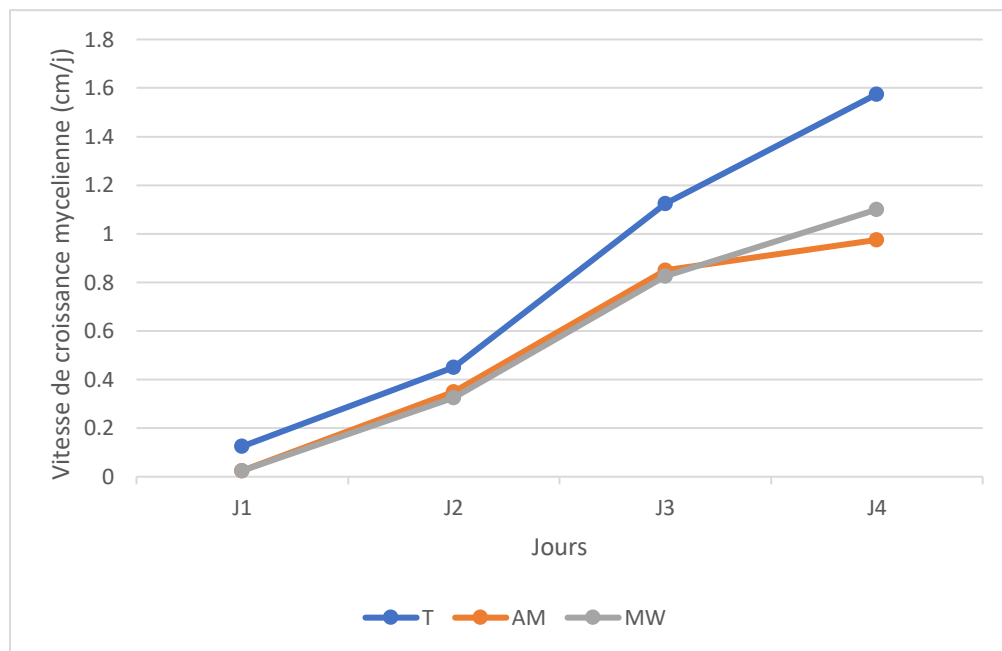
## 2.2.2-Etude "in vitro" de l'activité antagoniste de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Colletotrichum* sp., en confrontation indirecte

### 2.2.2.1- Croissance mycélienne

L'évaluation de l'effet des deux isolats de *Trichoderma* sur la croissance de *Colletotrichum* sp., est représenté sur la Figure 24. D'après l'analyse de cette courbe on remarque que la croissance mycélienne du témoin s'avère la plus rapide et la plus importante tout au long de la période d'observation, atteignant environ 1,6 cm au quatrième jour.

En présence des deux isolats de *Trichoderma*, la croissance de *Colletotrichum* démarre lentement et suit une dynamique similaire jusqu'au troisième jour. Au quatrième jour, la souche confrontée à *Trichoderma* MW montre une croissance légèrement plus importante que celle confrontée à l'isolat AM.

Les résultats obtenus indiquent que les deux souches de *Trichoderma* réduisent significativement la croissance mycélienne de *Colletotrichum* comparativement au témoin



**Figure 17** : Effet de *Trichoderma* spp., sur la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp., en confrontation indirecte

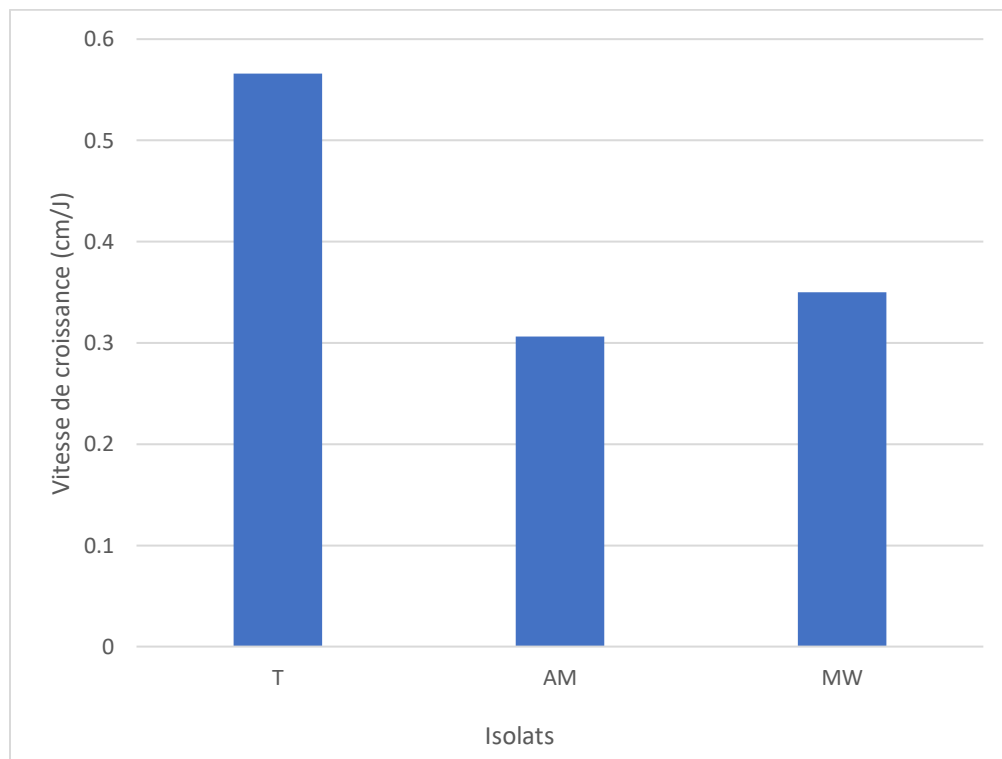
### 2.2.2.2- Vitesse de croissance mycélienne

L'étude de la vitesse de croissance mycélienne des colonies de *Colletotrichum* sp. en présence des deux isolats de *Trichoderma* révèle des différences significatives (figure 25).

En présence de la souche AM, la vitesse de croissance est la plus faible, atteignant environ 0,31 cm/jour. Avec l'isolat MW, une vitesse de croissance intermédiaire est observée, d'environ 0,35 cm/jour. En revanche, le témoin affiche la vitesse la plus élevée, atteignant environ 0,56 cm/jour.

Ces résultats montrent que les deux isolats de *Trichoderma* exercent un effet antagoniste sur *Colletotrichum* sp., avec une inhibition plus marquée pour la souche AM.

Ces observations confirment les résultats précédents, selon lesquels la croissance mycélienne de *Colletotrichum* est significativement réduite en présence de *Trichoderma*, et que l'augmentation de l'activité antagoniste est corrélée à une diminution de la vitesse de croissance du pathogène.

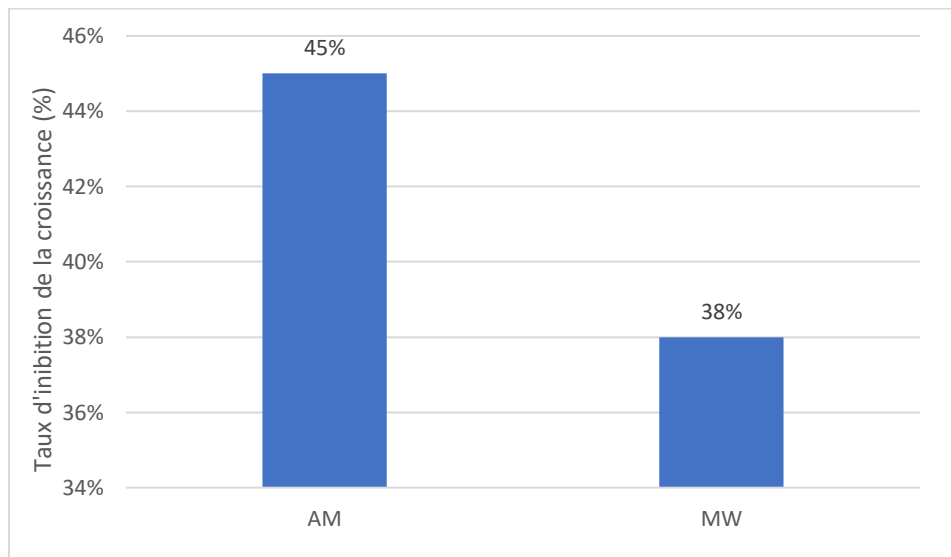


**Figure 18** : Effet de *Trichoderma* spp., sur la vitesse de croissance de *Colletotrichum* sp., en confrontation indirecte

### 2.2.2.3- Taux d'inhibition de croissance mycélienne

Selon l'analyse du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp., par les deux isolats de *Trichoderma*, il a été observé que la souche AM présente le taux d'inhibition le plus élevé, atteignant environ 45 %, ce qui reflète une forte action antagoniste (figure 26).

En comparaison, la souche MW affiche un taux d'inhibition d'environ 38 %. Bien que ce résultat reste statistiquement significatif, il révèle une efficacité légèrement inférieure à celle de la souche AM.



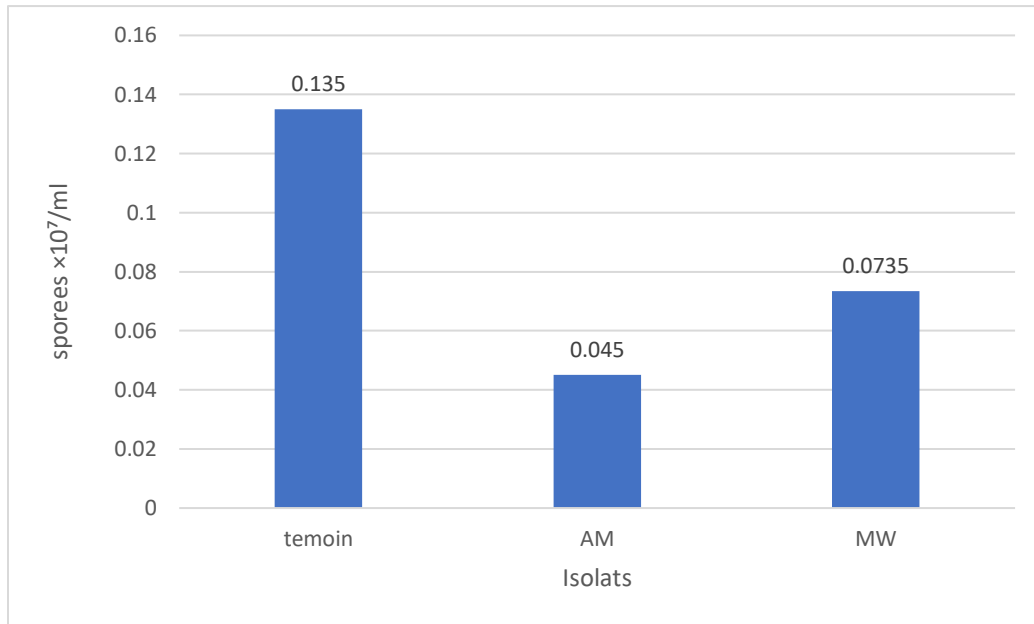
**Figure 19** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Colletotrichum* sp., sous l'effet de la confrontation indirecte avec les isolats de *Trichoderma* spp.

### 2.2.2.4- sporulation

D'après les résultats obtenus et représenté sur la Figure 27, on remarque que l'agent pathogène présente une sporulation plus faible en présence de l'isolat AM de *Trichoderma*, avec une concentration d'environ  $0,045 \times 10^7$  spores/ml.

L'isolat MW de *Trichoderma* entraîne une sporulation intermédiaire, avoisinant  $0,0735 \times 10^7$  spores/ml. En revanche, le témoin affiche une sporulation nettement plus élevée, atteignant environ  $0,135 \times 10^7$  spores/ml.

Ces résultats montrent que la sporulation dans le témoin est significativement supérieure à celle observée en présence des deux isolats de *Trichoderma*, ce qui confirme leur effet inhibiteur sur la reproduction du pathogène

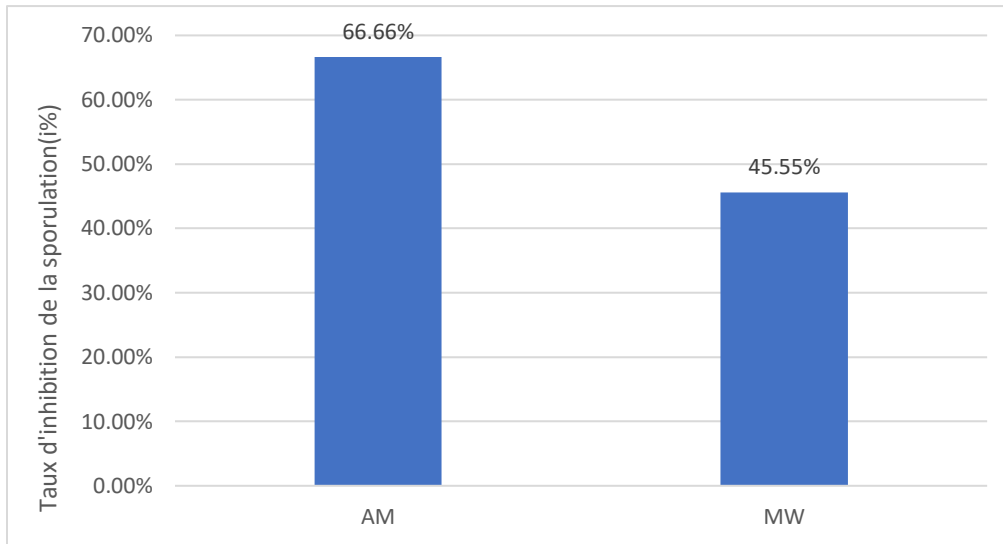


**Figure 20** : Taux d'inhibition de la sporulation de *Colletotrichum* sp., sous l'effet de la confrontation indirecte avec les isolats de *Trichoderma* spp.

#### 2.2.2.5- Taux d'inhibition de sporulation indirect

Selon l'analyse des résultats issus de l'histogramme (figure 28) représentant le taux d'inhibition de la sporulation du pathogène en confrontation indirecte avec les deux isolats de *Trichoderma*, il ressort que l'isolat AM présente le taux d'inhibition le plus élevé, atteignant environ 66,66 %, contre 45,55 % pour l'isolat MW.

Ces résultats indiquent que l'isolat AM possède un potentiel de biocontrôle plus important, avec une action inhibitrice plus marquée sur la sporulation du pathogène comparée à l'isolat MW.



**Figure 21** : Taux d'inhibition de la sporulation de *Colletotrichum* sp., sous l'effet de la confrontation indirecte avec les isolats de *Trichoderma* spp.

### 2.3- Etude "in planta" de l'activité antagoniste de *Trichoderma* sp. vis-à-vis de *Colletotrichum* sp.

#### 2.3.1-Indice de sévérité de la maladie

La Figure 29 , représente les indices de sévérité de la maladie chez les plantes traitées par les différents traitements à savoir : l'inoculation par *Colletotrichum* sp., l'inoculation par *Trichoderma* (isolats AM et MW) selon deux approches différentes :

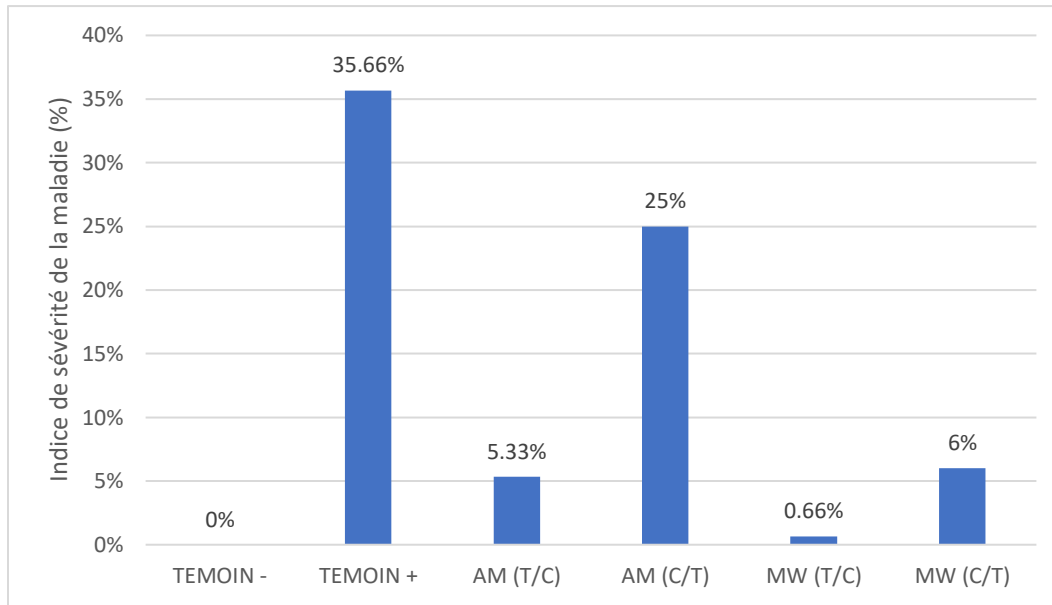
- Traitement préventif : application de *Trichoderma* 24 heures avant l'inoculation du pathogène,
- Traitement curatif : application de *Trichoderma* 24 heures après l'inoculation du pathogène.

Les résultats montrent que le témoin (plante inoculée uniquement avec *Colletotrichum* sp.) présente une sévérité élevée, atteignant environ 35,66 %.

Le traitement avec l'isolat MW de *Trichoderma* a donné les meilleurs résultats, avec un indice de sévérité réduit à 6 % en traitement curatif, et seulement 0,66 % en traitement préventif.

En comparaison, l'isolat AM s'est révélé moins efficace car, l'indice de sévérité est d'environ 5,33 % en traitement préventif, mais remonte à 25 % en traitement curatif.

Ces résultats montrent clairement que les deux isolats de *Trichoderma* sont plus efficaces lorsqu'ils sont utilisés en traitement préventif. En revanche, leur efficacité diminue notablement en application curative.



**Figure 22** : Indices de sévérité chez les plants de poivron inoculé par *Colletotrichum* sp. et traités avec *Trichoderma* spp.

### 2.3.2-Longueur de partie aérienne

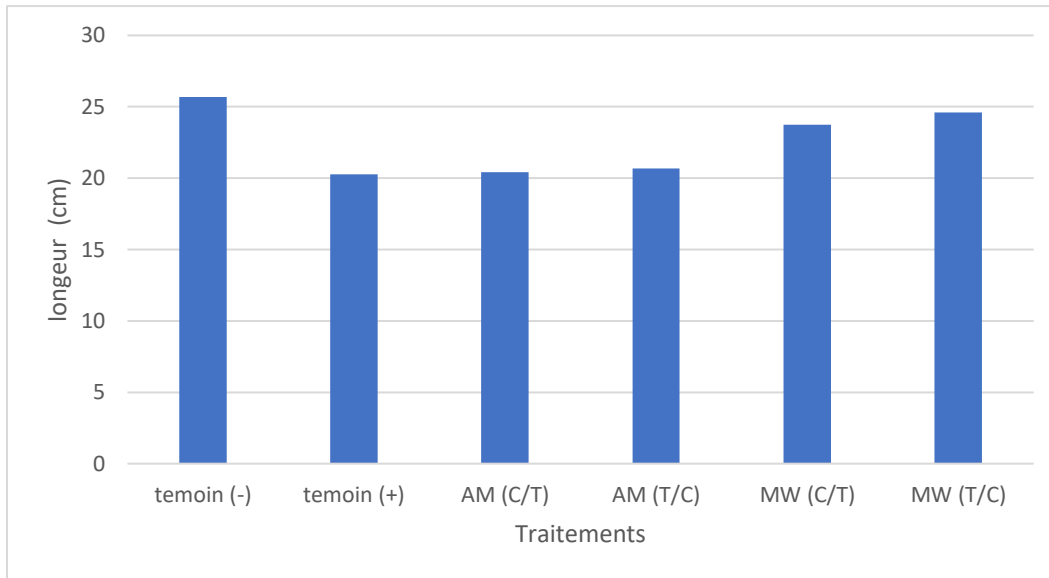
Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 30, représentant la longueur de la partie aérienne des plants de poivron soumis aux traitements (avec *Trichoderma* AM et *Trichoderma* MW), appliqués selon deux modalités (préventive et curative), plusieurs remarques se dégagent.

Les plantes saines (témoin -) ont enregistré la plus grande longueur, atteignant environ 25,66 cm. En revanche, les plantes inoculées uniquement avec l'agent pathogène (témoin +) présentent la longueur la plus faible, avec une moyenne d'environ 20,25 cm, ce qui reflète l'effet négatif de l'infection sur la croissance.

Les plantes traitées avec *Trichoderma* montrent une amélioration de la croissance par rapport au témoin positif, avec une performance plus marquée pour l'isolat MW, qui induit une longueur plus importante que l'isolat AM.

Par ailleurs, le traitement préventif s'est révélé plus efficace que le traitement curatif, permettant aux plants de maintenir une bonne croissance et de conserver leur potentiel de développement.

Donc, ces résultats montrent que le traitement préventif avec *Trichoderma*, notamment l'isolat MW, favorise davantage la croissance de la partie aérienne des plants de poivron, comparativement au traitement curatif.



**Figure 23** : Longueurs moyennes des plantules inoculées par *Colletotrichum* sp. et traités par *Trichoderma* sp.

### III. Discussion

La lutte biologique est en effet considérée comme le moyen de lutte alternative à la lutte chimique le plus efficace et économique contre les maladies des plantes. Cette étude consiste en une approche de contrôle biologique de *Colletotrichum*, l'agent responsable de l'antracnose, en utilisant un agent antagoniste d'un genre largement utilisé dans la lutte biologique (*Trichoderma*).

D'après les résultats nous avons noté que les *Trichoderma* peuvent effectivement inhiber le développement de *Colletotrichum*, précisément l'isolat AM ayant démontré une action inhibitrice à distance plus que l'isolat MW qui a quant à lui dévoilé un fort potentiel de biocontrôle en confrontation directe.

De nombreux auteurs Davet (1983) ; Meslouhy (1989) ; Schuster et Schmoll, (2010), ont démontré que cette action inhibitrice est due à des composés de nature chimiques libérés par les souches de *Trichoderma*, jouant un rôle important dans l'activité antagoniste des espèces. Ceux-ci incluent ; des antibiotiques, des mycotoxines et des composés secondaires de faible poids moléculaire (Schuster et Schmoll, 2010).

Nous avons également constaté que, en plus de l'antibiose, *Trichoderma* s'est développé bien plus rapidement que *Colletotrichum* sp en colonisant le milieu de culture et en capturant les éléments nutritifs. Ce phénomène, que nous appelons la compétition, est à l'origine de cette différence de croissance. Cette dernière a été étudiée principalement dans le contexte de la résistance des sols aux maladies, où la compétition pour les nutriments joue un rôle dans les processus complexes qui conduisent à une limitation naturelle de l'activité nocive de certains champignons phytopathogènes (Alabouvette et al., 1983 ; Dubos, 1985 ; Davet, 1996 ; Benitez et al., 2004).

Dans notre étude que ce soit la confrontation directe ou la confrontation indirecte, l'isolat MW de *Trichoderma* s'est avérée être le plus efficace dans la réduction de la croissance mycélienne par rapport à l'isolat AM.

Ces résultats indiquent également que l'isolat AM possède un potentiel de biocontrôle plus élevé en termes d'inhibition de la sporulation du pathogène, aussi bien en confrontation directe qu'indirecte, comparativement à l'isolat MW.

Les résultats du test de l'évaluation des propriétés antagonistes des isolats de *Trichoderma* spp. « in planta » vis-à-vis de *Colletotrichum* so., indiquent que la rapidité d'action et la capacité de colonisation de l'isolat MW sont supérieures, ce qui lui permet d'agir même en conditions post-

infection, bien que l'effet reste atténué par rapport à la prévention. Nous avons également remarqué que le traitement préventif est la stratégie la plus efficace, quelle que soit l'espèce de *Trichoderma* utilisée.

L'isolat MW se distingue par son efficacité élevée, surtout en traitement préventif, ce qui en fait un excellent candidat pour une stratégie de biocontrôle préventive contre *Colletotrichum*.

L'isolat AM montre une efficacité plus modeste, particulièrement en traitement curatif, suggérant un mécanisme d'action moins rapide ou une moindre capacité d'adaptation au stress pathogène déjà installé.

D'autre part, il était évident que le traitement préventif avec *Trichoderma*, notamment l'isolat MW, a favorisé davantage la croissance de la partie aérienne des plants de poivron, comparativement au traitement curatif.

## Conclusion

Ce travail a porté sur l'évaluation des propriétés antagonistes de deux isolats de *Trichoderma* spp. vis à vis de *Colletotrichum* sp., isolé à partir des feuilles de bigaradier par l'utilisation de deux méthodes de confrontation directe sur le même milieu de culture et, à distance, par l'action de substances volatiles. Nous avons également testé cet éventuel effet antagoniste sur des plants de poivron inoculés par l'agent pathogène *Colletotrichum* sp.

Au terme cette étude nous pouvons formuler un certain nombre de conclusions :

La taille moyenne des conidies du *Colletotrichum* sp., isolé est de 15.22  $\mu\text{m}$  de longueur et 4.89  $\mu\text{m}$  de largeur.

Les isolats de *Trichoderma* testés ont montré un véritable effet antagoniste « in vitro » vis-à-vis de *Colletotrichum* sp. agent de l'antracnose sur agrumes.

L'isolat de *Trichoderma* MW a démontré un fort pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne en confrontation directe, alors que l'isolat AM, a dévoilé un fort potentiel d'action à distance.

D'autre part, c'est l'isolat AM qui possède une capacité plus élevée à inhiber la sporulation du pathogène, aussi bien en confrontation directe qu'en confrontation indirecte, comparativement à l'isolat MW.

Pour le test in planta sur plantules de poivron nous avons remarqué que l'isolat *Trichoderma* MW a donné le meilleur effet protecteur aux plantes vis-à-vis de *Colletotrichum* sp., surtout en traitement préventif.

L'isolat AM montre une efficacité moins importante, particulièrement en traitement curatif.

Le traitement préventif est la stratégie la plus efficace, quelle que soit l'espèce de *Trichoderma* utilisée.

A la lumière de l'ensemble des résultats obtenus, nous pouvons affirmer que les isolats de *Trichoderma* testés ont démontré un véritable potentiel antifongique vis-à-vis de *Colletotrichum* sp., que ce soit en confrontation directe ou indirecte. Leur capacité à inhiber la croissance mycélienne et la sporulation du pathogène, ainsi que leur effet positif sur la croissance des plantes hôtes, confirme leur intérêt en tant qu'agents de lutte biologique efficaces.

Parmi les isolats évalués, l'isolat MW s'est distingué par son efficacité globale, en particulier dans le cadre de traitements préventifs, tandis que l'isolat AM a montré une meilleure

inhibition de la sporulation. Ces résultats suggèrent que les deux isolats pourraient être complémentaires dans une stratégie de biocontrôle combinée.

L'utilisation de *Trichoderma* en agriculture constitue une alternative prometteuse aux fongicides chimiques, répondant aux exigences actuelles d'une agriculture durable, sûre pour la santé humaine et respectueuse de l'environnement.

En perspective et afin de valoriser pleinement le potentiel des isolats de *Trichoderma*, plusieurs axes de recherche peuvent être envisagés :

- Caractérisation biochimique des composés antifongiques produits par chaque isolat afin de mieux comprendre leurs modes d'action.
- Évaluer l'efficacité des isolats en serre et en plein champ sur différentes cultures sensibles à *Colletotrichum*.
- Mettre au point des formulations commerciales stables à base de ces isolats, et en étudier la conservation et l'application.
- Évaluer les effets combinés des isolats AM et MW pour déterminer d'éventuelles interactions synergiques.

Ces perspectives ouvrent des voies prometteuses pour l'optimisation des stratégies de biocontrôle et l'intégration de *Trichoderma* dans des systèmes agricoles plus durables et performants.

# **Référence bibliographique**

- A.C.T.A., 2008 - Guide pratique de défense des cultures, Association de Coordination Technique Agricole, A. C.T.A., paris, 867 P.
- Abdiche k., hireddine I. (2016). Etude d'antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* sp. vis-à-vis des ravageurs des plantes *Fusarium oxysporum* et *Alternaria alternata*. Mémoire master : Microbiologie, option : Biotechnologie des Mycètes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. 62p.
- Agusti.M; Zaragoza.S ; Bleiholder.H ; Buhr.L ;Hack.H ;Klose.R et satauss. R (1995) - Echelle BBCH des stades phénologiques des agrumes.
- Ajay K. (2014) *Colletotrichum gloeosporioides* : biology, pathogenicity and management in India Journal of Plant Physiology & Pathology India
- Alabouvette C., Couteaudier Y. et Louvet J., 1983 : Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes. XXIV colloque de la société française de phytopathologie, pp7-16.
- Almi, H. 2016. Etude des myco-pathogènes de *Lens culinaris* et évaluation de l'effet de deux souches de *Trichoderma harzianum*.
- Angibaud. (2021, mars). Solutions et programme – Arboriculture fruitière : Agrumes [Graphique]. Angibaud. Repéré à <https://www.angibaud.fr/cultures/arboriculture-fruitiere/agrumes/> consulté 05/06/2025
- Anonyme 2025 (<https://images.app.goo.gl/U3MTymKWTTXwpgpF6> )
- Arauz, L. F. (2000). Mango anthracnose : Economic impact and current options for integrated management. *Plant Disease*, 84(6), 600–611.
- Baroncelli, R., Talhinas, P., Pensec, F., Sukno, S. A., Le Floch, G., & Thon, M. R. (2017). The *Colletotrichum acutatum* species complex as a model system to study evolution and host specialization in plant pathogens. *Frontiers in microbiology*, 8, 2001.
- Barrett H., Rhodes A. (1976), A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated Citrus and its close relatives. *Systematic Botany*, pp. 105-136.

- Belkhiri, A. E., & Seffi, F. (2016). Étude bio-écologique du complexe parasitaire des pucerons du poivron sous serre dans la région de Mostaganem (Mémoire de Master en Agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis - Mostaganem, Algérie).
- Bellahcene M. (1990). Antagonisme de dix souches de *Trichoderma harzianum* vis-à-vis de trois formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (*albbedinis*, *lini* et *lycopersici*). Thèse de magistère.
- Benbrook C.M., Groth E., Halloran J.M., Hansen M.K. and Marquardt S. (1996). Pest management at the crossroads, Consumers Union, Yonkers. 272 p.
- Bencheikh, M. (2012). Mycologie générale et appliquée. Éditions Office des Publications Universitaires, Alger.
- Benhamou N. et Chet I. (1996). Parasitism of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* : ultrastructure and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405-416.
- Benítez T., Rincón A. M., Limón M. C. et Codón A. C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Intl. Microbiol.* 7 : 249-260.
- Bissett, J. (2004). Commentaires de l'adresse internet suivante : [http://www.Medicalglossary.org/fungi\\_mitosporic\\_fungi\\_definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html).
- Campora P., 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma* sp. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*
- Cannon PF, Damm U, Johnston PR, Weir BS (2012) *Colletotrichum* current status and future direction. *Stud Mycol* 73 :181-213
- Cannon, PF, Damm, U., Johnston, PR, and Weir, BS (2012). *Colletotrichum* -current status and future direction. *Stud. Mycol.* 73, 181-213. doi: 10.3114 /sim0014
- Caron J. (2002). Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma*. *Phytopathologiste Hhorthi-Protection inc.* Conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-rémi, p. 1.
- Cook R.J. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 31 :53-80.
- Croquist A. (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Angiosperms - Classification. Ed: New York: Columbia University Press
- Damm, U., Cannon, P. F., Woudenberg, J. H. C., & Crous, P. W. (2012). The *Colletotrichum truncatum* species complex. *Studies in Mycology*, 73, 37–113.
- Davet P., & Rouxel F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. *Quae*.

- Davet P. (1983a). Les *Trichoderma*. Exemple de champignons antagoniste pathogènes. Faune et flore grise auxiliaire en agriculture. Ed. ACTA pp193-204.
- Davis RD., Irwin JAG., Cameron DF., Shepherd RK. (1987). Études épidémiologiques sur les maladies à anthracnose des Stylosanthes causées par *C. gloeosporioides* dans le Queensland du Nord et spécialisation pathogène dans les populations fongiques naturelles. Australian Journal Agriculture,
- De Silva DD, Crous PW, Ades PK, Hyde KD, Tylor PWJ (2017) Life styles of Colletotrichum species and implications for plant biosecurity. Fungal Biol Rev 31 :155-168
- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spanu PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellis J et al (2012) The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Mol Plant Pathol 13 :414-430
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond- Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dicman, M., Kahmann, R. and Ellis, J. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular Plant Pathology, 13 : 414- 430.
- Debbi A. (2019). Etude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* agent du flétrissement de la tomate et recherche de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp. À l'égard de l'agent pathogène. Thèse de doctorat : Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El- Harrach 113p.
- Dendouga, W. (2017, 02 12). Impact des facteurs écologiques sur les moisissures antagonistes et productrices des enzymes hydrolytiques2017. Sétif, MICROBIOLOGIE, Algerie.
- Dentika, P. (2021). Diffusion de Colletotrichum gloeosporioides dans l'environnement agricole : origine, dynamique d'installation et rôle des hôtes alternatifs [Thèse de doctorat, Université des Antilles]. HAL. <https://theses.hal.science/tel-05005501>.
- Dubos B., Roudet J., Bulit J. et Bugaret Y., 1983. L'utilisation du laichodeama hangianum dans la pratique viticole, pour lutter contre la pourriture grise (Botrytis cinerea). Les antagonismes microbiens, 24eme colloque SFP, Bordeaux 26-28 Mai 1983, Ed. INRA (Les colloques de l'INRA NO. -1-8 : 289-296.
- Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale. Ed. INRA, 383p.
- Earth Microbial <https://images.app.goo.gl/HrTqGepjgaRjVJ917> consulté le 30/05/2025.

- EL OTMANI M. (2005). Les Agrumes, le maraichage, et le froid hivernal. Agadir, Maroc, n°127, 4 p. Epiphyties, INRA, Paris, 19 ; 102 p.
- Espasito E., da Silva M. (1998). Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical reviews in microbiology*, 24(2), 89-98.
- Esclapon D.R., (1975) : Les agrumes. Ed. La Somivac, Crose, n°68, 12P.
- Fernandes, B. (2005). Lutte biologique. *PHM% Revue horticole*, 465, pp.31. Formes spéciales de *Fusarium oxysporum* (*albendinis*, *lini* et *lycopersici*). Thèse de magistère.
- Freeman, S., Katan, T., & Shabi, E. (1998). Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Phytopathology*, 88(3), 282–288.
- Gams, W., & Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. In : Kubicek, C.P. & Harman, G.E. (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium, Volume 1 : Basic Biology, Taxonomy and Genetics*. Taylor & Francis, London, pp. 3–34.
- Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* : a case study on South-East Asian isolates. *Fungal genetics and biology*, 38(3), 310-319.
- Ghelamallah, A. (2009). Introduction aux systèmes d'information. Éditions Universitaires d'Alger.
- Hajer Khefifi (2015) Etude physiologiques et génétiques de caractère morpho-physico-chimiques des fruits d'agrumes au cours de la maturation jusqu'à l'abscission, these pour obtenir le grade de docteur. 252 p
- Harman G-E., Howell, C-R., Viterbo, A., Chet I., Lorito M. (2004). *Trichoderma*
- Prusky, D. et Plumbley, R.A. (1992). Quiescent Infections of *Colletotrichum* in Tropical and Subtropical Fruits In Bailey, J.A., and Jeger, M.J., (eds.), *Colletotrichum : Biology, Pathology and Control*. Wallingford : CAB. International. species- opportunistic, Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F., Lafon, R. (1991). Les maladies des plantes
- Hiremath SV, Hiremath PC, Hegde RK (1993) Studies on cultural characters of *Colletotrichum gloeosporioides* a causal agent of Shisham blight. *Karnataka J Agric Sc* 6 : 30-32.
- Hjeljord L., Tronsmo A. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control : an overview. In *Trichoderma and Microbiol. Hyg. Alim.* -Vol 20, N° 57 – Mars 2008 15

Glicoladium. Enzymes, biological control and commercial applications, pp. 131-151. Taylor and Francis Ltd, London, UK,

- Hyde, K., Cai, L., McKenzie, E., Yang, Y., Zhang, J. and Prihastuti, H. (2009). Colletotrichum : à catalogue of confusion. Fungal Diversity, 39 : 1.
- I.T.A.F.V. (2014). Création d'un verger d'agrumes, Tome III, guide technique Document élaboré par les services techniques de l'I.T.A.F.V., Ed. DFRV., Pp 30-44.
- ITCM., 2010. Fiches techniques valorisées des maraîchères et industrielles.
- Image non signée. (S.d.). Image de cultures de Trichoderma sur boîte de Pétri. Google Images. <https://images.app.goo.gl/U3MTymKWTTXwpgpF6> consulté 10 Juin 2025.
- Jacobsen B. J. (2006). Biological control of plant diseases by phyllosphere applied biological control agents. *In* : Microbial ecology of aerial plant surfaces. Bailey M. J., Lilley A. K., Timms Wilson T. M., Spencer-Phillips P. T. N., eds. *Athenaeum press*, Gateshead, UK, p. 133-147.
- Jogaiah S., Abdelrahman M., Phantran LS., Ito SI (2018). Different mechanisms of Trichoderma virens-mediated resistance in tomato against *Fusarium* wilt involve the jasmonic and salicylic acid pathways. *Molecular plant pathology*, 19(4), 870p–882p.(mycoparasitisme)
- Jones J. J., Zitter T. A., Momol T. M. & Miller S. A. (Eds) (2014). Anthracnose. Dans *Compendium of Tomato Diseases and Pests*. 2e éd. APS Press. The American Phytopathological Society Press, St-Paul, Minnesota. p. 16-17.
- Kulling-Gradinger C.M., Szakacs G. Kubicek C.P.(2002). Phylogenetic and evolution of the genus Trichoderma : à multigene approach. *Mycological Research* 155 : 1-9.
- Kulshrestha, S., & Sharma, M. (2021). Colletotrichum gloeosporioides : An anthracnose causing pathogen of fruits and vegetables. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 18(1), 1–13. <https://doi.org/10.13005/bbra/1776>
- Lecellier A. (2013). Détection, caractérisation et identification des moisissures par spectroscopie vibrationnelle infrarouge et Raman. Thèse de doctorat d'état, Reims.
- Leghlimi H. (2013). Cellulases de souches fongiques issues du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes. Thèse de doctorat d'état, Reims.

- Lenné, J.M., Parbery D.G. (1976). Phyllosphere antagonists and appressorium formation in *Colletotrichum gloeosporioides*. Transaction of the British Mycological society, 66,334-336
- Lepoivre, P. (2003). Phytopathologie : bases moléculaires et biologiques des patho-systèmes et fondements des stratégies de lutte. Bruxelles, BE : Ed. De Boeck Université.
- Loussert. (1987). Les agrumes. Arboriculture. Ed. Lavoisier, Paris, vol n°1,113p.
- Luro F., Gatto J., Costantino G., et al. (2011), Analysis of genetic diversity in Citrus. plant Genetic Resources, 9, 02, pp. 218-221.
- Lanusse M., Lung-escarmant B., Dubot B. et Taris B., 1983. Etude « *in vitro* » des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea*. XXIV colloque de la société française de phytopathologie, pp179-192
- Mahadevakumar, S., Bhatt, J. C., Krishna, K. R., & Prakash, H. S. (2016). *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose on papaya (*Carica papaya* L.). Archives of Phytopathology and Plant Protection, 49(1–2), 101–110.
- Manikandan R., Saravanakumar D., Rajendran L., Raguchander T. and Samiyappan R. (2010). Standardization of liquid formulation of *Pseudomonas fluorescens* PF1 for its efficacy against *Fusarium wilt* of tomato .Biological Control,4, pp83-89.
- Mariano, P. (2023, 20 septembre). Un fungo “spray” difende le piante dai cambiamenti climatici. La Stampa.  
[https://www.lastampa.it/tuttoscienze/2023/09/20/news/un\\_fungo\\_spray\\_difende\\_le\\_piante\\_dai\\_cambiamenti\\_climatici-13977844](https://www.lastampa.it/tuttoscienze/2023/09/20/news/un_fungo_spray_difende_le_piante_dai_cambiamenti_climatici-13977844) consulté le 18 /04/2025
- Maslouhy M. A. N., (1989). Contribution à l'étude *in vitro* et *in situ* des antagonistes de *Fusarium oxysporum* f.sp.albedinis, agent causal du bayoud. Thèse doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté des sciences, Marrakech, 98 p.
- Munch S., Lingner U., Floss DS., Ludwig N., Sauer N., Deising HB. (2008). Le mode de vie hémibiotrophique de *Colletotrichum*. Journal of Plant Physiology ,165 : 41-5
- Munoz F. M., Demmler G. J., Travis W. R., Ogden A. K., Rossmann S. M. et Rinaldi M.G., 1997. *Trichoderma longibrachiatum* infection in a pediatric patient with aplastic anemia. J. Clin. Microbiol., 1997, 35 (2) : 499-503.
- Nait Messaoud, T., & Ouabba, Z. (2018). Effet de la température sur la croissance et la sporulation de *Colletotrichum* sp. Agent de l'antracnose des agrumes et spécialisation

parasitaire de l'agent pathogène dans la région de Mostaganem (Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem).

- Nicolosi E., Deng Z., Gentile A., et al. (2000), Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 100, 8, pp. 1155-1166.
- O'Connell RJ, Thon MR, Hacquard S et al (2012) Lifestyle transitions in plant pathogenic *Colletotrichum* fungi deciphered by genome and transcriptome analyses. *Nat Genet* 44 :1060-1065
- Ollitrault P., Jacquemond C., Dubois C., et al (2003), Botany and genetic resources. *Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants*, pp. 193.
- Pastor-Corrales, M. A., & Tu, J. C. (1989). Anthracnose. In : Schwartz, H. F., & Pastor-Corrales, M. A. (Eds.), *Bean production problems in the tropics* (2nd ed.). CIAT.
- Peres, N. A., Timmer, L. W., Adaskaveg, J. E., & Correll, J. C. (2005). Lifestyles of *Colletotrichum acutatum*. *Plant Disease*, 89(8), 784–796.
- Perfect, S. E., Hughes, H. B., O'Connell, R. J., & Green, J. R. (1999). *Colletotrichum* : A model genus for studies on pathology and fungal–plant interactions. *Fungal Genetics and Biology*, 27(2–3), 186–198.
- Ploetz, R. C., et al. (1994). *Diseases of tropical fruit crops*. CAB International.
- Pochard E., Palloix A., Daubeze M., 1992 : *Le piment*. 420 p.
- Polese J-M. et Devaux S., (2007) : *Plante aromatique et condimentaire, flore de France*. 100-102 p.
- Ponte J.J da. (1996). *Clinica de doencas de plantas*. Fortaleza-CE : UFC., pp 871.
- Pralora C., (1971) - *Les agrumes*. Ed. editeur 8348, Paris, n° 5, p. 25.
- Praloran J.C. (1971). *Les agrumes, Technique Agricoles et production Tropicales*. Ed. G.P.Maisonneuve et Larose, Paris, 565p.
- Prusky D., Plumbley R.A. (1992). Quiescent infections of *Colletotrichum* in tropical and subtropical fruits. In : Bailey, J.A and Jeger, M.j.(eds) *Colletotrichum : Biology, Pathology and control*. CAB International, I Wallingford, UK, pp.289-307.
- Ragnaud J. M., Marceau C., Roche-Bezian M. C. et Wone C., 1984. Infection péritonéale à *Trichoderma koningii* sur dialyse péritonéale continue ambulatoire. *Med. Maladies Infect.*, 1984, N° 7-8 : 402-405■

- Rani SG, Murthy KVMK (2004) Cultural and nutritional characteristics of *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal organism  
Région de chlef : caractérisation morphologique, comportement variétal et essai de lutte
- Rifai M. A., (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Papers, 116 : 1-56. 54.
- Kubicek C. P., Bissett J., Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C., & Szakacs G. (2003).
- Roquebert M. F., (1996). Interactions antagonistes des *Trichoderma sp.* Dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. Compte-rendu des 4èmes Rencontres en Toxicologie, Paris, 13-15
- Roussos, S. (1987). Croissance de *trichoderma harzianum* par fermentation en milieu solide : physique, sporulation et production de cellulose. Ed.de l'ORSTOM. <https://catalogue.bnf.fr/ark:/12148/cb349545941;jsessionid=F4A008C226C0BFD5E8FE2BC953D31D3C>. Consulter 22 juin 2025.
- Saiah F., (2004). Contribution à l'étude de l'antracnose du pois (*Pisum sativum* L.) dans la Région de chlef : caractérisation morphologique, comportement variétal et essai de lutte
- Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T. and Maekawa, A. Nutrient composition of kopyor coconut (*Cocos nucifera* L.). Food Chemistry., 1996 Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T. and Maekawa, A. Nutrient composition of kopyor coconut (*Cocos nucifera* L.). Food Chemistry., 1996 ; 57 :299-304. ; 57 :299-304.
- Sattar A., et Malik SA. (1939). Quelques études sur l'antracnose de la mangue causée par *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. Sch. (*Colletotrichum gloeosporioides*). India Journal Agriculture Science, 1 : 511-521
- Schuster A. et Schmoll M., (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 87 : 787-799.
- Serrano D., Serrano E., Dewdney M., et Southwick C.(2010). Maladie d'agrumes. Centre pour la science et la technologie phytosanitaires, [09-14].
- Sharma M., Kulshrestha S. (2015). *Colletotrichum gloeosporioides*. Une antracnose causant l'agent pathogène des fruits et légumes. Biosci Biotechnol Res Asie, 12 (2)
- Singh, RP. Singh, AK. Singh, RN. (2003). Pathogenic variability in *Alternaria triticina* causing leaf blight of wheat. Ann. Plant Protect. Sci. 11 :309-311.
- Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L., Liu X., (2004). Tomato *Fusarium* wilt. And its chemical control strategies in a hydroponic system. Crop Prot. 23, p. 243–247

- Than, P. P., et al. (2008). *Colletotrichum capsici* on chili in Thailand: Morphological and molecular characterization. *Mycological Research*, 112(4), 484–496.
- Thomashow L. S., (1996). Biological control of plant root pathogens. *Current Opinion in Biotechnology*, 7 : 343-347.
- Tom le Jardinier. « Repiquer les poivrons et piments ». Consulté le 2 juin 2025. <https://www.tomlejardinier.com/que-faire-au-potager/tache/repiquer-les-poivrons-et-piments>.
- Udayanga D, Manamgoda DS, Liu X et al (2013) What are the common anthracnose pathogens of tropical fruits ? *Fungal Divers* 61 :165-179  
Université d'Oran, 73p
- Vidyalakshni A, Divya CV (2013) New report of *Colletotrichum gloeosporioides*
- Von Arx, J.A.V . (1957). Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathologische Zeitschrift*, 29 : 413-468.
- Walter, A et Sam, C. (2002) *Fruits of Oceania*. [Trans, P. Ferrar from *Fruits d'Océanie*] ACLAR Menograph 85. Australian Centre for international Agricultural Research. Canberra, Australia.
- Verbist J. F., 2000. Marine fungal substances in : *Studies in natural products chemistry*. Londres : Elsevier Sciences B.V., 24 : 979-1092.
- Westerlund F.V., Campbell R.N. and Kimble K.A. (1974). Fungal root rot and wilt of chickpea in California. *Phytopathology*, 64 : 432–436
- Wharton, D. A., & Diéguez-Urbeondo, J. (2004). The biology of the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*. *Mycologist*, 18(3), 113–117. <https://doi.org/10.1017/S0269915X04003058>
- Wharton, P. S., & Diéguez-Urbeondo, J. (2004, June). The biology of *Colletotrichum acutatum*. In *Anales del jardín botánico de Madrid* (Vol. 61, No. 1, pp. 3-22).
- Yang Y., Liu, Z., Cai, L., Hyde, K., Yu, Z. and McKenzie, E. (2009). *Colletotrichum* anthracnose of *Amaryllidaceae*. *Fungal Diversity*, 39 : 123-146
- Yssaad, H., & Medaouar, Z. (2018). Caractérisation morphologique de *Colletotrichum gloeosporioides* et *Colletotrichum* sp., responsables de l'antracnose des agrumes à Mostaganem et spécialisation parasitaire du pathogène (Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem).

# **Annexes**

## Annexe 1 : Milieux de culture

### Milieu Potato Dextrose Agar (PDA) Solide :

Pomme de terre 200g

Glucose 20g

Agar 20g

Eau distillée 1000ml

PH = 6,5

## Annexe 2 : Etude statistique

### Confrontation directe

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	11,553	47	0,246		
Var.FACTEUR 1	0,459	2	0,229	0,859	0,044
Var.FACTEUR 2	0,496	3	0,165	0,619	0,061
Var.INTER F1*2	0,986	6	0,164	0,616	0,718
VAR.RESIDUELLE 1	9,613	36	0,267		

### Confrontation Indirecte

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA
Var.TOTALE	11,219	47	0,239		
Var.FACTEUR 1	0,282	2	0,141	0,547	0,059
Var.FACTEUR 2	0,354	3	0,118	0,458	0,072
Var.INTER F1*2	1,313	6	0,219	0,850	0,542
VAR.RESIDUELLE 1	9,270	36	0,258		

Micro-conidies (colletotrichum)

	longueur en division	longueur en $\mu m$	largeur en division	largeur en $\mu m$
1	5,5	14,3	2	5,2
2	6	15,6	2	5,2
3	5,5	14,3	2	5,2
4	6	15,6	2	5,2
5	6,5	16,9	2	5,2
6	5,5	14,3	1,5	3,9
7	7	18,2	2	5,2
8	5	13	1,5	3,9
9	5,5	14,3	2	5,2
10	5	13	1,5	3,9
11	6,5	16,9	2	5,2
12	6	15,6	2	5,2
13	5	13	2	5,2
14	5,5	14,3	2	5,2
15	6,5	16,9	1,5	3,9
16	5,5	14,3	2	5,2
17	6	15,6	2	5,2
18	6	15,6	2	5,2
19	5	13	2	5,2
20	7	18,2	2	5,2
21	6	15,6	2	5,2
22	6	15,6	2	5,2
23	5	13	1,5	3,9
24	4,5	11,7	2	5,2
25	6	15,6	2	5,2
27	5,5	14,3	2	5,2
28	6,5	16,9	2	5,2
29	7	18,2	1,5	3,9
30	5,5	14,3	2	5,2
31	10	26	2	5,2
32	9,5	24,7	1,5	3,9
33	6,5	16,9	2	5,2
34	6	15,6	2	5,2
35	5,5	14,3	2	5,2
36	9	23,4	2	5,2
37	5	13	2	5,2
38	4	10,4	2	5,2
39	5	13	1,5	3,9
40	4,1	10,66	2	5,2
41	5,5	14,3	1,5	3,9
42	6	15,6	1,5	3,9
43	5	13	2	5,2
44	6	15,6	2	5,2
45	6	15,6	2	5,2
46	6	15,6	1,5	3,9
47	6	15,6	2	5,2
48	7	18,2	2	5,2
49	6	15,6	2	5,2
50	6	15,6	2	5,2

