



Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
DEPARTEMENT D'AGRONOMIE



## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BOUHELLA Aicha**

Pour l'obtention du diplôme de  
**MASTER EN AGRONOMIE**

**Spécialité : Protection des végétaux**

**THÈME**

**Identification de l'agent causal du flétrissement  
vasculaire de l'haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)  
dans la région de Mostaganem et évaluation de  
la lutte biologique**

Soutenue publiquement le 01/07/2026

DEVANT LE JURY

|           |                     |     |               |
|-----------|---------------------|-----|---------------|
| Président | M.BOUZOUINA Mohamed | Pr  | U. Mostaganem |
| Encadreur | M.MAHIOUT Djamel    | MCA | U. Mostaganem |
| Examineur | Mme. BADAoui Ikram  | MCB | U. Mostaganem |

Année universitaire 2025/2026

## **Remerciements**

**Nous remercions « Allah » de nous avoir donné le courage, les connaissances Et la volonté de terminer cette formation malgré ses dangers.**

**Nous exprimons nos sincères remerciements aux membres de jury : Monsieur Bouzouina Mohamed Professeur à l'Université de Mostaganem. Mme Badaoui Ikram Maître de conférence B à l'Université de Mostaganem. Qu'ils ont accepté la lourde tâche de lire l'intégralité de ce manuscrit et de participer au jury de notre soutenance.**

**Nous remercions particulièrement notre encadreur l'enseignant Dr. Djamel MHIOUT pour son suivi et l'intérêt qu'il nous a apporté tout au long de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde gratitude pour ses précieux conseils et ses encouragements.**

**Nous adressons nos sincères salutations aux enseignants du Universitaire Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem et tous ses personnels de la faculté des sciences de la nature et de la vie qui ont fait Preuve de patience, de soutien et d'encouragemen.**

**Touts notre reconnaissance va à M.Nabil BERAHALL, ingénieur au laboratoire de protection des végétaux, pour sa disponibilité aide durant nos travaux de laboratoire.**

**Nos remerciements s'adressent également aux doctorant et étudiants qui nous ont apporté leur aide précieuse.Nous tenons remercier chaleureusement le doctorant M.Ibrahim SEKKAL pour son soutien technique, ainsi que l'ancienne étudiant de Master Youssef BOUSKOURI pour son aide constante lors des travaux.**

**Un grand merci à l'ancienne étudiante de Master Karima Gazou pour sa présence, son soutien et sa précieuse tout au long de ce travail.**

## **Dédicace**

**Je dédie Ce travail:**

**A ma chère mère et à mon cher père qui n'ont jamais cessé de me supporter, me soutenir et m'encourager durant mes années d'études. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude et de ma reconnaissance.**

**A mes frères, mes sœurs et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité.  
A tous mes amis qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.**

**Merci!**

**AICHA Bouhella**

## **Table des Matières**

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

### **Chapitre 01 : Haricot Vert**

|                                                 |   |
|-------------------------------------------------|---|
| I.1. Généralités                                | 2 |
| I.2. Historique et origine du haricot           | 2 |
| I.3. Caractéristiques morphologiques du haricot | 3 |
| I.3. Haricot dans le monde                      | 4 |
| I.4. Situation du haricot dans l'Algérie        | 5 |
| I.6. Intérêt agronomique                        | 6 |
| I.7. Intérêt économique                         | 6 |
| I.8. Le cycle de développement de l'haricot     | 7 |
| I.9. Les maladies et les ravageurs              | 8 |

### **Chapitre 02 : La fusariose vasculaire**

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| II.1. Répartition géographique                                       | 12 |
| II.2. Importance économique de la fusariose vasculaire de l'haricot  | 12 |
| II.3. Taxonomie et reproduction de l'agent pathogène                 | 13 |
| II.3.1. Taxonomie de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>phaseoli</i> | 13 |
| II.3.2. La reproduction                                              | 13 |
| II.3.2.1. La reproduction sexuée                                     | 13 |
| II.3.2.2. La reproduction asexuée                                    | 14 |
| II.4. Symptomologie                                                  | 14 |
| II.5. Biologie et épidémiologie du pathogène                         | 15 |
| II.5.1. Survie du pathogène                                          | 15 |

|                           |    |
|---------------------------|----|
| II.5.2. Epidémiologie     | 16 |
| II.6. Pathogénicité       | 17 |
| II.6.1. Histopathologie   | 17 |
| II.6.2. Les toxines       | 17 |
| II.7. Les moyens de lutte | 18 |

### **Chapitre 03 : Le genre *Trichoderma***

|                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| III.1. Historique                                                        | 21 |
| III.1.1. Evolution et historique taxonomique du genre <i>Trichoderma</i> | 21 |
| III.1.2. Position systématique du genre <i>Trichoderma</i>               | 21 |
| III.2. Caractéristique morphologique du genre <i>Trichoderma</i>         | 21 |
| III.2.1. Caractérisation macroscopique                                   | 21 |
| III.2.2. Caractérisation microscopique                                   | 22 |
| III.2.3. Taxonomie                                                       | 22 |
| III.2.4. Les conidiophores                                               | 23 |
| III.2.5. Les phialides                                                   | 23 |
| III.2.6. Les conidies                                                    | 23 |
| III.2.7. Les chlamydospores                                              | 23 |
| III.3. Ecologie et habitat                                               | 23 |
| III.4. Mode d'action de <i>Trichoderma</i> en lutte biologique           | 24 |
| III.4.1. Compétition                                                     | 24 |
| III.4.2. Mycoparasitisme                                                 | 24 |
| III.4.3. Antibiose                                                       | 25 |

### **Chapitre 04 : Matériel et méthodes**

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| IV.1. Collecte de matériel biologique                             | 27 |
| IV.1.2. Échantillonnage de l'agent pathogène                      | 27 |
| IV.1.3. Souches des <i>Trichoderma</i>                            | 27 |
| IV.2. Isolement et purification de l'agent pathogène              | 27 |
| IV.2.1. Isolement de l'agent pathogène                            | 27 |
| IV.3. Obtention des cultures monospores                           | 27 |
| IV.4. Caractérisation culturelle et morphologique des champignons | 28 |
| IV.4.1. Évaluation de la croissance mycélienne                    | 28 |

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| IV.4.2. Evaluation de la sporulation sur PDA                                                  | 28 |
| IV.4.3. Etude morphométrique sur SNA                                                          | 28 |
| IV.5. Etude de l'activité antagoniste in vitro des <i>Trichoderma sp</i>                      | 28 |
| IV.5.1. Technique de confrontation directe                                                    | 28 |
| IV.5.2. Effet sur la croissance mycélienne du parasite                                        | 29 |
| IV.5.3. Calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne                               | 29 |
| IV.5.4. Evaluation du mycoparasitisme des souches de <i>Trichoderma</i> vis-à-vis de FOP      | 30 |
| <b>Chapitre 05 : Résultats et discussion</b>                                                  |    |
| V.1. Résultats                                                                                | 32 |
| V.1.2. Isolement et purification du champignon phytopathogène                                 | 32 |
| V.1.3. Identification de l'agent causal                                                       | 32 |
| V.1.3.1. Identification de l'agent causal <i>Fusarium</i>                                     | 32 |
| V.1.3.2. Caractérisation de <i>Trichoderma</i>                                                | 33 |
| V.1.4. Evaluation in vitro du potentiel antagoniste de <i>Trichoderma sp</i> vis-à-vis de FOP | 34 |
| V.1.4.1. Croissance mycélienne du parasite confronté à FOP                                    | 34 |
| V.1.4.3. Résultats d'une étude sur l'évolution temporelle de la croissance mycélienne         | 36 |
| V.1.4.3. Mise en évidence du comportement mycoparasitaire des isolats testés                  | 38 |
| V.2 Discussion                                                                                | 39 |
| V.2.1. Mécanismes de compétition spatiale et mycoparasitisme (Souches 1, 4 et 5)              | 39 |
| V.2.2. Interprétation de la stimulation induite (Souche 3)                                    | 40 |
| Conclusion générale                                                                           | 42 |
| Références bibliographiques                                                                   |    |
| Annexes                                                                                       |    |

## **Liste des abréviations**

**FOP** : *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseolus*

**PDA** : Potato Dextros Agar

**SNA** : Synthetic Nutrient-Poor Agar

**C °** : Degré Celsius

**FAO** : Food and Agriculture Organisation

## Liste des tableaux

| Numéro                 | Titre                                                                                                                      | Page      |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tableau n° 01 :</b> | Production nationale d'haricot vert pour la période 2009-2013.                                                             | <b>06</b> |
| <b>Tableau n° 02 :</b> | Surface cultivée, rendement et production du haricot sec en Algérie entre 2000 et 2011.                                    | <b>07</b> |
| <b>Tableau n° 03 :</b> | les maladies des haricots et les moyens de lutte.                                                                          | <b>08</b> |
| <b>Tableau n° 04 :</b> | Principaux ravageurs de l'haricot.                                                                                         | <b>09</b> |
| <b>Tableau n° 05 :</b> | Perte de rendement du haricot vert causée par <i>Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli</i> et observées dans différents pays. | <b>13</b> |
| <b>Tableau n° 06 :</b> | Caractères morphologiques des isolats de <i>Fusarium</i> .                                                                 | <b>32</b> |
| <b>Tableau n° 07 :</b> | Caractères morphologiques des isolats de <i>Trichoderma</i> .                                                              | <b>33</b> |

## Liste des Figure

| Numéro                | Titre                                                                                                      | Page      |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figure n° 01 :</b> | Discription de la plante du haricot.                                                                       | <b>04</b> |
| <b>Figure n° 02 :</b> | Production du haricot dans le monde de 1984 à 2024.                                                        | <b>05</b> |
| <b>Figure n° 03 :</b> | Stade de développement du haricot ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)                                          | <b>08</b> |
| <b>Figure n° 04 :</b> | Carte mondiale des différentes formae speciales de <i>Fusarium</i> responsables du flétrissement fusarien. | <b>12</b> |
| <b>Figure n° 05 :</b> | Caracteristiques microscopiques du <i>Fusarium oxysporum</i> .                                             | <b>14</b> |
| <b>Figure n° 06 :</b> | Symptômes de <i>Fusarium</i> sur haricot.                                                                  | <b>15</b> |
| <b>Figure n° 07 :</b> | Cycle de la maladie due à <i>Fusarium oxysporum</i> .                                                      | <b>16</b> |
| <b>Figure n° 08 :</b> | Structure microscopique de <i>Trichoderma</i> .                                                            | <b>22</b> |
| <b>Figure n° 09 :</b> | Mécanisme de mycoparasitisme des <i>Trichoderma</i> .                                                      | <b>24</b> |
| <b>Figure n° 10 :</b> | Dispositif de confrantation directe de l'agent pathogène F.O.P et <i>Trichoderma</i> sp.sur milieu PDA.    | <b>29</b> |
| <b>Figure n° 11 :</b> | Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOP en présence de <i>Trichoderma sp.</i>                 | <b>35</b> |
| <b>Figure n° 12 :</b> | Evolution temporelle de la croissance mycélienne de FOP en présence des isolats de <i>Trichoderma sp.</i>  | <b>37</b> |
| <b>Figure n° 13 :</b> | Observation microsquopique de l'interaction des hyphes des antagonistes testé avec celles du pathogène .   | <b>38</b> |
| <b>Figure n° 14 :</b> | Effect in vitro des isolats de <i>Trichoderma</i> vis-à-vis de FOP après 8 jours de confrontation.         | <b>39</b> |

## Résumé:

Cette étude visait à évaluer in vitro le potentiel antagoniste de différents isolats du champignon de lutte biologique *Trichoderma* contre le champignon pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, agent responsable du flétrissement fusarien chez le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.). L'évaluation a été réalisée par un test de confrontation directe en boîtes de Pétri afin de suivre la croissance mycéliale et de calculer les taux d'inhibition sur une période de 8 jours. Les résultats ont montré une nette variabilité dans l'efficacité inhibitrice des isolats testés. Les isolats **T16** et **I** hanno manifesté la plus haute performance en dépassant **75%** d'inhibition contre la majorité des souches pathogènes grâce au mécanisme de mycoparasitisme direct (*mycoparasitisme*). En revanche, d'autres isolats ont présenté une efficacité modérée ou faible ; ainsi, **T5** et **T13** ont enregistré des taux d'inhibition moyens et limités contre la souche 3 (**Souche 3**), tandis que l'isolat **T12** a montré une inefficacité presque totale n'excédant pas **10%** d'inhibition contre la souche 5.

**Mots-clés:** *Phaseolus vulgaris* L., *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, mycoparasitisme.

## Abstract:

This study aimed to evaluate *in vitro* the antagonistic potential of various isolates of the biocontrol agent *Trichoderma* against the phytopathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, the causal agent of fusarium wilt in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). The evaluation was conducted using a dual culture confrontation test in Petri dishes to monitor mycelial growth kinetics and calculate percentage inhibition rates over an 8-day incubation period. The results demonstrated a clear variability in inhibitory efficiency among the tested isolates. Isolates **T16** and **I** exhibited the highest decisive inhibitory performance, exceeding **75%** inhibition against most pathogenic strains, driven by the mechanism of direct mycoparasitism (*mycoparasitisme*). In contrast, other isolates showed varied efficacy; specifically, **T5** and **T13** recorded moderate and limited inhibition rates against strain 3 (**Souche 3**), while isolate **T12** displayed severe inefficiency and a near-total failure in suppressing the growth of strain 5, with a negligible inhibition rate not exceeding **10%**.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris* L., *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, *mycoparasitisme*.

## الملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم القدرة التضادية مخبريا لعزلات مختلفة من فطر المكافحة الحيوية *Trichoderma* ضد الفطر الممرض *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* المسؤول عن مرض الذبول في نبات الفاصوليا العادية (*Phaseolus vulgaris L.*)، وذلك من خلال اختبار المواجهة المباشرة في أطباق بتري لتتبع ديناميكية النمو الميسيليومي وحساب نسب التثبيط المئوية على مدار 8 أيام . وأظهرت النتائج تباينا واضحا في كفاءة التثبيط بين العزلات المختبرة؛ حيث حققت العزلتان T16 و I أعلى كفاءة تثبيطية حاسمة تجاوزت 75% ضد معظم السلالات الفطرية الممرضة نتيجة آلية التطفل الفطري المباشر (mycoparasitisme).

في المقابل، أظهرت عزلات أخرى تفاوتاً في الفعالية؛ حيث سجلت العزلتان T5 و T13 كفاءة تثبيطية متوسطة ومحدودة ضد السلالة الثالثة (Souche 3)، بينما أبدت العزلة T12 ضعفا حادا وفشلا شبه تام في كبح نمو السلالة الخامسة بنسبة تثبيط ضئيلة جدا لم تتعدى 10%.

الكلمات المفتاحية: *Fusarium oxysporum f. sp. 'Trichoderma':Phaseolus vulgaris L. mycoparasitisme, phaseoli*

# Introduction

# Introduction

Le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) est une légumineuse importante à l'échelle mondiale, fournissant des fibres alimentaires essentielles, des protéines, des minéraux et des vitamines à des millions de personnes.

La production de haricot fait face à des défis majeurs en raison de maladies causées par des bactéries, des champignons et des virus. Le flétrissement fusarien, causé par le champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f.sp. *phaseoli* (FOP), est une maladie extrêmement destructrice, entraînant un flétrissement vasculaire précoce et des réductions potentielles de rendement pouvant atteindre 100%.

Ce pathogène se propage à travers les tissus vasculaires des racines et des tiges, provoquant une chlorose, une nécrose foliaire, un retard de croissance (nanisme) et, à terme, la mortalité de la plante. La lutte chimique conventionnelle présente une efficacité limitée et soulève de graves préoccupations concernant l'environnement et la santé humaine, ce qui souligne la nécessité absolue de développer des alternatives durables. La lutte biologique constitue une approche durable pour la gestion des maladies des plantes, s'appuyant sur des microbes bénéfiques pour inhiber les phytopathogènes via divers mécanismes, notamment la compétition pour l'espace et les nutriments, l'antibiose et le mycoparasitisme direct.

La gestion biologique agit collectivement en atténuant la sévérité de la maladie, en améliorant la germination des graines, en stimulant la vigueur des plantules et en optimisant les performances globales de la plante ; offrant ainsi une alternative écologiquement saine aux fongicides chimiques conventionnels en agriculture. Le genre *Trichoderma* a récemment suscité une attention considérable en tant qu'agent de biocontrôle prometteur, en raison de ses propriétés antagonistes rigoureuses contre les souches de *Fusarium* et de sa capacité à synthétiser des enzymes dégradant la paroi cellulaire. Son efficacité a été formellement démontrée contre les agents pathogènes responsables de la fonte des semis (Damping-off) chez de nombreuses cultures, y compris *Pythium* et *Rhizoctonia* chez le concombre.

Ce travail étudie la capacité biologique du genre *Trichoderma* à réprimer le flétrissement fusarien chez les plantules de haricot commun (*P. vulgaris*), afin de clarifier son double rôle en tant qu'agent de biocontrôle.

Chapitre 01:

Haricot vert

### Chapitre1 : Haricot vert

#### I.1. Généralités

L'haricot vert (*Phaseolus vulgaris L.*) est une légumineuse alimentaire appartenant à la famille des Fabaceae, originaire d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (Gepts, 1990; Lemma, 2003; Brigide et al., 2014). Elle joue un rôle important dans l'alimentation humaine comme source de vitamines, de protéines, de fibres, de sels minéraux et dans la fixation biologique de l'azote (Fortin, 1996). Cette espèce se caractérise par sa capacité à fixer l'azote dans le sol (Amanuel et al., 2000), elle est utilisée pour améliorer les conditions du sol.

Cette caractéristique de pouvoir fixer de l'azote atmosphérique est très répandue chez les espèces légumineuses qui sont capables de produire leur propre azote et non pas besoin d'être approvisionnées avec un apport de l'extérieur. Cette dernière particularité des légumineuses est grâce à certaines espèces de bactéries qui fixent de l'azote. À signaler que la quasi-totalité appartient au genre *Rhizobium* et vivent en symbiose avec les légumineuses dont certains chercheurs ont pu identifier plus de 44 différentes espèces.

Cette plante occupe une importance agro-économique mondiale avec une production annuelle de 20,4 millions de tonnes en 2008 pour une superficie cultivée de 26,47 millions d'hectares (Djeugap et al., 2014). Par ailleurs, la consommation de produits alimentaires peu transformés, prêts à consommer ou prêts à l'emploi, a augmenté dans le monde au cours de la dernière décennie en raison de leur aspect pratique, de leur fraîcheur et de leur qualité améliorée (Baskaran et al., 2007).

#### I.2. Historique et origine du haricot

Selon la répartition géographique, la plupart des espèces appartenant au genre *Phaseolus* sont originaires d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (Andes) (Freitag et Debouck, 2002; Delgado-Salinas et al., 2006). Il fut par la suite introduit en Europe et en Afrique par les espagnols et les portugais au 16<sup>ème</sup> siècle (Wortmann et al., 1998; Nyabyenda, 2005). Le genre *Phaseolus* est grand, comprenant environ 80 espèces cultivées et sauvages, mais *P. vulgaris* est l'espèce la plus cultivée (Purseglove, 1968; Bailey, 1975; Freitag et Debouck, 2002; Porch et al., 2013).

La première description botanique du Haricot commun fut par les botanistes Tragus et Fuchs en 1542, sous le nom de *Smilax hortensis*. Le nom générique de *Phaseolus* a été introduit par Carl Linné en 1753, et avait classé les haricots à son époque en deux genres *Phaseolus* et *Dolichos*. Il répertorie 11 espèces de *Phaseolus* dont 6 espèces cultivées et 5 espèces sauvages. Après diverses révisions taxonomiques, The Plant List a conservé trois noms d'espèces de Linné : la première *Phaseolus vulgaris* qui est le haricot commun, la seconde *Phaseolus coccineus* qui est le haricot d'Espagne, et la dernière *Phaseolus lunatus* qui est le haricot de Lima. Les autres binômes ont été traités comme non acceptés, non résolus ou bien

ont été reclassé dans les genres *Vigna* ou *Glycine*. Actuellement, les haricots d'origine asiatique du genre *Phaseolus* ont été transférés au genre *Vigna*, si bien que l'adoption d'une conception restrictive du genre *Phaseolus* en fait un genre homogène et exclusivement américain.

### I.3. Classification:

**La classification de l'haricot (Singh,1999).**

**Règne :** *Végétal*

**Embranchement :** *Spermaphytes*

**Sous-Embranchement:** *Angiospermes*

**Classe :** *Dicotylenes*

**Ordre :** *Fabales*

**Famille :** *Fabaceae*

**Sous-Famille:** *Papilionaceae*

**Genre:** *Phaseolus*

**Espèce:** *Phaseolus vulgaris*

### I.4. Caractéristiques morphologiques du haricot

L'haricot présente une grande diversité morphologique en termes de mode de croissance, de structure végétative et de mode de reproduction. Sa croissance peut être buissonnante ou grimpante, et la plante peut prendre différentes formes: dressée, semi-dressée ou étalée. La hauteur des espèces dressées varie généralement entre 20 et 60 cm, tandis que les espèces grimpantes peuvent atteindre des longueurs comprises entre 2 et 5 mètres. La tige peut être ramifiée et présenter une coloration anthocyane qui lui donne une teinte violette ; chez certaines variétés, les extrémités des pousses peuvent être enroulées.

Les feuilles sont trifoliées ; leur couleur varie du vert clair au vert foncé et peut parfois tirer vers le violet. La longueur des folioles varie entre 6 et 15 cm, et leur largeur entre 3 et 11 cm ; elles ont une forme ovale ou cordiforme, avec une variation marquée de taille : grandes, moyennes ou petites.

Quant aux fleurs, elles sont de petite taille et disposées en inflorescences en grappes; elles peuvent être latérales ou terminales, et apparaissent seules ou par paires sur un axe floral. Elles se caractérisent par une grande variété de couleurs, notamment le blanc, le rose, le rouge, le violet et le jaune, bien que le blanc soit la couleur la plus courante.

Les fleurs ont une forme papilionacée (papilionacées).

Les gousses sont généralement fines et longues, leur longueur pouvant atteindre 20 cm et leur largeur variant entre 1 et 1,5 cm ; elles peuvent être droites ou courbées et présenter

Une forme cylindrique ou aplatie. Leur couleur varie entre le vert, le jaune et le violet; elles peuvent parfois être rayées. Chaque gousse contient entre 4 et 12 graines.

Les graines se caractérisent par une forme rénale (semblable à un rein) et une longueur comprise entre 7 et 16 mm, avec une grande variabilité de couleur et de taille entre les

variétés sauvages et cultivées ; elles peuvent être noires, petites ou grandes, et de différentes couleurs telles que le blanc, le rouge, le marron ou tachetées. Les graines ne contiennent pas d'endosperme (Muchomba et al., 2026).

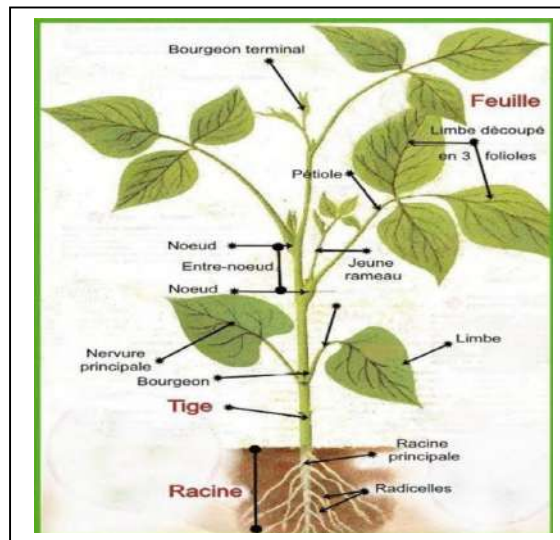


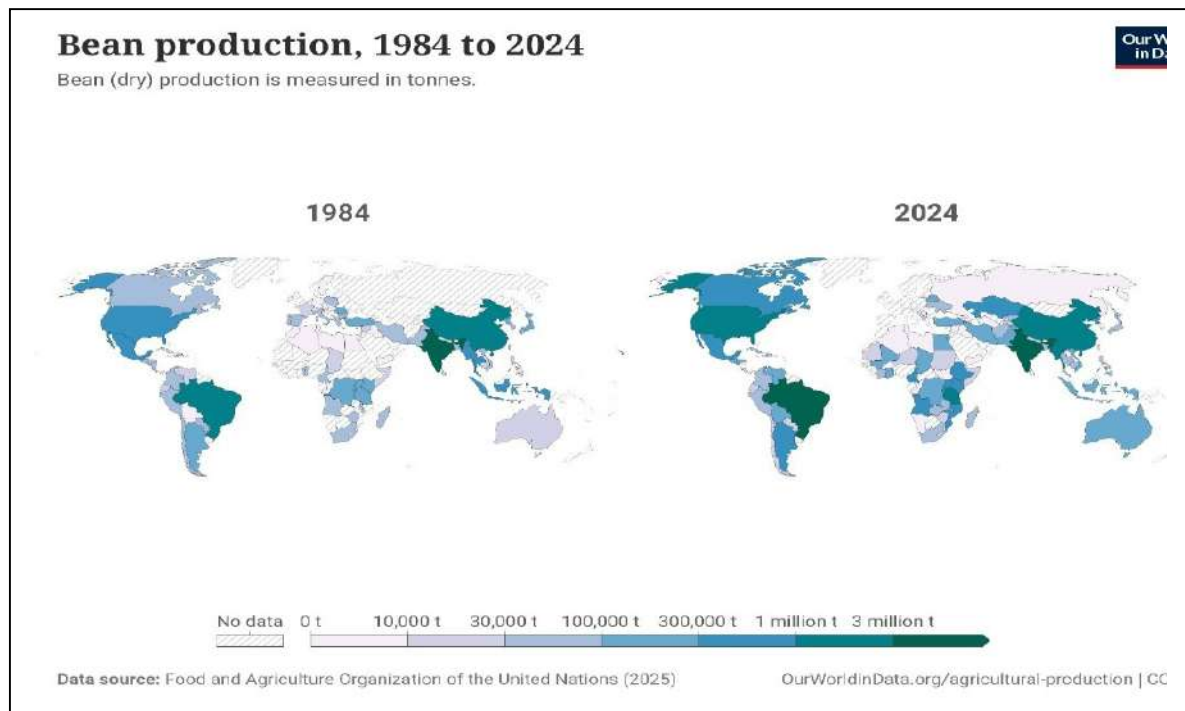
Figure 1 : Discription de la plante du haricot.

### I.5. L'haricot dans le monde

L'haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) s'est développé au cours d'une période d'au moins 7000 à 8000 ans à partir d'une forme sauvage ancestrale qui était répandue dans les régions montagneuses correspondant aujourd'hui à l'Amérique latine, entre le nord du Mexique et le nord de l'Argentine (Gepts et Debouck, 1991). Avant la domestication, les espèces sauvages de *Phaseolus vulgaris* s'étaient déjà divisées en deux groupes génétiques principaux, chacun présentant une répartition géographique distincte, respectivement en Amérique centrale et dans la région des Andes. Outre ces deux groupes, les populations sauvages récemment découvertes constituent un troisième composant génétique distinct, considéré comme un groupe intermédiaire provenant du sud de la Colombie, de l'Équateur et du nord du Pérou (Debouck et al., 1993 ; Gepts, 1998).

Cette culture est largement cultivée pour ses graines comestibles, qui sont consommées sous forme de grains secs, frais ou verts. Lorsque les haricots sont consommés au stade de gousses non mûres, on les appelle haricots verts ou « snap beans ». Les variétés de haricots verts se caractérisent par leurs gousses tendres et savoureuses (Stephen, 1998). Leurs gousses comptent parmi les produits maraîchers importants dans le commerce international. Les graines de haricot se distinguent par leur haute valeur nutritionnelle, car elles contiennent une forte proportion d'amidon, de protéines et de fibres alimentaires ; elles constituent également une source importante de minéraux et de vitamines tels que le fer (Fe), le potassium (K), les éléments, le molybdène, la thiamine, la vitamine B6 et l'acide folique. Cette culture est cultivée dans le monde entier et est considérée comme une culture importante pour la sécurité alimentaire et la nutrition.

Selon Norman et al.(1995),le rendement et la qualité des haricots verts dépendent de plusieurs facteurs, tels que le choix d'une variété adaptée à chaque région, ainsi que d'autres facteurs agronomiques et biologiques. Les principaux producteurs mondiaux d'haricots secs sont répartis sur les différents continents, l'Inde est le premier producteur mondial (environ 5 à 6 millions de tonnes par an), le Myanmar est le deuxième producteur mondial, c'est aussi un exportateur majeur puis viennent les pays comme le Brésil, les Etats Unis, la Chine et le Mexique. La Tanzanie et l'Ouganda sont les principaux producteurs du continent africain.



**Figure 2: Production du haricot dans le monde de 1984 à 2024.**

### **I.6. Situation du haricot en Algérie :**

Les variétés les plus cultivées en Algérie pour les quelles l'autosuffisance est atteinte-bien que le prix soit relativement élevé en particulier pour le haricot à écosser- sont :

**Haricot nain tout :** Contender, El Djadida, Molière.

**Haricot nain à écosser :** Coco de Prague, Pactole.

**Haricot à rame mange tout :** Sidi fredj, Blance de juillet.

**Haricot à rame à écosser :** Coco de prague.

Selon les statistiques de la FAO 2013, l'Algérie se classe en 40 ème position dans le monde pour la production d'haricot. La production nationale d'haricot vert durant les cinq dernières années est représentée dans le tableau1.

**Tableau1** :Production nationale d'haricot vert pour la période 2009-2013.

| Années                | 2009  | 2010  | 2011  | 2012  | 2013  |
|-----------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Surface cultivée (ha) | 8622  | 8918  | 9599  | 9197  | 10707 |
| Production (tonne)    | 40121 | 45096 | 53487 | 54581 | 60787 |
| Rendement (Qx/ha)     | 46.53 | 50.56 | 55.72 | 59.34 | 56.77 |

Source : RAQTAT(2013)

L'Algérie est considérée comme un grand consommateur de légumes sec, cependant, les superficies réservées à cette culture restent limitées. D'après le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR), l'Algérie a mis en œuvre un plan d'action visant l'augmentation de la production agricole et ceci par l'intensification de la culture des céréales et les légumineuses. La production moyenne pour l'Algérie a été estimée à 0,72 t/ha avec une surface totale d'environ 1616 hectares en 2009 (**tableau1**).

## I.7. Intérêt agronomique

Sur le plan agronomique et en tant que légumineuse, le haricot peut s'intégrer dans les systèmes de production biologique qui utilisent la bio-fertilisation. En effet, sa culture laisse des reliquats azotés. A cet effet, ils sont utilisés avec d'autres légumineuses dans les systèmes des rotations et d'associations culturales avec d'autres cultures notamment les céréales dans le but d'assurer la meilleure efficacité d'utilisation des ressources en azote(Canadoetal.,2003). Le maïs (*Zea mays L.*) est principalement cultivé en culture intercalaire avec les haricots à rame comme plante tuteur (Singh 1992; Nyabyenda, 2005). L'effet ne se limite pas au support maïs pour une amélioration réciproque des deux cultures (Nassary, 2020).

Fischer et al.(2020)ont démontré que la culture intercalaire du maïs-haricot améliore l'approvisionnement en énergie et en protéines du fourrage cultivé à la ferme. D'autre part, le système de culture du tournesol avec le haricot commun a produit des valeurs de rendement net plus élevées que la monoculture du tournesol ou la monoculture de haricot commun unique (Hamd-Alla et al., 2020). Ernest (2019)a également démontré que le système de co-culture riz pluvial-haricot permettait un meilleur développement des plantes et une acquisition de ainsi qu'un meilleur partage des éléments nutritifs des plants de riz.

## I.8. Intérêt économique

Le haricot est l'une des plantes légumineuses les plus intéressantes pour l'homme notamment au point de vue nutritif qu'au point de vue économique.

La production mondiale de haricot secs s'établit aux environs de 13 millions de tonnes dont : l'Afrique 10%, Amérique de Nord 17%, Amérique de Sud 20%, Asie 43% et l'Europe 5 à 6% (NYABENDA, 2005).

Le haricot représente une source de revenus importante pour des millions de personnes notamment dans les milieux ruraux.

**Tableau 2:** Surface cultivée, rendement et production du haricot sec en Algérie entre 2000 et 2011 (FAO, 2013).

| Année                 | 2000       | 2001      | 2002      | 2003        | 2004        | 2005        | 2006        | 2007        | 2008        | 2009      | 2010        | 2011        |
|-----------------------|------------|-----------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-------------|-------------|
| Surface cultivée (ha) | 1280<br>F  | 1180<br>F | 1190<br>F | 1560<br>F   | 1990<br>F   | 1206<br>F   | 1496<br>F   | 1394<br>F   | 1300<br>F   | 1616<br>F | 1210<br>F   | 1200<br>F   |
| Rendement Kg/ha       | 3273<br>Fc | 622<br>Fc | 726<br>Fc | 702,5<br>Fc | 794,6<br>Fc | 552,5<br>Fc | 611,6<br>Fc | 657,8<br>Fc | 615,3<br>Fc | 720<br>Fc | 694,2<br>Fc | 666,7<br>Fc |
| Production (Tonne)    | 419        | 734       | 864       | 1096        | 1581        | 666         | 915         | 917         | 800         | 1158      | 840         | 800         |

F: estimation de la FAO, Fc: données calculées.

### I.9. Le cycle de développement de l'haricot

#### I.9.1. Phase de germination

Les graines lèvent en 4 à 8 jours suivant la température. Elles doivent toutes être sorties de terre au bout de 8 jours, les cotylédons sortis du sol, se sont ouverts et la première paire de feuilles apparaît (HUBERT, 1978).

#### I.9.2. Phase de croissance

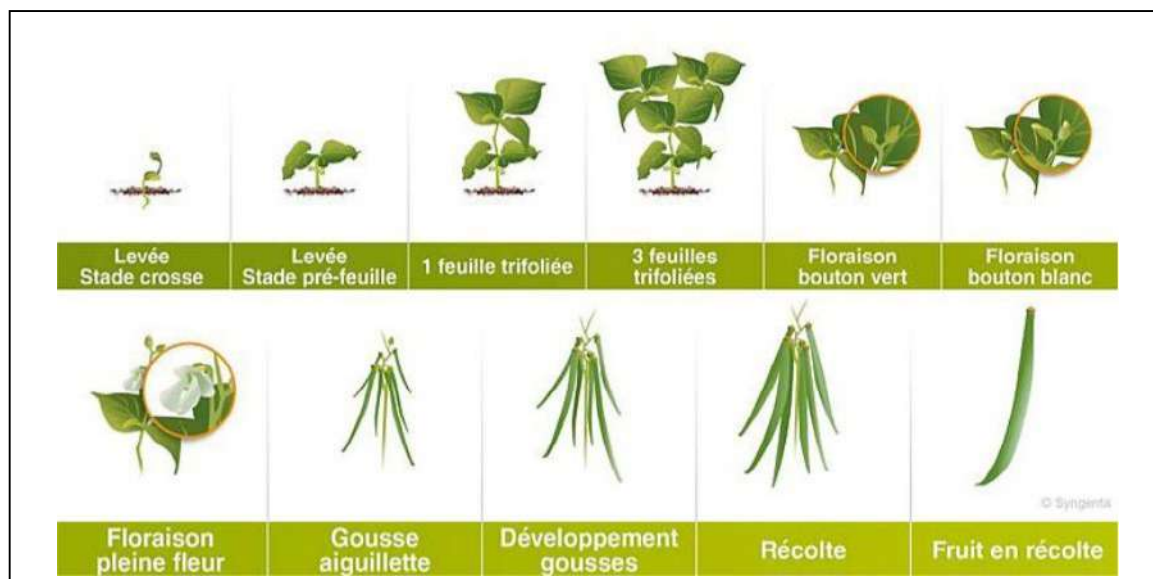
Trois à quatre jours après la levée, les cotylédons commencent à se faner (PITRAT et FOURY, 2003), cinq à six jours après la levée apparaît la première feuille trifoliolée, cinq à six jours après l'apparition de la première feuille trifoliolée apparaît la deuxième. Au bout d'un mois, le pied de haricot possède une dizaine de feuilles trifoliolées et il a atteint sa hauteur définitive de 30 à 40 cm pour les variétés naines (DUPONT et GUIGNARD, 1989).

#### I.9.3. Phase de floraison

Elle débute 3 semaines à 1 mois environ après le semis. Elle dure 1 mois à 1 mois et demi suivant les conditions climatiques. La jeune gousse met une douzaine de jours environ pour atteindre sa taille définitive (LECOMTE, 1997).

#### I.9.4. Phase de maturation

Une fois la taille définitive atteinte, les graines se forment en 15-20 jours. Il faut attendre encore 20 à 30 jours pour que les gousses s'ouvrent d'elles-mêmes, les graines étant mûres. Le cycle végétatif complet du haricot varie entre 75 et 130 jours (LECOMTE, 1997).



**Figure3: Stade de développement du haricot (*Phaseolus vulgaris*L.) (Feller *et al.*, 1995).**

## I.10. Les maladies et les ravageurs du haricot

### I.10.1. Les maladies

Al’instar de toutes les espèces de légumineuses ; l’haricote (*Phaseolus vulgaris* L.) est sensible à de nombreuses maladies fongiques, virales et bactériennes. L’impact de ces maladies est très variable selon la gravité des symptômes provoqués sur la plante hôte (Tableau 3).

**Tableau 3: les maladies des haricots et les moyens de lutte (NYABYENDA, 2005).**

| Type de maladie  | Agent causal                                                                                    | Symptômes                                                                                                       | Les moyens de lutte                                                                                                 |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Maladie fongique | -Maladies des taches anguleuses :<br><i>Phaeoisariopsis griseola</i>                            | -Taches anguleuses sur les feuilles délimitées par les nervures et taches arrondies rougeâtres sur les gousses. | -Eliminer les plantules issues de graines germées hors saison et respecter la rotation.                             |
|                  | -Maladie l’ascochyte :<br><i>Ascochyta phaseolarum</i>                                          | -Grandes taches brunâtres sur les feuilles et les gousses.                                                      | -Utilisation de variétés résistantes ou tolérantes.<br>-Pulvérisation sur feuillage (benomyl-thiophanatemethyl...). |
|                  | -Bactériose à halo<br><i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Phaseolicola</i> et <i>Pseudomonas</i> | -Petits points nécrotiques sur feuilles entourées d’un halo chlorotique                                         | -Utilisation des semences saines et des variétés résistantes ou                                                     |

## Chapitre 01:

## Haricot vert

|                     |                                                                                                 |                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                               |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Maladie bactérienne | <i>syringae</i> pv. <i>Syrinae</i> .<br><br>-Bactériose commune<br><i>Xanthomonas comestris</i> | circulaire.<br><br>-Lésions brunatres à brun clair sur feuilles, des taches de couleur vert foncé sur gousses.<br><br>-Irrégulières limitées par une bordure jaune. | tolérantes.<br><br>-Trempage des semences dans les sulfates de streptpmycine avant le semis.                                                                  |
| Maladie virale      | -Le mosaïque commune du haricote due au Virus BCMV                                              | -Plantes naines, feuilles déformées, recroquevillées vers le bas.<br><br>-Les gousses sont déformées et rugueuses au toucher.                                       | -Utilisation des semences saines et arrachages des plantes maladies.<br><br>-Contrôle des pucerons.<br><br>-Utilisation de la variété résistante ou tolérante |

### I.10.2. Les ravageurs :

Au cours du temps, les cultivateurs de l'haricot ont développé de nombreuses pratiques pour limiter l'expansion et les dégâts des différentes espèces d'organismes ravageurs.

**Tableau4 : Principaux ravageurs de l'haricot (NYABENDA,2005).**

| Nom de ravageur                                          | Principaux symptômes                                                                                                                                                     | Principales méthodes de lutte                            |
|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Bruche del'haricot :<br><i>Acanthoscelides obtectus</i>  | Présence de plusieurs trous sur toutes les faces des graines conservées.                                                                                                 | En entrepot : désinsectisation pr fumigation sous vide.  |
| Myriapodes :<br><i>Lules</i> ,<br><i>Scutigérelles</i> . | Hypocotyle et racicules rongés lors de la germination.                                                                                                                   | L'enrobage des grains contre la Mouche des semis.        |
| Puceron noire de la fève :<br><i>Aphis fabae</i>         | Présence de colonies d'insectes sur les feuilles, les pétioles et les tiges ; feuilles recroquevillées, boursoufflées souvent recouvertes de meillat de couleur noire et | Désinfestation par des aphicides et la lutte biologique. |

## Chapitre 01:

## Haricot vert

|                                            |                                                                        |                                                                                                                       |
|--------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                            | les boutons floraux perforée par chenilles.                            |                                                                                                                       |
| Mouche des semis :<br><i>Dalia platura</i> | Bourgeon terminal détruit, la plantule se déforme et pourrit en terre. | -Lutte indispensable sur le semis précoces<br><br>-Enrobage des semences<br><br>-Traitement de sol avec microgranules |

## Chapitre 02:

# La fusariose vasculaire

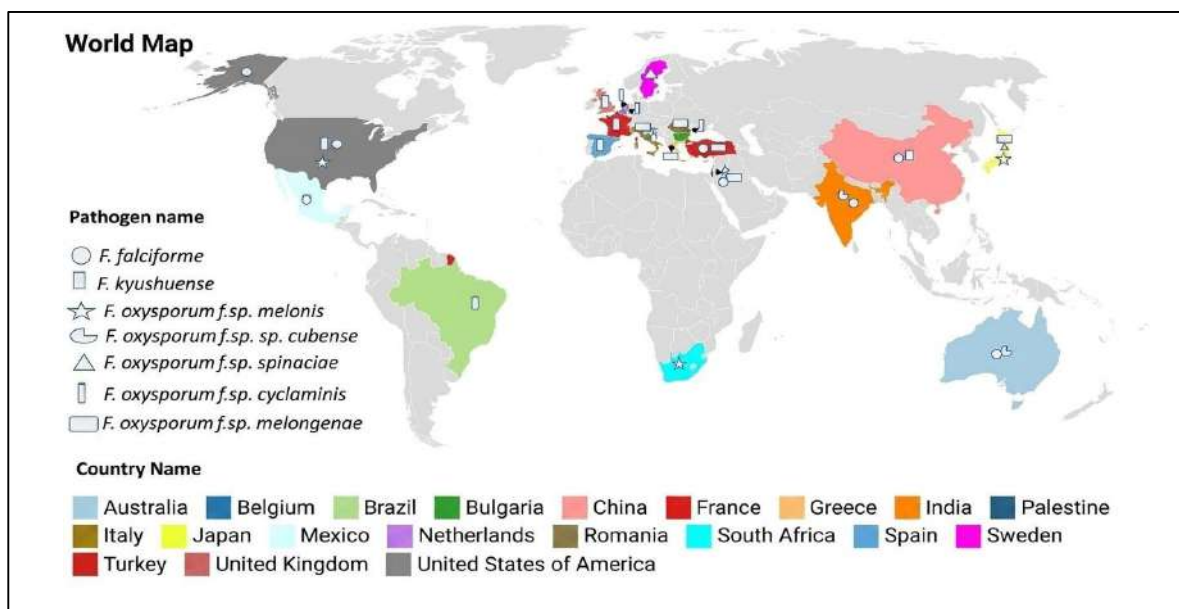
## Chapitre2 : La fusariose vasculaire

### II.1. Répartition géographique

La fusariose vasculaire (angl.=Fusarium wilt) présente une large répartition géographique et a été signalée dans la majorité des régions agricoles du monde, où elle provoque d'importantes pertes économiques sur de nombreuses cultures d'intérêt agronomique.

Sa distribution varie en fonction de l'hôte et des conditions environnementales, les différentes formae speciales de *Fusarium oxysporum* étant principalement présentes dans les zones de culture de leurs plantes hôtes en Afrique, en Asie, dans les Amériques, en Europe et en Australie. Les facteurs climatiques jouent également un rôle déterminant dans cette répartition, les souches responsables des flétrissements vasculaires étant particulièrement favorisées par les environnements tropicaux et subtropicaux chauds et humides.

Ainsi, la répartition géographique de la fusariose résulte d'interactions complexes entre le pathogène, l'hôte, l'environnement et les activités humaines, ce qui explique son extension mondiale et sa progression continue vers de nouvelles zones de production agricole (Uysal et al., 2026).



**Figure4 : Carte mondiale des différentes formae speciales de *Fusarium* responsables du flétrissement fusarien.**

### II.2. Importance économique de la fusariose vasculaire de l'haricot

La flétrissure vasculaire causée par le champignon *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* est l'une des maladies fongiques les plus dévastatrices pour les cultures de haricots communs (*Phaseolus vulgaris* L.) à l'échelle mondiale. , Le pathogène perturbe la croissance de la plante en réduisant son absorption d'eau et de nutriments, ce qui entraîne son rabougrissement et son flétrissement.

Les études académiques et épidémiologiques confirment que le taux de pertes de récolte (Tableau 1) causées par cette souche spécifique peut varier dans les champs infestés entre 70 % et 100 %, ce qui correspond à une perte totale de la production (Ngoya et al., 2024).

## Chapitre 2:

## Fusariose vasculaire

**Tbleau5 :** Perte de rendement du haricot vert causée par *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli* et observées dans différents pays.

| Pays                      | Année     | Pertes (%)    | Références                |
|---------------------------|-----------|---------------|---------------------------|
| Etats-Unis                | 1995      | Au moins 10%  | Salgado et al.(1995)      |
| Afrique de l'Est(Tanzaie) | 2024      | 70%-100%      | Ngoyaet al.(2024)         |
| Egypte                    | 2005      | 50%-100%      | Schwartz et al.(2005)     |
| Rawanda                   | 1991-1992 | 100%          | Buruchara &Camacho.(2000) |
| Ethiopie                  | 2022-2023 | 24.07%-91.66% | Adamo et al.(2024)        |

### II.3. Taxonomie et reproduction de l'agent pathogène:

#### II.3.1. Taxonomie de *Fusarium oxysporum f. sp.phaseoli*

En 1940, le concept d'espèce a été officiellement codifié et révisé par les chercheurs Hansen et Synder. Cette grande révision taxonomique a contribué à unifier le système complexe de Wallenber, qui divisait le genre *Elegans* en à plus de 40 taxons distincts (dont 10 espèces, 18 variétés et 12 formes).

En se basant uniquement sur les critères de pathogénicité et dans le but de proposer un concept unifié du genre reposant exclusivement sur des caractères morphologiques constants, ces auteurs ont introduit une modification fondamentale qui présente les avantages d'une grande simplicité et d'une conformité procédurale dans l'identification des souches pathogènes sur le terrain, au premier rang des quelles figure le champignon *Fusarium oxysporum*.

***Fusarium* classé comme suit :**

**Règne :** *Fungi*

**Phylum :** *Ascomycota*

**Subphylum:** *Pezizomycotina*

**Classe:** *Sordariomycetes*

**Sous-classe:** *Hypocreomycetidae*

**Ordre :** *Hypocreales*

**Famille :** *Nectriaceae*

**Genre :** *Fusarium*

**Espèce :** *Fusarium oxysporum*

**Forme spéciale :** *Fusarium oxysporum f. sp. phaseoli*

Source: [https://gd.eppo.int/taxon/FUSAPH\(page\)](https://gd.eppo.int/taxon/FUSAPH(page)) consultée le 02 juin 2026).

#### II.3.2. La reproduction

##### II.3.2.1. La reproduction sexuée

Du point de vue reproductif, le cycle de vie du champignon *Fusarium oxysporum* se caractérise par une phase sexuée inconnue (Leslie et al., 2006)

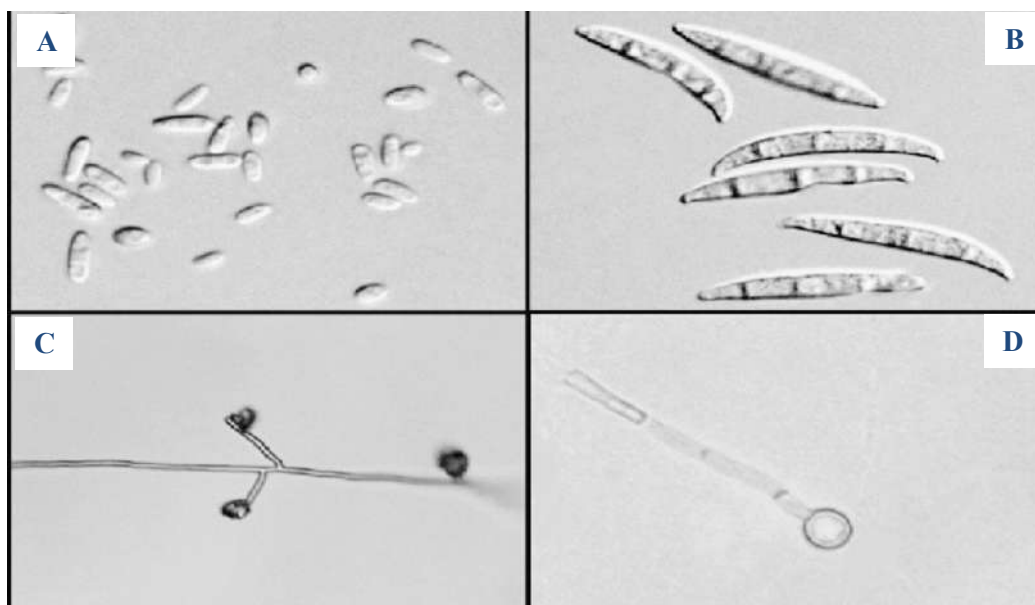
Les analyses moléculaires et génétiques confirment que, bien que cette souche possède des copies des gènes de reproduction réprimés (MAT-1 et MAT-2) dans son ADN, ces gènes restent inactifs et ne peuvent s'exprimer fonctionnellement au cours de la croissance, ce qui

prouve son incapacité à effectuer toute reproduction sexuée (Kerényi et al., 2004).

### II.3.2.2. La reproduction asexuée

*Fusarium oxysporum* est un champignon asexué, car il ne se reproduit pas sexuellement, il dépend donc de la reproduction asexuée, produisant trois types de spores : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores. Les macroconidies se caractérisent par leur forme en faucille et par la présence de trois ou quatre cloisons, tandis que les microconidies sont de forme ovale, sans cloison ou avec une seule cloison. Quant aux chlamydospores, ce sont des spores sphériques, à parois épaisses (figure).

Les macroconidies et les microconidies se forment dans les phialides, tandis que les chlamydospores se développent à partir des cellules des filaments fongiques ou des cellules conidiennes après condensation de leur contenu. Les macroconidies et les microconidies favorisent la propagation du champignon vers les plantes voisines, tandis que les chlamydospores constituent des structures résistantes qui assurent la survie du champignon dans le sol et servent de source primaire d'infection lorsqu'un hôte approprié est présent



**Figure5: Caractéristiques microscopiques du *Fusarium oxysporum***

**A : microconidies ; B : Macroconidies, C : conidies en fausse tête disposées sur les sommets de phialides, D : Chlamydospore.**

### II.4. Symptomatologie

Les symptômes du flétrissement fusarien apparaissent d'abord sur les feuilles inférieures, qui commencent par jaunir et flétrir, puis se propagent progressivement vers les feuilles supérieures.

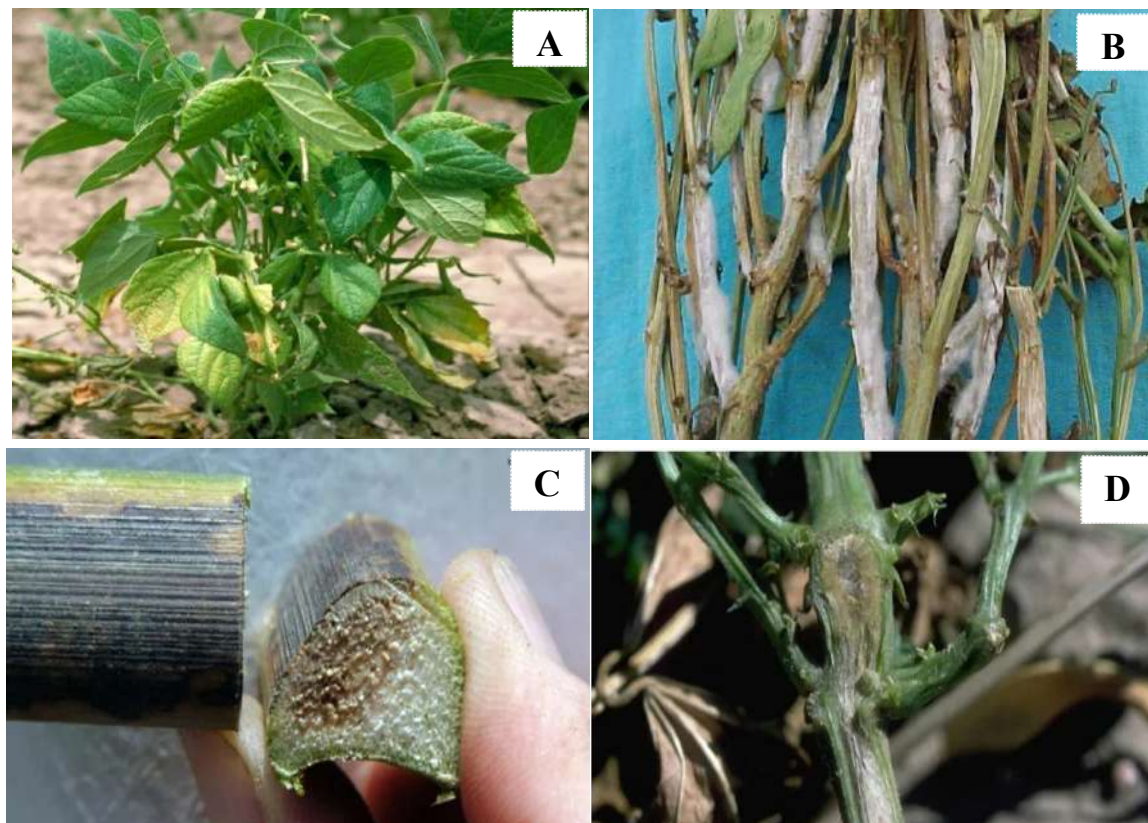
On observe également un rabougrissement de la plante, en particulier lorsque l'infection survient pendant les phases de germination et de croissance végétative, ou lorsque la plante est soumise à des stress environnementaux.

À mesure que la maladie progresse, les bords des feuilles brunissent et le jaunissement de la partie aérienne s'accroît progressivement. Dans les cas graves, le flétrissement devient permanent et s'accompagne d'une chute précoce des feuilles. La coloration brun-rougeâtre des vaisseaux ligneux de la tige est l'un des principaux signes de diagnostic de la maladie, elle apparaît généralement après l'apparition des symptômes foliaires (Figure).

## Chapitre 2:

## Fusariose vasculaire

L'intensité de la coloration des tissus vasculaires dans les racines, les tiges et les pétioles varie en fonction de la sensibilité de la variété, de la gravité de l'infection et des conditions environnementales. Les pertes de récolte peuvent atteindre des niveaux très élevés, pouvant approcher les 100 % lorsque des variétés sensibles sont cultivées dans un sol infesté par le champignon *Fusarium oxysporum* (Schwartz et al., 2022)



**Figure 6 : Symptômes de *Fusarium* sur haricot (A : jaunissement des feuilles ; B : colonisation du tissu vasculaire de la plante par le pathogène ; C : chancre montrant une coloration brune foncée au niveau de la tige, D : nécrose des tissus à l'intérieur des racines).**

### II.5. Biologie et épidémiologie du pathogène

#### II.5.1. Survie du pathogènes :

*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* possède une grande capacité de survie dans l'environnement, ce qui garantit la persistance de l'infection d'une saison agricole à l'autre. Le champignon dépend principalement de ses spores chlamydospores résistantes, qui persistent longtemps dans le sol même en l'absence d'hôte et constituent une source majeure d'infection primaire.

De plus, les résidus de plantes infectées contribuent à la remise en circulation de ces spores après leur décomposition, ce qui maintient le cycle de la maladie dans le système agricole (Uysal et al., 2026).

Le champignon peut survivre dans les milieux aquatiques pendant de longues périodes pouvant dépasser 120 jours.

Des études ont montré que l'aération et le mouvement de l'eau influencent sa persistance, l'eau courante lui permettant de survivre plus longtemps que l'eau stagnante des barrages agricoles. Les spores de *Fusarium* ont également tendance à se déposer au fond des milieux aquatiques, ce qui contribue à préserver leur capacité de survie.

Cette adaptation environnementale, associée à la résistance des spores, fait du sol et de l'eau un réservoir important pour l'agent pathogène et facilite sa transmission localement ou via les Systems d'irrigation (Ullah et al., 2021).

### II.5.2. Épidémiologie

L'épidémiologie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* se caractérise par une interaction complexe entre le champignon, la plante hôte et les conditions environnementales, ces facteurs déterminant l'évolution, la gravité et la propagation de la maladie.

L'évaluation épidémiologique repose sur des critères tels que la densité des spores fongiques dans le sol, le taux d'infections réussies au niveau des racines, l'étendue de la maladie au sein du champ, ainsi que les périodes de latence et d'incubation et la dynamique de l'évolution des symptômes au fil du temps.

Le champignon pénètre généralement dans les racines du haricot par des blessures ou des zones de faiblesse, puis colonise les vaisseaux ligneux et se propage à l'intérieur de la plante avec le flux d'eau, ce qui entraîne l'obstruction des vaisseaux, l'interruption du transport de l'eau et des éléments nutritifs, et l'apparition de symptômes de flétrissement (figure 4).

L'évolution de la maladie est également influencée par plusieurs facteurs, dont les plus importants sont la densité de l'inoculum primaire, la température du sol (environ 20–30 °C), l'humidité du sol, les caractéristiques nutritionnelles du sol, ainsi que la sensibilité génétique de l'hôte et l'état sanitaire des racines (Uysal et al., 2026).

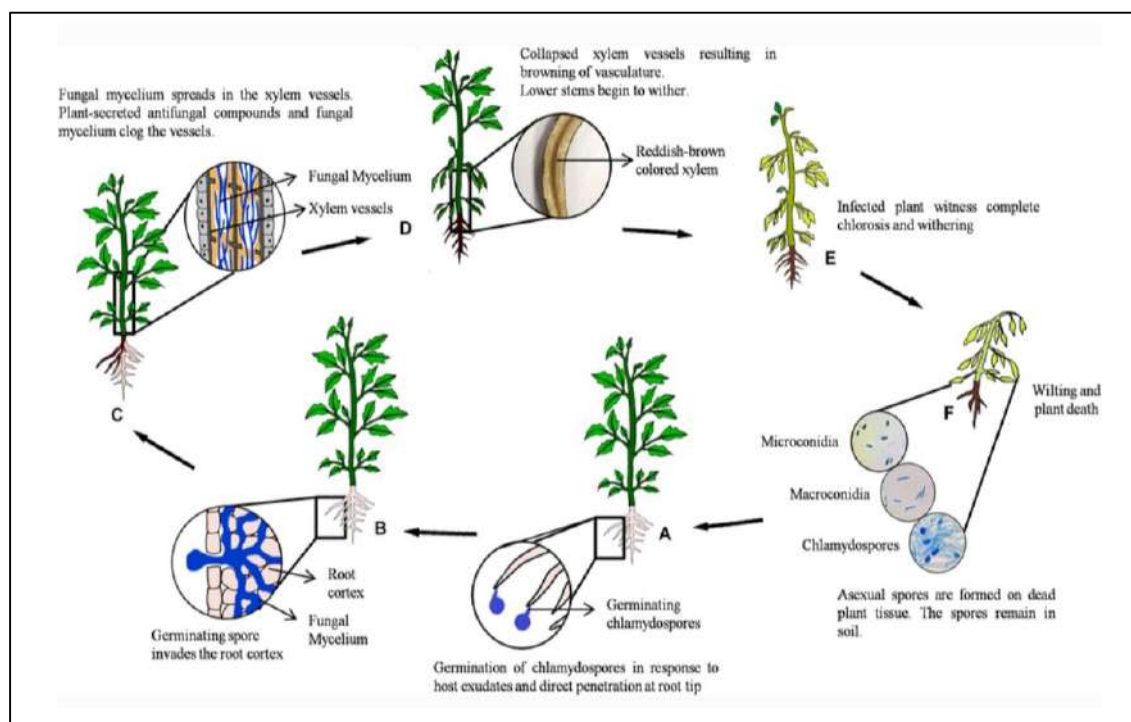


Figure7 : Cycle de la maladie due à *Fusarium oxysporum*

### II.6. Pathogénicité

#### II.6.1. Histopathologie

L'infection commence généralement au niveau des racines, où le champignon pénètre dans les tissus racinaires avant de coloniser progressivement le système vasculaire de la plante. Le changement de couleur des tissus conducteurs, en particulier des vaisseaux ligneux, est l'un des premiers signes histopathologiques associés à l'infection, ce qui s'explique par l'implantation du champignon à l'intérieur de ces vaisseaux.

Après avoir pénétré l'hôte, le mycélium se développe à l'intérieur des éléments ligneux et se propage à travers le système vasculaire de la plante. Cette colonisation entraîne des modifications progressives des tissus conducteurs et entrave le transport de l'eau et des éléments minéraux.

On observe également des hyphes fongiques et de petites microconidies à l'intérieur des vaisseaux infectés, tandis que les chlamydospores contribuent à la survie et à la persistance du champignon dans des conditions défavorables.

À mesure que l'infection progresse, des modifications tissulaires notables apparaissent, notamment la nécrose des cellules du cortex et des tissus vasculaires, la perturbation de l'organisation normale des tissus et la dégradation de la structure anatomique des racines.

Aux stades avancés, le champignon s'étend à de vastes parties du système vasculaire, ce qui entraîne l'apparition des symptômes caractéristiques du flétrissement fusarien, tels que le flétrissement et le jaunissement des feuilles ainsi qu'un retard de croissance général de la plante.

On peut également observer des phénomènes d'hypertrophie et d'hyperplasie dans les tissus vasculaires infectés, ce qui reflète la réponse des cellules végétales à la présence de l'agent pathogène.

Ces modifications anatomiques et physiologiques combinées entraînent un dysfonctionnement du système vasculaire, ce qui contribue au développement des symptômes caractéristiques de la fusariose chez les haricots

#### II.6.1. Les toxines

Les toxines fongiques sont des métabolites secondaires et ne joueraient aucun rôle dans la croissance du champignon si ce n'est indirectement en façonnant son environnement biotique proche (compétition avec d'autres organismes etc.). Parmi les cinq familles de mycotoxines les plus importantes, *Fusarium* aurait le pouvoir de sécréter des fumonisines, des trichothécènes et de la zéaralénone, avec des quantités variables en fonction des espèces (Pitt, 2000). Mais les toxines produites par *Fusarium* les plus connues sont le Déoxynivalénol (DON) et le zéaralénone (ZON).

La présence de ces toxines est très surveillée dans l'alimentation humaine et animale en raison de leur fréquence d'apparition récurrente dans divers produits agricoles telles les céréales. Dans l'immense majorité des cas, leurs quantités sont infimes, mais des pics de contamination sont parfois observés, dépassant les seuils de concentration toxique sanitaire acceptables (Placinta et al., 1999).

Le DON est chimiquement décrit comme 12,13- époxy-3, 4, 15-trihydroxytrichothèque-9-en-8-un (C<sub>15</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>, MW: 296,32, CAS: 51481-10-8). Il cristallise sous forme d'aiguilles incolores et est stable à des températures élevées (stable à 120°C, modérément stable à 180°C).

Il est soluble dans l'eau et dans des solvants polaires (AESA, 2004a). Le nom trivial

“vomitoxine” a également été attribué à cette toxine en raison de sa capacité aiguë à provoquer des vomissements (Vesonder et al., 1973).

Le ZON est une lactone d'acide résorcyclique et est chimiquement décrit comme 6- (10-Hydroxy-6-oxo-trans-1-undécène) lactone d'acide résorcyclique (C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>, MW:318,36, CAS:17924-92-4) (EFSA, 2004b). Cette toxine présente une structure cristalline de couleur Blanche. Elle est insoluble dans l'eau, mais soluble dans une solution alcaline aqueuse et divers solvants organiques. Le ZON est stable au cours du stockage des denrées et de leur traitement dont la cuisson (toxine thermostable) (EFSA, 2004b).

### II.7. Les moyens de lutte

Les méthodes de lutte appliquées pour le contrôle des fusarioses sont généralement limitées, comme c'est le cas pour l'ensemble des maladies parasitaires vasculaires.

Il n'existe actuellement aucun moyen réellement efficace pour contrôler totalement ces maladies, les mesures de contrôle demeurent dans leur globalité d'ordre préventif (Rouxel et al., 1979).

#### II.7.1. La lutte culturale

Elle consiste à éviter les conditions qui favorisent la maladie : un sol léger et acide, un manque d'azote et de calcium, des températures élevées supérieure à 28C° (température optimale du développement du *Fusarium oxysporum*) et un manque de lumière.

La méthode de prévention la plus courante est le chaulage afin de maintenir le pH entre 6,4 et 7 (Scott, 1923).

Des chercheurs Taïwanais Sun et Huang, 1985 ont mis au point un amendement organique et minéral qui permet de contrôler efficacement diverses espèces de *Fusarium*. Cet amendement est un mélange de 4,4% de bagasse (résidus de canne à sucre), 8,4% de son de riz, 4,25% de coquilles d'huîtres, 8,5% d'urée, 1,04% de nitrate de potassium, 13,16% de super phosphate de calcium et 60,5% de cendres minérales (Booth, 1971).

#### II.7.2. La lutte chimique

Elle est efficace mais présente beaucoup d'effets néfastes, elle se fait par une désinfection du sol à l'aide de fongicides.

Les fongicides les plus usité reste le triazole et ces dérivés qui sont des composés très actifs grâce à leur noyau qui possède une activité pharmacologique, antibactérienne, antifongique et hypoglycémique (Hamoir et al., 2001).

#### II.7.3. La lutte génétique

Elle consiste à introduire des gènes de résistance au niveau des plantes appelées plantes trans-génétiques.

Ces gènes sont responsables de la synthèse de protéine capables d'éliminer le parasite.

Cependant, cette technique fut inefficace car elle a été à l'origine de l'apparition de races plus virulentes (Henni, 1998).

### II.7.4. Lutte biologique

Des méthodes alternatives, notamment celles qui se basent sur l'exploitation des potentialités microbiennes antagonistes ont fait l'objet de plusieurs études.

Parmi les microorganismes expérimentés avec succès, à l'égard des maladies d'origine tellurique, les *Pseudomonas* spp. Fluorescent set les *Fusarium* non pathogènes qui occupant une place de choix (Armstrong et Armstrong, 1981 ; RouxelEt al., 1979 ; Benchabane, 2005).

Aujourd'hui, il a été démontré que des souches de *F. Oxysporum* non-pathogènes pour une espèce végétale peuvent entrer en compétition pour les nutriments ou la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes (Alabouvette et Al., 1998 ; 2006).

Ainsi, l'activité infectieuse des formes spéciales de *F.oxysporum* peut-être limitée par cette compétition.

Chapitre 03:

Le genre *Trichoderma*

**Chapitre3 : Le genre *Trichoderma*****III.1. Historique****III.1.1. Évolution et historique taxonomique du genre *Trichoderma***

Bien que le genre *Trichoderma* soit reconnu depuis le XIX<sup>e</sup> siècle et son lien avec les téléomorphes (*Hypocrea*) établi par les frères Tulasne en 1865, sa taxonomie est restée longtemps ambiguë.

En 1939, Bisby a restraints cette diversité morphologique à une seule espèce unique, *T. Viride*. Ce n'est qu'avec les travaux fondamentaux de Rifai (1969) qu'une première tentative sérieuse de distinction des complexes d'espèces a vu le jour, complétée ultérieurement par Domsch et al. (1980).

Les connexions téléomorphes ont été consolidées par des isolats d'ascospores via les recherches de Dingley, puis de Webster, suivies par les études culturelles approfondies de Doi au Japon. Par la suite, Bissett (1984, 1991) a structuré la morphologie des anamorphes en délimitant de nombreux taxons au sein des sections *Pachybasium* et *Longibrachiatum*. Face aux limites des seuls critères structuraux, la taxonomie moderne a intégré l'analyse des métabolites secondaires et des profils physiologiques.

Enfin, l'avènement des données moléculaires, particulièrement le séquençage de la région ITS et les techniques d'empreintes génétiques, a apporté la résolution la plus fine pour la différenciation des entités biologiques (Gams et Bissett, 1998).

**III.1.2. Position systématique du genre *Trichoderma***

Le genre *Trichoderma* (téléomorphe *Hypocrea*) est un champignon microscopique filamenteux qui est classé sur le plan taxonomique au sein du règne des *Fungi* (syn. *Mycota*) et du sous-règne des *Dikarya*. Il est attaché à la division des *Ascomycota*, sous-division des *Pezizomycotina*, et à la classe des *Sordariomycetes* (sous-classe des *Hypocreomycetidae*). Ce genre appartient à l'ordre des *Hypocreales* et à la famille des *Hypocreaceae* (Gams et Bissett, 1998).

**III.2. Caractéristiques morphologiques du genre *Trichoderma*****III.2.1. Caractérisation macroscopique :**

Les structures coloniales de *Trichoderma* se distinguent par un développement végétatif extrêmement vigoureux, colonisant rapidement les substrats de culture. Macroscopiquement, elles se manifestent sous la forme d'un tapis feutré, évoluant vers une coloration verdâtre poudreuse très caractéristique (Harman et al., 1998).

L'aspect macroscopique de *Trichoderma* sp. est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritive appropriées, réparties en boîtes de Petri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes.

Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Trois jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile. Deux jours plus tard, une couleur verte en forme de cercle est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse.

D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite et entre le 16<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour un feutrage épais superpose à la culture.

## Chapitre3:

## *Trichoderma*

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (phialospores ou bien conidies) (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001).

### III.2.2. Caractérisation microscopique

Au microscope, le mycélium est constitué d'hyphes cloisonnés (septés). Les conidiophores présentent des ramifications complexes, adoptant parfois une architecture pyramidale. Les phialides, de structure ampulliforme (renflées à leur base), s'insèrent perpendiculairement sur les axes principaux, de façon isolée ou regroupées en verticilles (Harman *et al.*, 1998).

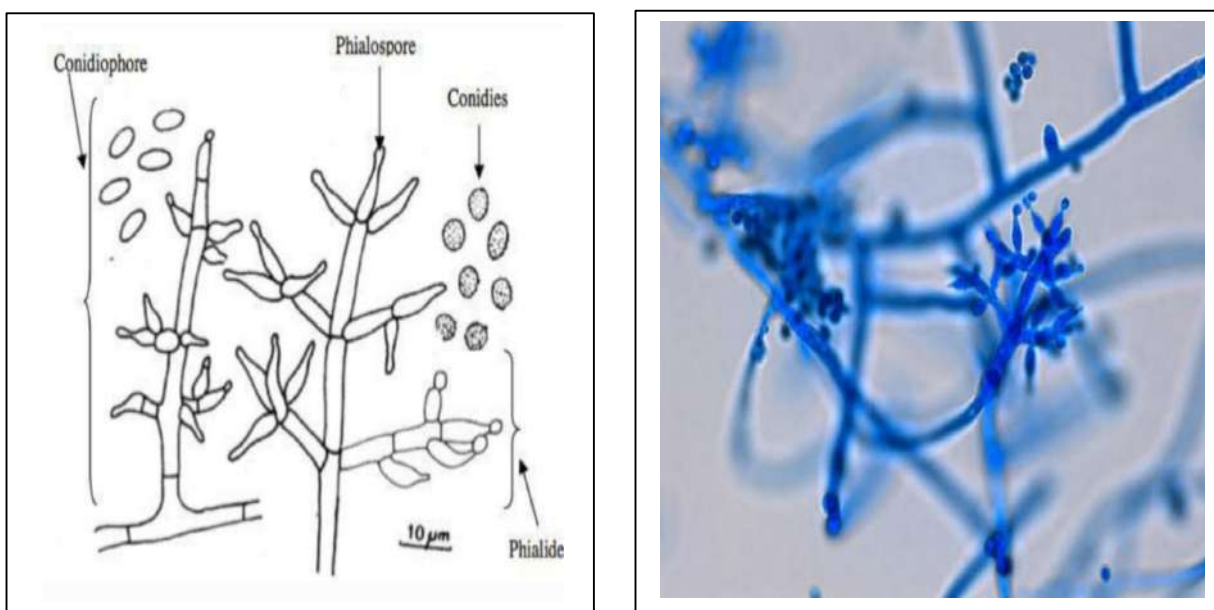


Figure 8: Structure microscopique de *Trichoderma*

### III.2.3. Taxonomie

La taxonomie moderne de champignons a aboli l'embranchement des *Deuteromycotina*, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichodermasp.* se présente comme suit (Bisset, 2004):

**Embranchement :** *Amastigomycotaet/ ou Eumycètes*

**Sous embranchement :** *Ascomycotina*

**Classe :** *Sordariomycètes*

**Ordre :** *Hypocréales*

**Famille :** *Hypocraceae*

**Genre :** *Trichoderma*

### III.2.4. Les conidiophores

Les conidiophores du genre *Trichoderma* se caractérisent par une ramification intense et complexe prenant un aspect pyramidal ou conique, où les branches principales et secondaires s'insèrent à un angle de près de 90 degrés par rapport à l'axe principal.

Ces conidiophores, lâches ou compacts, se forment en cercles concentriques ou le long de longs hyphes. Les branches les plus longues et les phialides (enforme de flasques) s'insèrent directement sur l'axe principal près de sa pointe, qui se termine généralement par une ou quelques phialides.

Une variation morphologique existe entre les espèces ; chez certaines comme *T. Polysporum*, les ramifications principales se terminent par de longs crochets à parois minces avec des prolongements stériles ou fertiles, tandis que la largeur de l'axe principal peut être égale ou bien supérieure à celle de la base de la phialide (Samuel et *al.*, 2013).

### III.2.5. Les phialides

Les phialides hyalines de *Trichoderma* se caractérisent par une forme élargie au milieu et renflée à la base (enforme de bouteille), bien qu'elles

puissent être cylindriques ou subglobuleuses, et se disposent généralement en verticilles à angle droit ou sous une forme pénicillée.

Leur arrangement varie selon les espèces : elles peuvent être solitaires (comme chez *T. Longibrachiatum*) ou regroupées en grappes denses sur l'axe principal (comme chez *T. Polysporum* et *T. Hamatum*), leur fonction principale étant de porter les spores (Samuel et *al.*, 2013).

### III.2.6. Les conidies

Les conidies (spores) de *Trichoderma* apparaissent généralement sèches, bien que chez certaines espèces, elles baignent dans des gouttes de liquide vert ou jaune clair.

Ces spores sont majoritairement unicellulaires, de couleur verte et de forme ellipsoïdale (généralement de 3-5 x 2-4  $\mu\text{m}$ ), tandis que les formes globuleuses restent rares.

La texture de leur paroi varie d'assez lisse à rugueuse, finement verruqueuse ou même tuberculée selon l'espèce, et elles se regroupent finalement en têtes collantes à l'extrémité des phialides (Samuel et *al.*, 2013).

### III.2.7. Les chlamydospores

Toutes les espèces de *Trichoderma* peuvent produire des chlamydospores lorsque les conditions environnementales sont favorables.

Elles sont généralement unicellulaires et subglobuleuses, se formant à l'intérieur des cellules hyphales ou en position intercalaire ou terminale, bien qu'elles soient pluricellulaires chez certaines espèces (comme *T. Stromaticum*) (Samuel et *al.*, 2013).

## III.3. Ecologie et habitat

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. En effet, les *Trichoderma* sp. sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la microflore terrestre et marine.

Les *Trichoderma* terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou

cultivés) et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes.

Dans la mer, les *Trichoderma* sont marins facultatifs. *Trichoderma* sp. y ont été identifiés à tous les niveaux. Ils ont été également isolés à partir d'algues marines prélevées de la côte Atlantique et méditerranéenne ibériques ainsi qu'à partir de moules au Canada leur présence dans le tractus digestif et la surface de plusieurs espèces de concombre des mers reste insolite, puis que ces derniers biosynthétisent des glycosides tri terpéniques aux fortes activités antifongiques et cytotoxiques (Pivkin, 2000).

### III.4. Mode d'action de *Trichoderma* en lutte biologique

Le champignon *Trichoderma* utilise diverses stratégies de lutte biologique, de manière isolée ou combinée, pour inhiber les maladies des plantes de façon explicite (directe) ou implicite (indirecte) (Oyesola et al., 2025).

- **III.4.1. la compétition:** Elle se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée de la flore indésirable (Caron, 2002).
- **III.4.2. Le mycoparasitisme:** situation dans laquelle le micro-organisme antagoniste vit sur ou à l'intérieur d'un autre champignon, se nourrissant et se développant à ses dépens. C'est un autre mécanisme important d'action comme attribut d'un bon biocontrôleur.

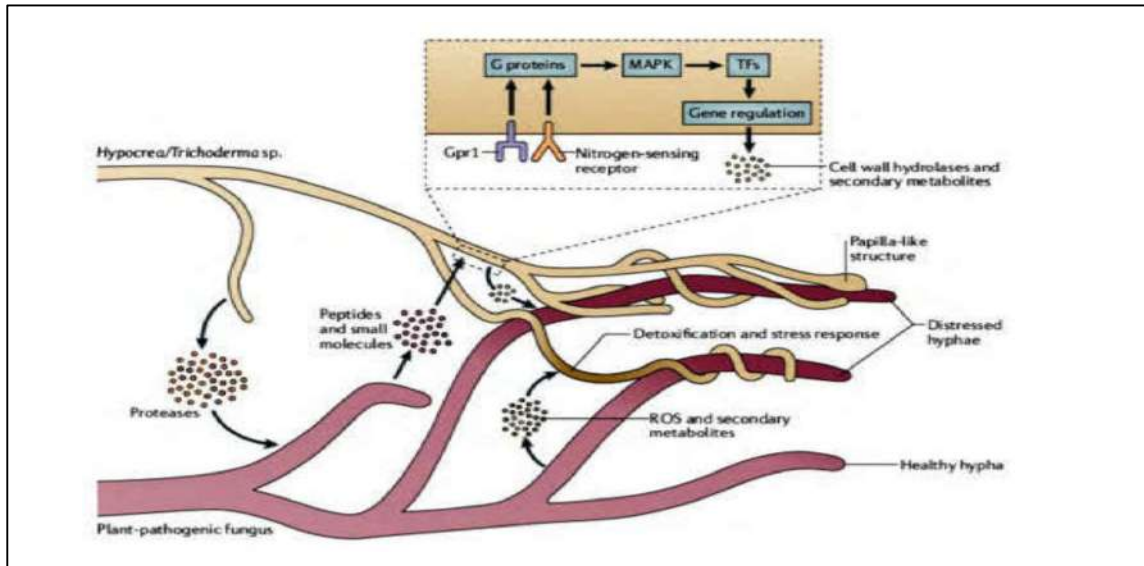


Figure 9 : Mécanisme de mycoparasitisme des *Trichoderma* (Druzhinia et al., 2011)

Le mycoparasitisme implique l'antibiose et le cannibalisme causés par l'action d'enzymes hydrolytiques, telles que les chitinases, les glucidases, les protéases et les lipases, qui causent la mort de l'un d'eux qui sert ainsi de nourriture pour le survivant (Conhecimento; 2020).

### • III.4.3. Antibiose

Plus de 100 métabolites secondaires avec des activités antibiotiques, sont produits par les différentes souches du genre *Trichoderma* (Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998).

La Production des antibiotiques dépend des paramètres environnementaux tels le substrat colonisé, le pH et la température (Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998 ; Vizcaino et al., 2005). Ces Antibiotiques, peuvent être classés en trois groupes: des composés volatiles, des composés solubles dans l'eau et les peptaiboles qui agit avec la membrane plasmique (Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991). Néanmoins, les mécanismes par lequel ces antibiotiques agissent ne sont pas suffisamment connus (Song et al., 2006).

Chapitre 04:

Matériel et méthodes

### Chapitre 04 : Matériel et méthodes

#### IV.1. Collecte de matériel biologique :

##### IV.1.2. Echantillonnage de l'agent pathogène :

Les *Fusarium* spp. sont isolés à partir des prélèvements des échantillons Des plantes d'haricot présentant des symptômes de flétrissement sont collectés à partir de cultures d'haricot conduites sous serre plastique dans la commune de Hassi Mameche, wilaya de Mostaganem.

La région de Mostaganem se caractérise par un climat méditerranéen, allant de semi-aride humide, avec des hivers doux et humides et des étés chauds et sec, sous l'influence maritime directe de la cote de Mostaganem. Cette région a été choisie en raison de son importance agricole et la qualité de ses sols sableux-limoneux, offrant un écosystème microbien doté de caractéristiques distinctives influencées par l'humidité côtière et les conditions climatiques de la région.

##### IV.1.3. Souches de *Trichoderma*:

Les souches de *Trichoderma* ont été obtenues auprès du laboratoire de recherche en Protection des végétaux de l'université de Mostaganem, sis au niveau de l'INES.

#### IV.2. Isolement et purification de l'agent pathogène :

##### IV.2.1. Isolement de l'agent pathogène:

Les racines et les bases de tiges des plantes prélevées ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet, puis découpées en morceaux de 1 cm de longueur.

Ces fragments ont désinfectés superficiellement pendant 2 minutes à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (1%). Les fragments sont alors rincés dans trois bains d'eau distillée stérile. Ils sont séchés entre deux couches de papier Joseph stérile puis déposés sur un milieu de culture PDA, à raison de 5 fragments par boîte de Pétri.

Les boîtes sont incubées à une température de  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Pour garantir l'obtention de colonies pures, un fragment prélevé à l'apex d'une jeune colonie (7 jours) est repiqué sur une nouvelle boîte contenant le milieu PDA.

#### IV.3. Obtention des cultures monospores :

La technique de la culture monospore permet d'obtenir un matériel génétiquement pur à partir d'une seule spore fongique.

Dans des conditions stériles, un fragment de thalle d'une colonie de 10 jours est prélevé, puis mis dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillée stérile. Le tube est agité pendant 3 minutes à l'aide d'un vortex pour libérer le maximum de conidies.

À partir de cette suspension mère, une série de dilutions est effectuée jusqu'à obtention d'une suspension de  $1 \times 10^2$  spores/ml. De cette dernière, on prélève à l'aide d'une pipette stérile 100 µl qu'on étale sur une boîte de Petrie contenant le milieu PDA.

Après 16h d'incubation à  $25^{\circ}\text{C}$ , on examine les boîtes sous une loupe binoculaire, ou sous un microscope optique à faible grossissement, afin de repérer les spores qui sont en état de germination. Un bloc de gélose contenant la spore repérée est alors coupé et prélevé aseptiquement à l'aide d'un scalpel stérile et repiqué sur une nouvelle boîte de Petri contenant le PDA.

Les colonies des champignons ainsi obtenues après purification ont été caractérisées au niveau de leurs caractères macroscopiques (couleur des colonies, nombre d'anneaux concentriques, structure du mycélium, couleur de la gélose, odeur etc..) et microscopiques (conidiophores, phialides, conidies).

À proximité de la flamme d'un bec Bunsen pour assurer des conditions d'asepsie totales, un disque de gélose de 5 mm de diamètre contenant le jeune mycélium a été prélevé de manière aseptique à l'aide d'une porte-pièce stérile, puis transféré au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Pour chaque isolat obtenu nous avons réalisé 5 répétitions.

Toutes les boîtes ensemencées ont été incubées à une température de 25°C.

### IV.4. Caractérisation culturelle et morphologique du champignon :

Afin de caractériser les isolats de *Fusarium*, les paramètres suivants ont été évalués :

#### IV.4.1. Evaluation de la croissance mycélienne :

Les isolats ont été repiqués sur le milieu PDA avec cinq (05) boîtes de répétition pour chaque souche.

L'incubation a été réalisée à une température contrôlée de 20°C.

#### IV.4.2. Évaluation de la sporulation sur PDA:

Après 10 jours de culture sur milieu PDA, 10 ml d'eau distillée stérile ont été versés sur la colonie, la surface de ce dernier est grattée superficiellement à l'aide d'une lame de bistouri pour permettre la libération des conidies.

Un aliquot de 400 µl est prélevé à partir de la même suspension conidienne et la concentration en conidies/ml est estimée à l'aide d'une cellule de Malassez.

#### IV.4.3. Étude morphométrique sur milieu S.N.A :

Indépendamment du test de pathogénicité, les isolats obtenus ont été cultivés pendant 10 jours sur un milieu de culture S.N.A (Synthetic Nutrient-Poor Agar) (Annexe 1).

Les dimensions, à savoir la longueur (L) et la largeur (l), ont été mesurées au microscope sur un échantillon de 50 conidies par isolat, tout en déterminant le nombre de cloisons.

### IV.5. Etude de l'activité antagoniste *in vitro* des *Trichoderma* spp:

#### IV.5.1. Technique de confrontation directe :

Cette méthode consiste à placer face à face deux disques fongiques d'un diamètre de 5 mm, l'un prélevé sur le champignon *Fusarium* et l'autre sur le *Trichoderma*, dans une seule boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Les deux disques sont placés le long d'un axe diamétral, espacés de 4 cm, et équidistants du centre de la boîte.

Chaque confrontation entre un isolat du pathogène et une souche de *Trichoderma* a été réalisée en quatre répétitions. Dans le témoin, l'isolat pathogène est placé seul dans la boîte de Pétri, sans confrontation. Le témoin est réalisé avec quatre répétitions.

L'incubation a été effectuée à une température de 25°C, et après cela, nous avons effectué un suivi régulier de la croissance radiale du mycélium (mesure du diamètre) pendant huit (08) jours consécutifs.

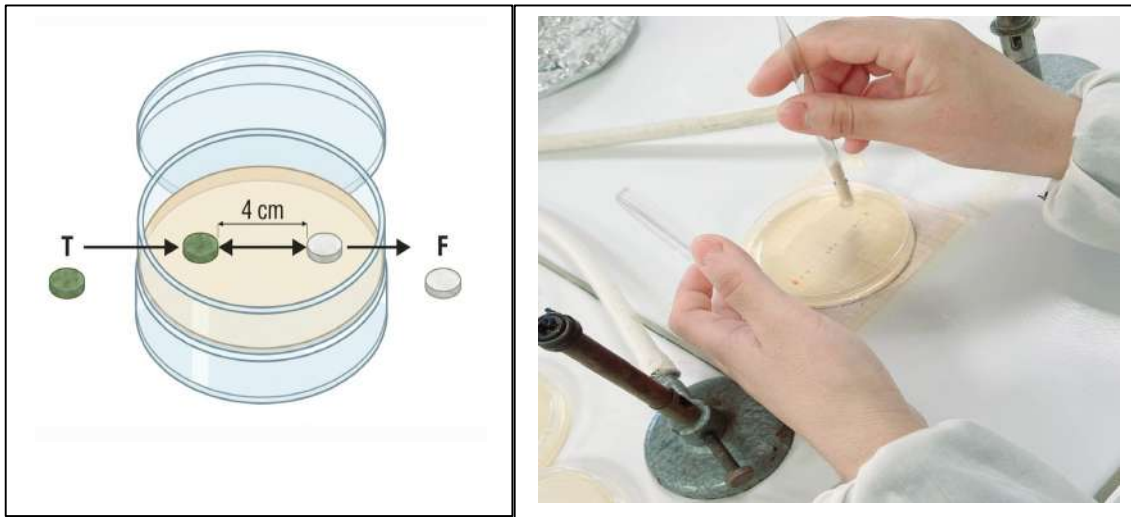


Figure 10: Dispositif de confrontation directe de l'agent pathogène F.O.P et *Trichoderma* sp. sur milieu PDA.

#### IV.5.2. Effet sur la croissance mycélienne du parasite:

Pour l'estimation de la croissance mycélienne du parasite, la technique utilisée est décrite par Brewwer (1960). Elle consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante:

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

**L** : Croissance mycélienne (mm)

**D** : diamètre de la colonie (mm)

**d** : diamètre de l'explant (mm)

Pour évaluer la cinétique de croissance en fonction du temps, nous avons effectué des mesures journalières du diamètre de la colonie de *Fusarium* durant les huit (08) jours d'incubation.

La vitesse de croissance moyenne (V) exprimée en (mm/jour) a été calculée en appliquant la formule de Rappily (1968) suivante :

Où :

**V**: est la vitesse de croissance(mm/j)

**L**: est la croissance mycélienne journalière(mm),et représente le nombre de jours d'observation (n = 8 jours).

#### IV.5.3. Calcul du taux d'inhibition de la croissance mycélienne:

Pour évaluer l'efficacité de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp Vis-à-vis des isolats de *Fusarium*, nous avons calculé le taux d'inhibition **I(%)** de la croissance radiale en appliquant la formule standard de Leroux (1985) suivante:

$$I(\%) = \left(1 - \frac{Cn}{C0}\right) \times 100$$

Où :

**I(%)** : est le taux d'inhibition de la croissance mycélienne,

**Cn** : Diamètre moyen de colonie en présence de l'antagoniste (mm/j)

**C0** : le diamètre moyen des colonies témoins (mm/j).

### **IV.5.4. Evaluation du mycoparasitisme des souches de *Trichoderma* vis-à-vis de FOP:**

Le phénomène de mycoparasitisme a été étudié à l'aide des mêmes boîtes de doubles culture que celles utilisées pour évaluer la croissance du mycélium du champignon cible.

Les activités antagonistes des souches de *Trichoderma* sont notées selon l'échelle de Bell et al. (1982) qui se note de 0 à 4 où:

0: absence totale d'invasion de la colonie du champignon pathogène.

1: invasion de  $\frac{1}{4}$  de la colonie pathogène.

2: invasion de  $\frac{1}{2}$  de la colonie pathogène

3: invasion totale de la colonie pathogène.

4: correspondant à une invasion complète accompagnée de la production de spores.

Des coupes microscopiques ont été également réalisées dans la zone d'interaction entre les deux champignons au cours des premiers stades de leur croissance conjointe, dans le but de mettre en évidence des manifestations de parasitisme telles que l'enroulement des filaments fongiques et la formation de courtes boucles autour des hyphes des champignons pathogènes. Ces observations ont été effectuées à l'aide d'un microscope optique équipé d'un objectif  $\times 40$ .

# Chapitre 05:

## Résultats et discussion

## Rédultats et discussion

### V.1.Résultats

#### V.1.2. Isolement et purification duchampignon phytopathogène :

Après avoir collecté des échantillons de plantes de haricot commun dans la région de Hassi Mameche(Mostaganem), nous avons procédé à l'isolement du champignon. Les fragments de tissus infectés ont été désinfectés puis ensemencés sur un milieu PDA afin d'obtenir le développement des colonies fongiques primaires.

Pour garantir l'homogénéité génétique et réaliser des expérimentations fiables, une étapes essentielle de purification a été menée en utilisant la technique de culture monospores.

Cette méthode nous a permis d'obtenir des cultures pures et exemptes de tout contaminant.

Parmi les colonies obtenues, 5souches distinctes appartenant au genre *Fusarium*, et plus spécifiquement à l'espèce *Fusarium oxysporum* f.sp. *Phaseoli*, ont été sélectionnées et purifiées avec succès. Ces souches pures ont été conservées de manière adéquate pour servir de base à la suite de nos travaux d'évaluation de la lutte biologique.

#### V.1.3. Identification de l'agent causal :

##### V.1.3.1. Identificariion de l'agent causal *Fusarium* :

L'observation microscopique met en évidence des hyphes hyalines et septées, des conidiophores courts, simples et peu ramifiés portant des monophialides, des microconidies abondants, unicellulaires à parfois bicellulaires, ellipsoïdales à cylindriques, produits en foussettes, des macroconidies falciformes, hyalines, à paroi mince, et des macroconidies falciformes, majoritairement à 2-3 septa (Tbleau 6), caractéristiques compatibles avec la description morphologique classssque de l'espèce *Fusarium oxysporum* selon la discription de Booth (1971) :

**Tableau 6 : Caractères morphologiques des isolats de *Fusarium* :**

| Caractéristiques                |                       | S1                                                                  | S2                                                                  | S3                                                                  | S4                                                                  | S5                                                                  |
|---------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Caractéristiques macroscopiques | Anneaux concentriques | Aucun                                                               | 2                                                                   | Aucun                                                               | Aucun                                                               | Aucun                                                               |
|                                 | Couleur des conidies  | Hyaline                                                             | Hyaline                                                             | Hyaline                                                             | Hyaline                                                             | Hyaline                                                             |
|                                 | Couleur de la gélose  | Rose à jaunâtre                                                     | Rose saumon                                                         | Jaunâtre à rosé                                                     | Rose saumon                                                         | Jaunâtre                                                            |
|                                 | Structure mycélien    | Cotonneux et dense                                                  | Duveteux et ras                                                     | Cotonneux et dense                                                  | Cotonneux et dense                                                  | Radial et cotonneuse lache                                          |
| Caractéristiques microscopiques | Conidiophores         | Courts et peut ramifiés                                             | Courts et peut ramifiés                                             | Courts et peut ramifiés                                             | Courts et peut ramifiés                                             | Courts et peut ramifiés                                             |
|                                 | Phialides             | courts                                                              | courts                                                              | Courts                                                              | courts                                                              | Courts                                                              |
|                                 | Conidies              | Microconidies ovales(0-1 septum)<br>Macroconidies en faucille( 2 à3 | Microconidies ovales(0-1 septum)<br>Macroconidies en faucille( 2 à3 | Microconidies ovales(0-1 septum)<br>Macroconidies en faucille( 1 à2 | Microconidies ovales(0-1 septum)<br>Macroconidies en faucille( 2 à3 | Microconidies ovales(0-1 septum)<br>Macroconidies en faucille( 2 à3 |

|  |                            | septa)                                                                                           | septa)                                                                                               | septa)                                                                                              | septa)                                                                                             | septa)                                                                                           |
|--|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>Taille des conidies</b> | Macroconidie longueur (4-11 µm) ; largur (2 µm). Microconidie longueur (3-6 µm) ; largeur (2 µm) | Macroconidie longueur (4-11 µm) ; largur (1-3 µm). Microconidie longueur (3-6 µm) ; largeur (1-2 µm) | Macroconidie longueur (3-7 µm) ; largur (1-2 µm). Microconidie longueur (3-6 µm) ; largeur (1-2 µm) | Macroconidie longueur (6-16 µm) ; largur (1-2 µm). Microconidie longueur (3-5 µm) ; largeur (1 µm) | Macroconidie longueur (4-11 µm) ; largur (2 µm). Microconidie longueur (3-6 µm) ; largeur (2 µm) |

### V.1.3.2. Caractérisation de *Trichoderma* spp :

La caractérisation préliminaire des isolats de *Trichoderma* s'est basée sur des critères morphologiques macroscopiques (couleur, texture des colonies, le nombre d'anneaux concentriques) et microscopiques (morphologie des conidiophores et des conidies, forme des phialides ect...). Pour les premiers caractères, nous avons utilisé le milieu de culture PDA. Les différentes souches diffèrent sur la plupart des caractères ; ainsi leurs colonies diffèrent au niveau du nombre d'anneau concentriques, l'aspect du mycélium, la couleur de la colonie (tableau 7). Sur le plan microscopique ces souches diffèrent par la forme et la taille de leurs conidies. Ces résultats suggèrent que nous sommes en présence d'espèces différentes.

Tableau 7 : Caractères morphologiques des isolats de *Trichoderma* :

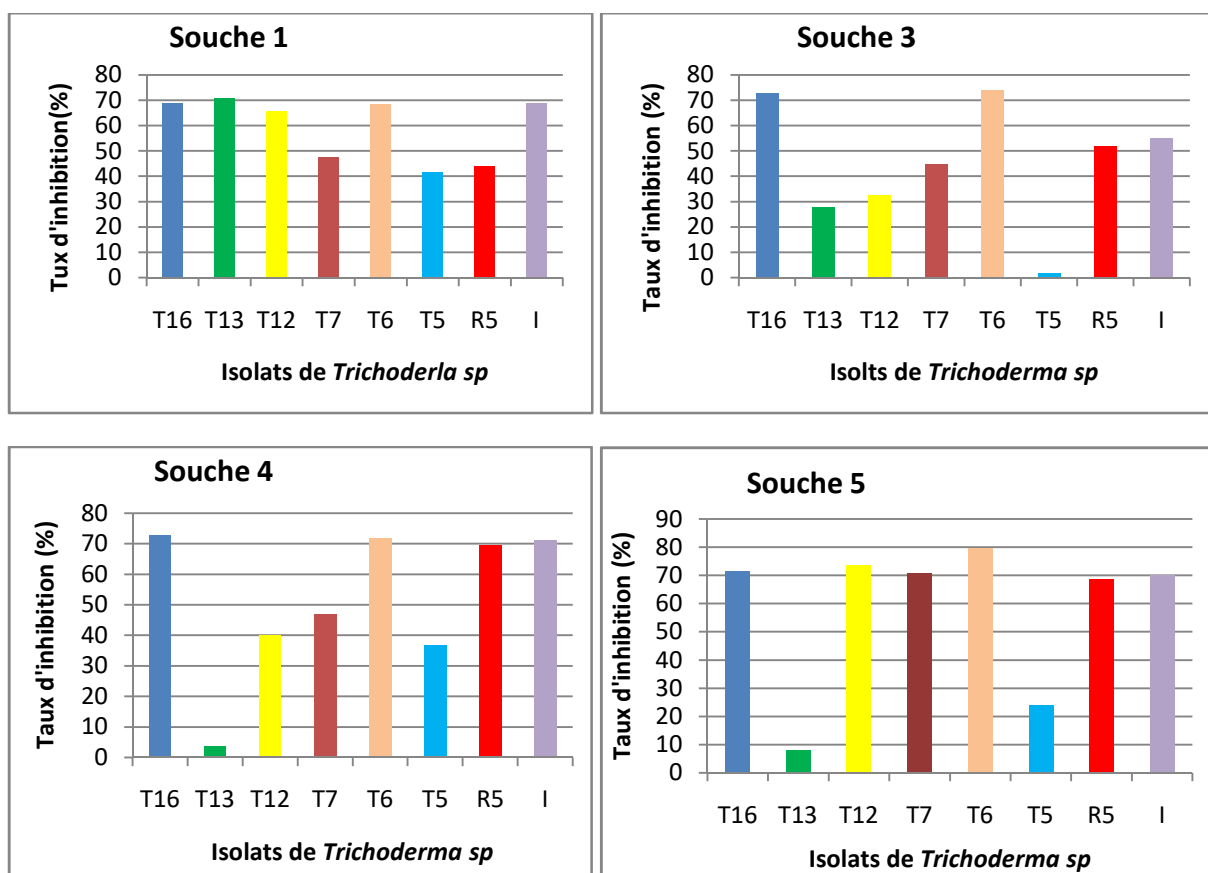
| Caractéristiques          |                       | T16                                | T13                                                       | T12                                       | T7                                                      | T6                                               | T5                                         | R5                                            | I                                         |
|---------------------------|-----------------------|------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Caractères macroscopiques | Anneaux concentriques | 3                                  | 1 Ou 2                                                    | 3                                         | 3                                                       | 3                                                | 2                                          | Aucun                                         | 2                                         |
|                           | Couleur des conidies  | Vert clair                         | Vert foncé/blanc                                          | Vert foncé                                | Jaune/blanc/vert clair                                  | Vert                                             | vert                                       | Blanc/vert clair                              | Vert                                      |
|                           | Couleur de la gélose  | Blanc                              | Pigement jaune orangé intense et diffus                   | Pigment jaune orangé intense et diffusant | Blanc                                                   | blanc                                            | Blanc                                      | Blanc                                         | Pas de diffusion de couleur ni de pigment |
|                           | Structure du mycélium | Mycélium aérien présent            | Initialement lisse, de couleur blanc aqueux, et clairsemé | Mycélium aérien présent                   | Mycélium aérien présent                                 | Mycélium aérien présent                          | Présence de mycélium aérien                | Mycélium aérien présent                       | Absence de mycélium aérien                |
|                           | odeur                 | Noix de coco                       | Murier blanc ou cocotier                                  | Noix de coco                              | Noix de coco                                            | Noix de coco                                     | Pas d'odeur particulière                   | Noix de coco                                  | Aucune odeur particulière                 |
| Caractere                 | conidiophores         | Très ramifié et s'étendant vers le | Très ramifié et étalé le sommet en forme de pyramide      | Très ramifié et s'étendant vers           | Très ramifié et étalé vers le haut en forme de pyramide | Très ramifié et s'étendant vers le haut en forme | Très ramifié et s'étendant vers le haut en | Simple, ramifié unilatéralement ou par paires | Très ramifié étalé vers le haut en forme  |

|  |                  | haut en<br>forme de<br>pyramide                                            |                                                                                                       | le haut<br>en<br>forme de<br>pyrami<br>de                                  |                                                                                                      | de<br>pyramide                                                             | form de<br>pyramide                                                         |                                                                                       | de<br>pyramide                                                              |
|--|------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
|  | <b>phialides</b> | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6µm | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6µm                            | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6µm | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 µm                          | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6µm | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 µm | 8 µm de long, présent à l'extrémité des branches primaires, secondaires et tertiaires | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 µm |
|  | <b>conidies</b>  | 2 à 4µm globuleux à subglobuleux                                           | Parois lisses, se couleure vert pale, de forme oblongue ou ellipsoïdale. Longueur moyenne de 2 à 4 µm | 2 à 4µm globuleux à subglobuleux                                           | Forme globuleuse à subglobuleuse ou ovoïde, oblongue ou ellipsoïdale. Longueur moyenne de 2.5 à 4 µm | 2 à 6µm globuleux à subglobuleux                                           | 2 à 6 µm globuleux à subglobuleux                                           | Globulaires à subglobulaires ou ovoïdes, de 2 à 4 µm                                  | Globulaires. Longueur moyenne de 2 à 4 µm                                   |

## V.1.4. Evaluation in vitro du potentiel antagoniste de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de FOP :

### V.1.4.1. Croissance mycélienne du parasite confronté à FOP :

Les résultats des tests d'inhibition in vitro des huit isolats anticellulaires (T16, T13, T12, T7, T6, T5, R5, I) contre les cinq souches pathogènes (pathogènes 1, 2, 3, 4 et 5) une variation notable et statistiquement significative du pourcentage d'inhibition de la croissance des filaments fongiques (figures 1, 3, 4 et 5).



**Figure11 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOP en présence de *Trichoderma sp***

De manière générale, une activité antifongique très efficace a été observée contre la souche pathogène 5, l'isolement T6 se distinguant par le taux d'inhibition absolu le plus élevé de toute l'expérience, atteignant 79,70 %, suivi de près par les isolats T12 et T7 avec un taux de 73,68 %. De même, la souche 3 du pathogène présente une forte sensibilité, notamment face à l'isolement T6 qui a induit un taux d'inhibition de 74,07 %, et à l'isolement T16 avec un taux de 72,84 %. En ce qui concerne la souche 1, l'isolement T13 conserve d'excellentes performances avec un taux de 71,04 %, tandis que les isolats T16 et I confirment un effet parfaitement identique avec un taux de 68,85 %. En ce qui concerne la souche 4, bien que l'évaluation se soit limitée au sixième jour, l'isolement T16 a enregistré une efficacité remarquable de 72,47 %, tandis que les isolats T7 et T12 ont enregistré des taux de 47,01 % et 40,01 % respectivement, ce qui confirme l'inhibition précoce de leur effet. En revanche, la souche 2 du pathogène constitue la principale exception de cette étude ; l'absence totale de croissance dans son tube témoin a entraîné l'annulation du calcul des taux d'inhibition (0 %), ce qui indique cliniquement un échec de la vaccination ou un phénomène de stimulation de la croissance par les isolats antagonistes.

### **V.1.4.2. Résultats d'une étude sur l'évolution temporelle de la croissance mycélienne d'isolats de *Fusarium oxysporum* (FOP) en présence d'un champignon antagoniste (*Trichoderma sp.*) :**

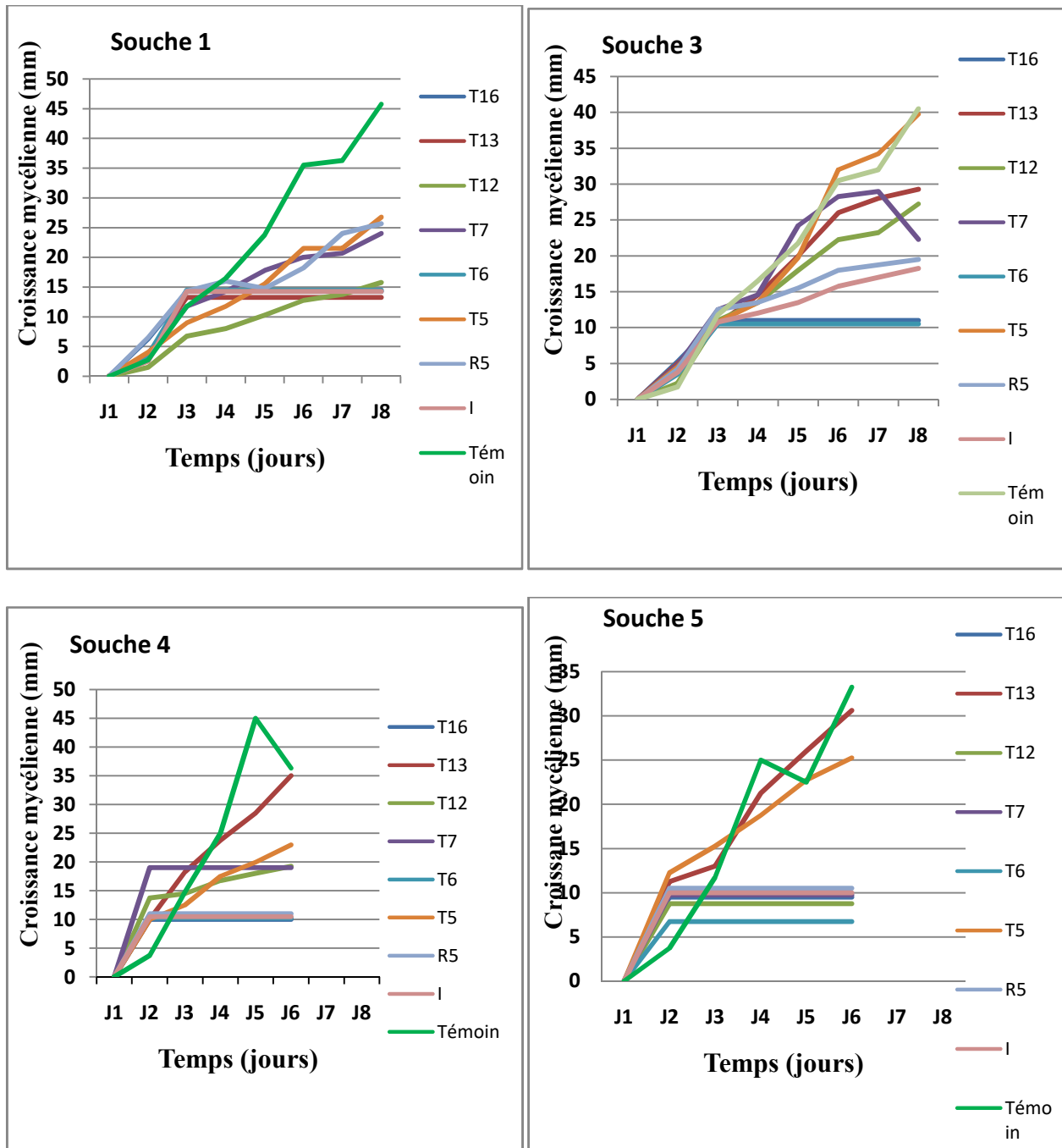
Les graphiques (1, 3, 4, 5) illustrent l'évolution temporelle de la croissance mycélienne (en millimètres) de cinq souches du champignon pathogène *Fusarium oxysporum f. Sp.* (FOP) sous l'effet de différents agents et isolats du champignon de lutte biologique *Trichoderma sp.*, sur une période d'incubation de 8 jours. L'analyse des courbes graphiques permet de classer le comportement des souches cibles et leur réponse en trois profils principaux :

#### **Premier type : la réponse inhibitrice classique (Souches 1 et 4) :**

Le témoin (Témoin) des deux souches a présenté une croissance normale, ascendante et rapide, atteignant son pic au huitième jour avec un taux de croissance compris entre 45 et 46 mm. En revanche, les traitements biologiques (T) ont entraîné un freinage précoce et marqué de cette croissance. Dans la souche 1, le développement mycélien de la plupart des traitements s'est arrêté après le troisième jour (J3), se stabilisant aux alentours de 15 mm. Ce comportement marquant s'est reproduit dans la souche 4 (Souche 4), où la plupart des isolats testés sont réussis à limiter la croissance en dessous de la barre des 10 mm, ce qui confirme la forte sensibilité de ces deux souches aux composés métaboliques ou aux mécanismes d'antagonisme propres au champignon *Trichoderma*.

#### **Deuxième profil : réponse motrice inverse (Souche 3) :**

Contrairement au premier type, le groupe témoin (Témoin) de souche 3 a enregistré une croissance très faible, voire quasi nulle, tout au long de l'expérience (elle n'a pas dépassé 5 mm). Au lieu de présenter un effet inhibiteur, les isolats expérimentaux, et en particulier les deux traitements (T5 et T13), ont joué un rôle stimulant (Stimulateur) sur la croissance du champignon pathogène ; la courbe de croissance a ainsi bondi pour dépasser la barre des 41 mm dans la souche 3 au huitième jour (J8).



**Figure 12: Evolution temporelle de la croissance mycélienne de FOP en présence des isolats de *Trichoderma sp***

**Troisième profil : inhibition collective spécifique (souche 5) :**

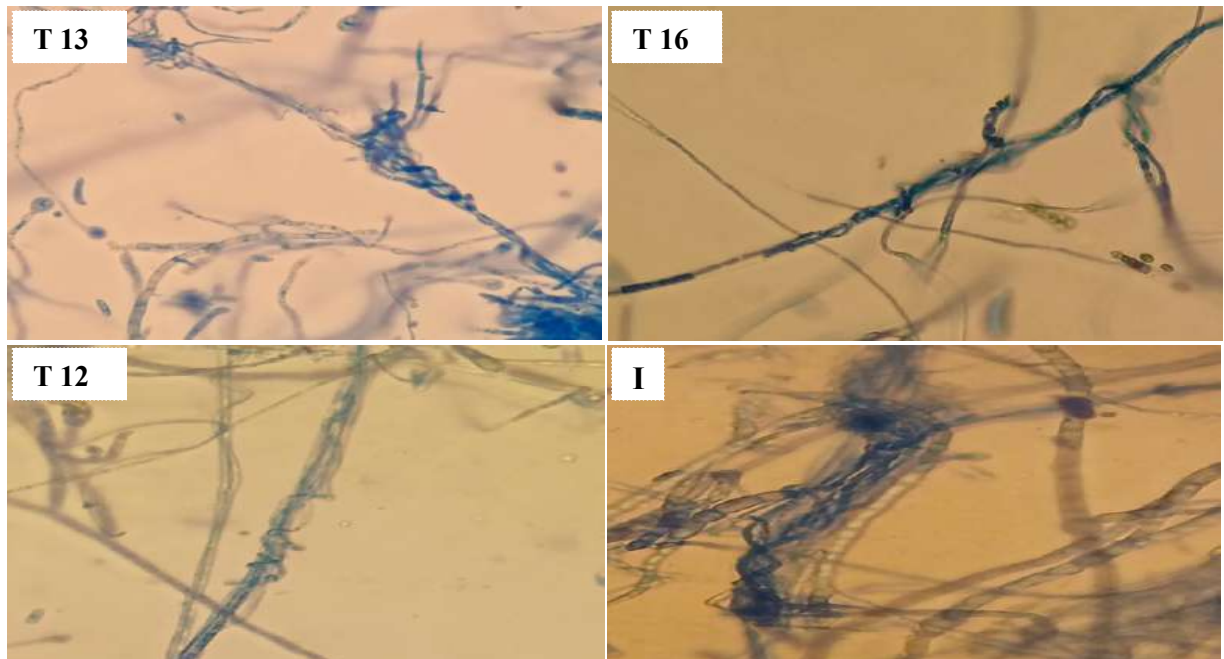
La souche 5 s'est caractérisée par un profil de réponse binaire et extrêmement précis. Au cours des trois premiers jours (J1 à J3), la croissance était homogène et similaire pour toutes les lignées (environ 10 mm). Mais à partir du quatrième jour, une divergence marquée est apparue : le témoin et l'isolement (T12) ont poursuivi leur croissance libre et rapide pour atteindre 36 mm, tandis que les autres isolats expérimentaux (T16, T13, T7... etc.) ont subi une inhibition totale et soudaine, ce qui a fait que leurs courbes se sont stabilisées complètement à l'horizontale à la même valeur jusqu'au huitième jour.

### V.1.4.3 Mise en évidence du comportement mycoparasitaire des isolats testés :

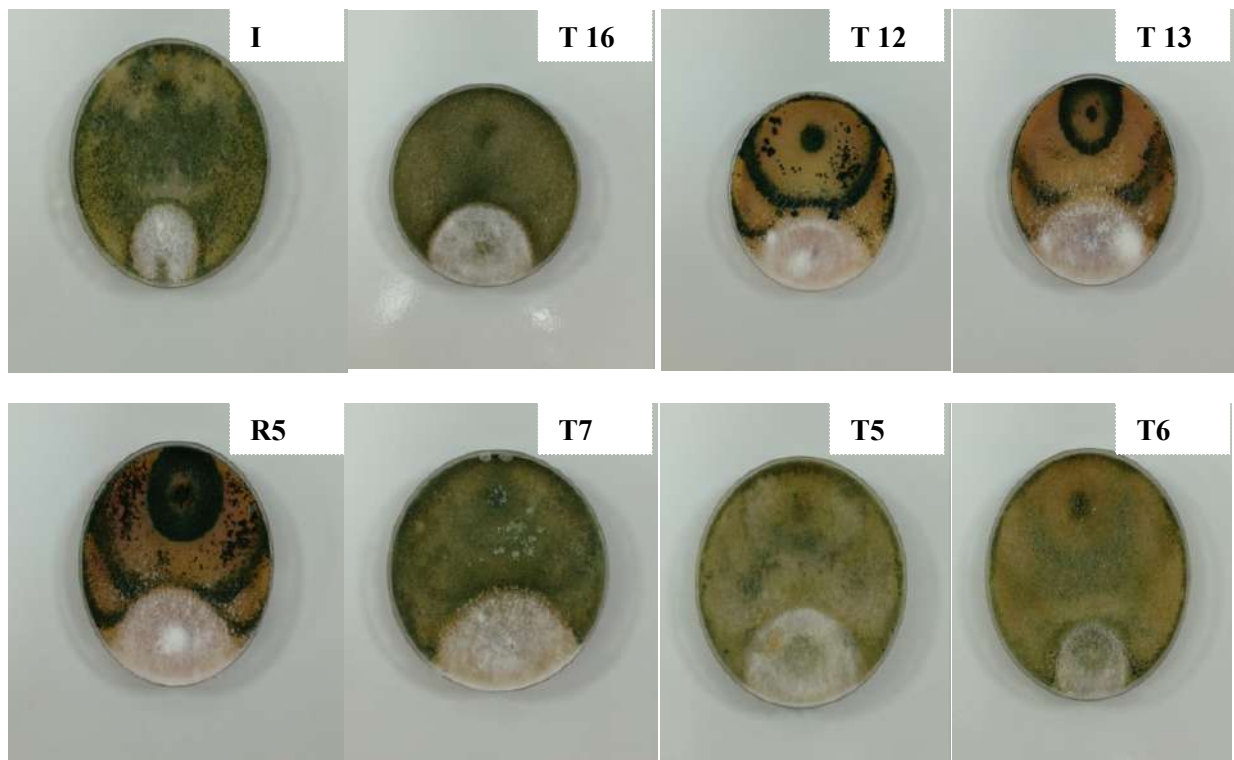
Les observations visuelles (à l'œil nu) des confrontations directes révèlent un comportement mycoparasitaire très agressif de la part de nos isolats, notamment T6, T13 et T16, à l'égard des colonies du champignon pathogène. En effet, après la formation de la ligne de contact entre les deux champignons, on a observé une colonisation superficielle rapide, caractérisée par l'imbrication des filaments fongiques de nos isolats et leur envahissement progressif du mycélium du champignon cible. Nos souches antagonistes ont ainsi réussi à stopper complètement la croissance radiale du pathogène en recouvrant entièrement sa surface, ce qui démontre une hégémonie compétitive absolue sur l'espace et la nourriture.

Au niveau microscopique, cette interaction physique directe se manifeste par des mécanismes de confrontation cellulaire évidents ; on observe en effet un enroulement hélicoïdal serré et étroit des filaments (hyphes) de nos souches autour des filaments du champignon pathogène, ce qui a entraîné l'étranglement de ces derniers et leur arrêt complet.

Cette action mécanique est complétée par une activité enzymatique des tructrice, qui se manifeste clairement par l'apparition de zones de dégradation dans la paroi cellulaire du champignon pathogène, ainsi que par une altération de la forme de ses filaments, qui se sont vidés de leur contenu cytoplasmique (phénomène de vacuolisation) et se sont complètement désagrégés. Ces observations confirment que la capacité de nos souches à lutter biologiquement repose essentiellement sur un processus d'invasion fongique directe, qui décompose et détruit le champignon pathogène.



**Figure 13: Observation microscopique de l'interaction des hyphes des antagonistes testé avec celles du pathogène (x40)**



**Figure 14 : Effect in vitro des isolats de *Trichoderma* vis-à-vis de FOP après 8 jours de confrontation.**

## **V.2. Discussion:**

La confrontation directe entre la cinétique temporelle du développement mycélien et les taux d'inhibition moustiques (Taux d'inhibition %) permet d'élucider les mécanismes de compétition et d'antagonisme physique directs entre *Trichoderma sp.* et les cinq souches de FOP:

### **V.2.1. Mécanismes de compétition spatiale et mycoparasitisme (Souches 1, 4 et 5):**

Le plateau horizontal de croissance observe précocement après le troisième jour (J3) coïncide parfaitement avec les taux d'inhibition élevés des isolats T16 et I (> 75%). Dans un système de confrontation directe, cet arrêt net de croissance s'explique par la vitesse de colonisation supérieure de *Trichoderma sp.*, qui monopolise l'espace et les nutriments disponibles (Compétitions patio-nutritionnelle), privant ainsi le pathogène de toute extension (Harman, 2006). De plus, à partir du 3ème jour (moment de contact entre les deux colonies), le processus de mycoparasitisme direct s'enclenche: *Trichoderma* s'enroule autour des hyphes de FOP et secrete localement des enzymes lytiques (chitinasés) pour perforer le mycelium pathogène (Chet & Chernin, 2002). Cela justifie la chute de croissance et les taux d'inhibition records observés dans les histogrammes.

**Sélectivité et absence de reconnaissance (Souche 5):** Le clivage observé après le troisième jour pour la cinquième souche (Souche 5) illustre la spécificité de la reconnaissance cellulaire. Le faible taux d'inhibition de l'isolat T12 (< 10%) et sa courbe continue montrent une absence d'affinité ou de contact antagoniste efficace avec cette souche. En revanche, l'homogénéité des taux d'inhibition élevés (65% à 80%) des autres isolats (T16, T13, T7) prouve une forte aptitude à envahir directement le mycélium de la souche 5 dès le contact physique (Vinale et al., 2008).

**V.2.2. Interprétation de la stimulation induite (Souche 3):** La croissance exacerbée de souche 3 en présence de T5 et T13 met en évidence une réaction de stress ou de contournement de la part du pathogène. En confrontation directe, si l'isolat de *Trichoderma* a une vitesse de croissance initiale plus lente ou une faible agressivité, le contact physique peut induire un mécanisme de défense compensatoire chez le *Fusarium*. Ce dernier accélère sa croissance pour échapper à l'encerclement (phénomène de fuite mycélienne face au stress mécanique) (Boddy, 2000).

De plus, le retard extrême de croissance observé chez les témoins (0 à 5 mm) par rapport aux cultures mixtes suggère que la présence physique de certains isolats de *Trichoderma* (T5, T13) a paradoxalement levé une auto-inhibition ou stimulé le métabolisme de croissance de cette souche particulière.

# Conculsion générale

# Conculsion générale

## Conculsion générale:

Cette étude a constitué une étape scientifique essentielle pour évaluer le potentiel antagoniste et l'efficacité inhibitrice de différents isolats du champignon de lutte biologique *Trichoderma sp.* Contre quatre souches du phytopathogène *Fusarium oxysporum f. Sp.* (FOP), à travers un test de confrontation directe ayant permis le suivi cinétique du développement mycélien et le calcul des taux d'inhibition sur une période d'incubation de huit jours.

Les résultats intégrés ont mis en évidence une nette variabilité qualitative dans la réponse physique des souches pathogènes cibles, confirmant que les mécanismes antagonistes directs ne sont pas absolus mais régis par la compatibilité biologique et la reconnaissance cellulaire entre l'antagoniste et son hôte. Ce phénomène s'est traduit par un succès probant de la majorité des isolats testés (particulièrement T16 et I) à juguler la croissance des souches 1, 4 et 5 en bloquant cinétiquement leur extension par une compétition spatio-nutritionnelle précoce après le troisième jour, enregistrant ainsi des taux d'inhibition records dépassant le seuil de 75%. À l'inverse, une réponse exceptionnelle et paradoxale a été observée pour la souche 3, qui a souffert d'un retard sévère de croissance, tandis que le contact physique avec certains isolats (tels que T5 et T13) a poussé le pathogène à activer des mécanismes de défense compensatoires, s'expliquant par l'effet d'hormèse ou par un échappement mycélien rapide face au stress mécanique de la confrontation. Il s'avère ainsi que la dynamique antagoniste directe (compétition spatiale suivie d'un enroulement et d'un mycoparasitisme direct) possède une fenêtre temporelle critique, initiant sa pleine efficacité dans les boîtes de Pétri dès le contact physique direct, généralement après le troisième jour d'incubation.

En conclusion, ces données confirment que *Trichoderma sp.* représente une alternative biologique prometteuse dans les programmes de lutte intégrée, à condition de soumettre au préalable les isolats à des tests de compatibilité rigoureux avec les souches locales afin d'éviter tout effet inverse, ouvrant ainsi des perspectives futures majeures telles que la transition vers des essais *in vivo* en serre et en plein champ sur plantes hôtes, la caractérisation biochimique fine des enzymes lytiques (notamment les chitinases) sécrétées lors du contact, l'analyse moléculaire de l'expression génique liée au phénomène d'échappement mycélien, et enfin le développement de bioformulations adaptées pour une application pratique et à large échelle dans la protection des cultures locales.

## Référence :

- Rifai, M.A.m1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycologia.Papers*, 116:1-56
- Scott, I.T. 1923. The influence of hydrogen-ion concentration on the growth of *Fusarium lycopersici* and on tomato wilt. *Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin* 64. :Marseille; 77p.
- Adamo, W. A., Tadesse, Y. B., &Fedilu, K. B. (2024). "Evaluation of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Varieties against Angular Leaf Spot and Fusarium Wilt Diseases under Field Conditions in Ari Zone, South Ethiopia".*ISARJournalofScienceandTechnology*,2(11),35-41.
- Alabouvette, C., Schippers, B., Lemanceau, P., and Bakker, P.A.H.M. 1998. Biological control of *Fusarium* wilts. Toward development of commercial products, p. 15-36. In G.L. Boland and L.D. Kuykendall (eds),*Plant-MicrobeInteractions and BiologicalControl*.MarcelDekker Inc., New York.
- Armstrong, G.N. et Armstrong, J.K., 1981. *Formae speciales and races of Fusarium oxysporum causing wilt diseases*, p. 391-399. In P.E.Nelson, T.A. Toussoun, and R.J. Cook (ed.), *Fusarium: diseases,biology, and taxonomy*. Pennsylvania State University Press, University Park.
- Booth, C. 1971. *The Genus Fusarium*, p. 237. Common wealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England.
- Buruchara, R. A., & Camacho, L. (2000). "Common bean reaction to *Fusarium oxysporum*f.sp.*phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa". *Journal of Phytopathology*, 148(1), 39-46.
- Caron, J. (2002). Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma*. Conférence présentée lors des journée horticoles régionales à St-Rémi, Agri-Réseau
- Cournut.B.1984.Legenre*Trichoderma* hyphomycètes.Th.Pharmacie
- Djeugap, F.J., Mefire, M.h., Nguefack, J. N., Gueguim, M.et Fontem, D.A.(2014). Effet variétal et du traitement fongicide sur la sévérité de la maladie des taches angulaires et le rendement du haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) à l'Ouest-Cameroun. *International Journal of Biological and chimical sciencse*. 8(3): 1221-1233.
- Baskaran, R., Usha Devi, A., Nayak, C. A., Kudachikar, V. B., Keshava Prakash, M. N., Prakash, M.,Ramana, K. V. R., & Rastogi, N. K. (2007). Effect of low-dose  $\gamma$ -irradiation on the shelf life andquality characteristics of minimally processed potato cubes under modified atmosphere packaging.*Radiation Physics and Chemistry*, 76(6), 1042-1049. <http://dx.doi.org/10.1016/j.radphyschem.2006.10.004>.
- Amanuel G.S., Kihne R.F., Tanner D.G., Vlek P.L.G. (2000). Biological nitrogen fixation in faba bean(*Vicia faba* L.) in the Ethiopian highlands as affected by P fertilization and inoculation. *Biol. Fertil.Soils*. 32, 353-359
- Brigide, P., Canniatt-Brazaca, S. G., & Silva, O. (2014). Nutritional characteristics of biofortified common beans. *Food Science and Technology (Campinas.)*, 34(3), 493-500. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457x.6245>
- Fortin, J. (1996). *Le guide des aliments*. (Eds.), Québec Amérique Inc, canada.137-139.

- Gepts, P. (1990). Biochemical Evidence Bearing on the Domestication of Phaseolus (Fabaceae) Beans. *Economic Botany*, 44(3): 28-38.
- Lemma D, Yayeh Z, Helath E (2003). Agronomic studies on Tomato and Capsicum. Pp.153. In: E. Helath and Lemma Dessalegne (Eds). *Horticultural Research and Development in Ethiopia*. Proceedings of the second Horticultural work shop of Ethiopia, 1-3 December, 1992. Addis Abeba, Ethiopia.
- Delgado-Salinas, A., Bibler, R., & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the genus *Phaseolus* (Leguminosae): a recent diversification in an ancient landscape. *Systematic Botany*, 31(4), 779-791.
- Freitag, G. F., & Debouck, D. G. (2002). Taxonomy, Distribution, and Ecology of the Genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionodeae) in North America, Mexico and Central America. *Taxonomía, distribución y ecología del género Phaseolus (Leguminosae-Papilionodeae) en Norteamérica, México y Centroamérica*. SIDA, Botanical Miscellany.
- Wortmann, C. S. (1998). Atlas of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) production in Africa (No. 297). CIAT.
- Nyabyenda, P. (2005). Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique: généralités, légumineuses alimentaires, plantes à tubercules et racines céréales. Presses agronomiques de Gembloux.
- Purseglove, J. W. (1968). *Tropical Crops: Dicotyledons*, Longmans, Longmans, London.
- Bailey, L.H. (1975). *Manual of Cultivated Plants*, 15th ed., Macmillan Publishing Co., New York.
- Porch, B., SJ, D., GD, J., & AS, K. DJ, & Dempewolf, H. (2013). Use of Wild Relatives and Closely Related Species to Adapt Common Bean to climate Change. *Agronomy*, 3(2), 433-461.
- Canado, I. C., Doussinague, C., & Villena, E. (2003). *Technicien en agriculture*. Ed. Cultural S. A. Madrid.
- Nassary, E. K., Baijukya, F., & Ndakidemi, P. A. (2020). Assessing the Productivity of Common Bean in Intercrop with Maize across Agro-Ecological Zones of Smallholder Farms in the Northern Highlands of Tanzania. *Agriculture*, 10(4), 117.
- Hamd-Alla, W., Ahmed, N., & Hefzy, M. (2020). Enhance productivity and net economic return by intercropping sunflower (*Helianthus annuus* L.) with common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) under drip irrigation. *European Journal of Biological Research*, 10(2), 57-73.
- Singh S.P., 1992. Common bean improvement in the tropics. *Plant Breed. Rev.*, 10, 199-269.
- SILUE S., JACQUEMIN J. (2010): Utilisation des mutation induites pour l'étude de l'embryogenèse chez le haricot *P. vulgaris* L. et de deux plantes modèles, *Arabidopsis thaliana* (L.) Haynh. Et *Zea mays* L. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* P195-205.

-HUBERT P., 1978- Recueil de fiches techniques d'agriculture spéciale à l'usage des lycées agricoles à Madagascar Antananarivo, BDPA.

-DUPONT F., GUIGNARD J.L., 1989. Haricot nain (Bulletin des variétés). Edit. Masson. Collection :Abrégés pharma. Paris. 510P.

-Franc, G. D., &Harveson, R. M. (2022). Dry Bean: Fusarium Wilt (*Fusariumoxysporum* f. Sp. Phaseoli). High Plains IPM Guide: A cooperative effort of the University of Wyoming, University of Nebraska, Colorado State University and Montana State University. Bugwoodcloud

-Gams, W., &Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*.In G. E.Harman & C.P. Kubicek (Eds.),*Trichodermaand Gliocladium: Basic Biology, Taxonomy and Genetics* (Vol. 1, pp. 3-34). Taylor & Francis.

-Hamoir, J., Goret, M., Mignon, B., and Gustin, P. 2001. Actualité sur les antifongiques enregistrés en Belgique dans le cadre du traitement des dermatophytoses. *Ann. Med. Vet.* 145:226-232.

-Harman G.H. Kubicek, C.P. (1998). *Trichoderma and Gliocladium*, vol2, enzymes biological control and commercial applications. Taylor and francis, London.393 pg.

-Henni, J.E. 1998. Morphologie, pouvoir pathogène et diversité génétique chez *Fusarium oxysporum*f.sp. *lycopersici*. Thèse de Doctorat d'état. Université d'Oran. 171 p.

-<https://www.musalit.org/seeMore.php?id=19531>

- Kerényi, Z., Oláh, B., &Hornok, L. (2004). Association of mating type genes with sexual sterility in *Fusariumoxysporum* and related species. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(11), 4419-4422.

-Landreau, A.2001.Métabolites d'unesouche de *Trichoderma koningii* Oudemans isolée du milieu marin: Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th.: Pharmacie: Nantes: 201 p.

-Le mycoparasitisme et les mécanismes d'action de *Trichoderma* sp. Comme agent de biocontrôle. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*, ISSN: 2448-0959, RC: 55550

- Leslie, J. F., &Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing

- Ngoya,Z.J., Mkindi,A. G., Vanek, S.J.,Stevenson,P.C., Ndakidemi,

-Oyesola, O. L., Kinge, R. T., &Obembe, O. O. (2025). *Trichoderma: A Review of Its Mechanisms of Action in Plant Sustainable Disease Control*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1492(1), 012008. Doi.org

P. A., &Belmain, S. R. (2024). Pesticidal Plant Treatments Combined with Improved Soil Fertility Can Reduce Damage Caused by *Fusarium Wilt* (*Fusariumoxysporum* f. Sp. Phaseoli) and Bean Fly (*Ophiomyiaphaseoli*) in Common Bean Production (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plants*, 13(10), 1345.

-Pivkin M.V.,2000.Filamentousfungiassociatedwith holoturiansfrom the Sea of Japan, offthe Primorye coast of Russia. *Biol. Bull.*, 198 (1): 101-109.

- Source:<https://gd.eppo.int/taxon/FUSAPH>.

- Ullah, S., Mostert, D., Serfontein, K., &Viljoen, A. (2021). The survival and treatment of *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Cubense* in water. *Journal of Fungi*, 7(10), 796.

- Uysal, N., Uysal, İ., Ávila-Mascareño, M. F., Cervantes-Enriquez, E. P., Parra-Cota, F. I., & de los Santos-Villalobos, S. (2026). *Fusarium Wilt: A Comprehensive Review of the Biology, Ecology, and Management of the Causal Agent*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 111435.

## ANNEXE

### Annexe 1 : Milieu de culture PDA

Faire cuire 200 g de pommes de terre pelées, lavées et coupées en tranches fines dans 1 l d'eau pendant 1 h. Filtrer sur plusieurs couches d'étamine puis presser pour exprimer le liquide restant. Ajouter 20 g de glucose et 15 à 20 g de gélose. Compléter à 1 l si nécessaire.

Autoclaver

15 mn à 121 °C.

### Annexe 2 : Milieu de culture PDB, selon Atlas (2010) :

- Infusion de pomme de terre : 200 g (environ 200 g de pommes de terre tranchées, bouillies dans 1 L d'eau)

- Dextrose (Glucose) :

20 g

- Eau distillée :

1 L pour compléter le volume

### Synthetic Nutrient Deficient Agar (SNA)

TN 1017 500 g



#### Intended use

Culture medium for cultivating yeasts and moulds in particular in plant culture.

#### Form

Powder

#### Colour

Beige

#### Storage

Dry, tightly closed, at 10...25 °C.

#### Shelf life

5 years

#### Typical composition

| Component                      | g/l  |
|--------------------------------|------|
| Glucose                        | 0.2  |
| Sucrose                        | 0.2  |
| Potassium dihydrogen phosphate | 1    |
| Potassium nitrate              | 1    |
| Magnesium sulfate anhydrous    | 0.25 |
| Potassium chloride             | 0.5  |
| Agar                           | 14   |

#### Directions

Suspend 17.2 g in 1 litre distilled water and heat until completely dissolved. Autoclave for 15 minutes at 121 °C.

#### Final pH at 25 °C

5.4 ± 0.2

#### Microbiological quality control

Incubate Synthetic Nutrient Deficient Agar (SNA) aerobically for 44-48 hours at 30 ± 1 °C.

| Test strain                   | ATCC no. | CFU / plate | Colony morphology                |
|-------------------------------|----------|-------------|----------------------------------|
| <i>Candida albicans</i>       | 10231    | 10-100      | small white opaque colonies      |
| <i>Escherichia coli</i>       | 8739     | 10-100      | small white opaque colonies      |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 9027     | 10-100      | small white transparent colonies |