

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES



DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master II

Spécialité : Biotechnologie des plantes aromatiques, médicinales  
et des produits naturels

## THEME

Evaluation de l'activité antagoniste des isolats de  
*Trichoderma* spp. et de leurs parties protéiques, vis à vis de  
*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. agent responsable  
du mildiou de la pomme de terre en Algérie.

Présenté par : BOUAKAZ Khalida

Devant le jury composé de :

M <sup>me</sup> BELGUENDOZ.R	M.C.B	U.S.D.B	Président du jury
M <sup>me</sup> MOUMENE.S	M.C.B	U.S.D.B	Promotrice
M <sup>me</sup> HAMICHE.A	M.C.B	U.S.D.B	Examinatrice
M <sup>me</sup> SAHRAOULF	M.C.B	U.S.D.B	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015/2016

## Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant qui m'a guidé et m'a permis de réaliser ce modeste travail.

Mes sincères remerciements et ma profonde gratitude s'adresse :

A Madame Moumene Saida ma promotrice pour avoir bien voulu guider ce travail, pour la pertinence et la qualité de ses remarques, ses corrections et ses conseils.

A Monsieur Moumene mon ex directeur général de l'INPV pour ses qualités humaines, pour l'opportunité qu'il m'a donnée pour être parmi les étudiantes de Madame Moumene, pour la confiance qu'il m'a accordé et qui m'a permis d'effectuer mon travail dans les meilleurs conditions.

A l'ensemble des membres de jury de thèse d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail et pour m'avoir fait l'honneur de leur présence, il s'agit de :

M<sup>me</sup> BELGUENDOZ .R, M<sup>me</sup> HAMICHE .A et M<sup>me</sup> SAHRAOUI .F.

Mon profond respect et mes plus vifs remerciements vont particulièrement à Madame ZOUAI Cherifa, directrice de laboratoire central de diagnostic(LCD) qui a été pour moi une source d'aide, de conseils et d'encouragements durant toute la période de la réalisation de ce travail.

Mes remerciements vont aussi, à Madame Hamdi, chef de service de mycologie pour m'avoir permis d'effectuer ce travail dans un cadre agréable.

Un grand merci à M<sup>r</sup> LAZAR Chef de département de LAA pour son aide.

J'adresse aussi, mille mercis à ma copine et sœur OUSSAID Yamina pour ses précieux conseils et pour son soutien affectif sans faille et à tous les membres de sa famille.

Je suis particulièrement reconnaissante à ma collègue Boubetra Souhila, pour sa disponibilité exceptionnelle, son encouragement et surtout son soutien moral.

Je remercie M<sup>me</sup> LETIFI Samira chef de service de bactériologie à l'Institut National de la Protection des Végétaux(INPV) pour m'avoir permis d'effectuer la partie spectrophotomètre dans son laboratoire.

Je remercie également M<sup>me</sup> Touil et M<sup>r</sup> Zebboudj pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire, pour leur gentillesse et leur modestie.

Je tiens aussi à remercier vivement toutes les personnes auprès desquelles j'ai trouvé l'appui nécessaire pour l'élaboration du présent travail :

Belletrache.M, Beninal. L, Itouchen. D, Malika ,Zahira ,Zahia et Farida.

Un grand merci à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

*Khalida*

# Sommaire

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Liste des annexes

	Page
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
 <b>CHAPITRE 1 : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	 <b>3</b>
1.1 Généralités sur la pomme de terre.....	3
1.1.1 Origine et historique.....	3
1.1.2 Aspects botaniques.....	3
1.1.3 Reproduction et stades de développement.....	6
1.1.4 Importance économique de la pomme de terre.....	6
1.1.5 Situation de la pomme de terre en Algérie.....	7
1.1.6 Principaux problèmes phytosanitaires de la pomme de terre.....	11
1.2 Généralités sur la maladie .....	12
1.2.1 Introduction.....	12

1.2.2 Historique.....	12
1.2.3 Symptomatologie .....	13
1.2.4 Importance et dégâts.....	14
1.2.5 Cycle biologique .....	15
1.2.6 Conditions de développement de la maladie.....	17
1.3 GÉNÉRALITÉS SUR L'AGENT PATHOGÈNE .....	17
<hr/>	
1.3.1 Taxonomie.....	17
1.3.2 Aspect cultural et morphologique.....	17
1.4 Lutte contre la maladie.....	19
1.4.1 Alerte et surveillance.....	19
1.4.2 Lutte culturale.....	19
1.4.3 Lutte chimique .....	20
1.4.4 Lutte génétique.....	20
1.4.5 Lutte biologique .....	21
1.5 Généralités sur <i>Trichoderma</i> spp.....	22

1.5.1 Taxonomie.....	22
1.5.2 Morphologie .....	24
1.5.3 Ecologie et biologie.....	25
1.5.4 Mode d'action de <i>Trichoderma</i> spp .....	25
<b>CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>29</b>
2.1 Matériel biologique.....	29
2.1.1 Matériel fongique.....	29
2.1.2 Matériel végétal.....	30
2.2 Etude de l'activité antagoniste <i>in vitro</i> des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	30
2.2.1 Méthode de confrontation directe .....	30
2.2.2 Evaluation de l'activité antagoniste <i>in vitro</i> des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	31
2.3 Etude de l'activité antifongique des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	32
2.3.1 Préparation des extraits enzymatiques .....	32

2.3. 2 Dosage des protéines totales des extraits enzymatiques .....	33
2.3.3 Evaluation de l'activité antifongique <i>in vitro</i> des extraits enzymatiques de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	34
2.4 Etude du pouvoir fongicide <i>in vitro</i> des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. et de leurs extraits enzymatiques sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	36
2.5 Etude de l'activité antifongique <i>in vivo</i> des extraits enzymatiques des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	36
2.5.1 Préparation du tissu végétal.....	36
2.5.2 Inoculation et incubation.....	36
2.5.3 Lecture des résultats.....	37
2. 6 Etude de l'activité enzymatique des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	37
2.6.1 Activité protéolytique .....	37
2.6.2 Activité chitinolytique.....	37
2. 7 Analyse statistique.....	37
<b>CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>38</b>
3.1 Activité antagoniste <i>in vitro</i> des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora</i> <i>infestans</i> .....	38
3.1.1 Inhibition de la croissance mycélienne.....	38

3.1.2 Inhibition de la sporulation et la germination .....	40
3.2 Evénements mycoparasitaires des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur les isolats de <i>Phytophthora infestans</i> .....	41
3.3 Activité antifongique <i>in vitro</i> des extraits enzymatiques des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	44
3.3.1 Dosage des protéines des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	44
3.3.2 Evaluation de l'activité antagoniste <i>in vitro</i> des extraits enzymatiques de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	46
3.3.3 Evénements mycoparasitaires sous l'effet des extraits enzymatiques.....	57
3.3.4 Etude du pouvoir fongicide <i>in vitro</i> des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. et leurs extraits sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	59
3.4 Etude de l'activité antagoniste <i>in vivo</i> des extraits enzymatiques des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur <i>Phytophthora infestans</i> .....	63
3.5 Etude de l'activité enzymatique de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu solide.....	64
<b>CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>67</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>70</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>84</b>



## Résumé

### **Evaluation de l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. et de leurs parties protéiques, vis à vis de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. agent responsable du mildiou de la pomme de terre en Algérie.**

Le présent travail vise l'étude du pouvoir antifongique *in vitro* et *in vivo* des extraits protéiques des filtrats de cultures de 13 isolats de TRICHODERMA SPP. issus de la rhizosphère des plants de pomme de terre d'Algérie VIS A VIS DE deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

La plus importante concentration en protéines a été enregistrée pour l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TK (25,36 µg/ml) alors que, la plus faible correspond à l'isolat TL (20,47 µg/ml). Pour les extraits enzymatiques intracellulaires, une importante concentration en protéines a été enregistrée seulement pour l'isolat TM (46,30 µg/ml) mais, révélée plus faible pour celui de TJ (28,74 µg/ml).

Aussi, les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires ont montré un faible pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne, mais moyen sur la sporulation et la germination des deux isolats de *Phytophthora infestans*.

De même, l'activité des extraits enzymatiques de l'ensemble des isolats antagonistes n'a pas affecté la morphologie des isolats phytopathogènes.

Par ailleurs, l'activité protéolytique des isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. a révélé une importante zone protéolyse pour les isolats TH et TM (10,3mm) alors qu'elle s'est avérée plus faible pour l'isolat TF (8,3mm). Cependant, aucune zone chitinolyse n'a été détectée pour l'ensemble des isolats, concernant l'activité chitinolytique.

Il est important de signaler aussi l'expression des symptômes des deux isolats de *Phytophthora infestans* sur les disques foliaires de la variété Spunta de pomme de terre même après traitements par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des filtrats de cultures des isolats de *Trichoderma* spp.

**Mots clés:** *Phytophthora infestans*, *Trichoderma* spp., extraits protéiques, activité antifongique .

## **Abstract**

### **Evaluation of the antagonist activity of *Trichoderma* spp. isolates and their protein parts, against *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. the causal agent of late blight of potatoes in Algeria.**

The present work aims the study of *in vitro* and *in vivo* antifungal power of protein extracts of culture filtrates of 13 isolates of *Trichoderma* spp. from the rhizosphere of potato plants in Algeria against A1 and A2 of *Phytophthora infestans* isolates.

The most important protein concentration (25.36 ug / ml) was recorded for the extracellular enzyme extract of the isolate TK, while the lowest (20.47 ug / ml) corresponds to isolate TL. For intracellular enzyme extracts, a significant protein concentration (46.30 ug / ml) was registered only for the isolate TM but was lowest for the TJ isolate (28.74 ug / ml).

Also, the extracellular and intracellular enzyme extracts showed low inhibitory power on mycelial growth, but medium on sporulation and germination of two isolates of *Phytophthora infestans*.

Similarly, the activity of the enzyme extracts of all antagonistic isolates did not affect the morphology of the plant pathogenic isolates.

Moreover, the proteolytic activity of antagonists isolates of *Trichoderma* spp. revealed a significant proteolysis area (10,3mm) for TH and TM isolates while, it has proven to lower (8.3mm) concerning the TF isolate. However, no chitinolyse area was detected for all isolates, concerning chitinolytic activity.

It is important to report the symptom expression of two isolates of *Phytophthora infestans* on discs leaves of the Spunta potato cultivar even after treatment by extracellular and intracellular enzyme extracts filtrate culture isolates of *Trichoderma* spp.

**Keywords :** *Phytophthora infestans*, *Trichoderma* spp, protein extracts, antifungal activity.

## ملخص

تقييم نشاط العدائي للعزلات من صنف *Trichoderma spp.* وللجزء البروتيني ضد عزل من سلالة *(Mont.) Bary. Phytophthora infestans* العامل المسبب للبياض الزغبي للبطاطا في الجزائر.

يهدف هذا العمل إلى دراسة فعالية المضادة للفطريات في التجارب المختبرية وفي الجسم الحي لخلاصات من البروتين لرواشح 13 عزلة من الترايكوديرما *TRICHODERMA SPP.* متحصل عليها من منطقة الجذور للنبات البطاطا من اصل جزائري بالنسبة لعزلتين A1 A2 و لفيتوفثورا *Phytophthora infestans*.

تم تسجيل أكبر تركيز البروتيني بالنسبة لخالصة إنزيم الخارجي للخلية من طرف العزلة TK (25,36 ميكروغرام / مل)، بينما أضعف تركيز سجل من طرف العزلة TL (20,47 ميكروغرام / مل). بالنسبة لخالصات الانزيمية الداخلية للخلية، أكبر تركيز البروتيني سجل من طرف TM (46,30 ميكروغرام / مل)

بينما أقل تركيز سجل من طرف TJ (28,74 ميكروغرام / مل).

أيضا، أظهرت خلاصات الأنزيمية الخارجية و الداخلية للخلية عن ضعف القوة المثبطة لنمو الفطر، ولكن المتوسط على تبوغ وإنبات العزلتين A1 A2 و لفيتوفثورا *Phytophthora infestans*.

كذلك ، فإن نشاط الخلاصات الأنزيمية لجميع العزلات العدائية لم يؤثر على مورفولوجيا السلالات الممرضة النباتية

لفيتوفثورا *Phytophthora infestans*.

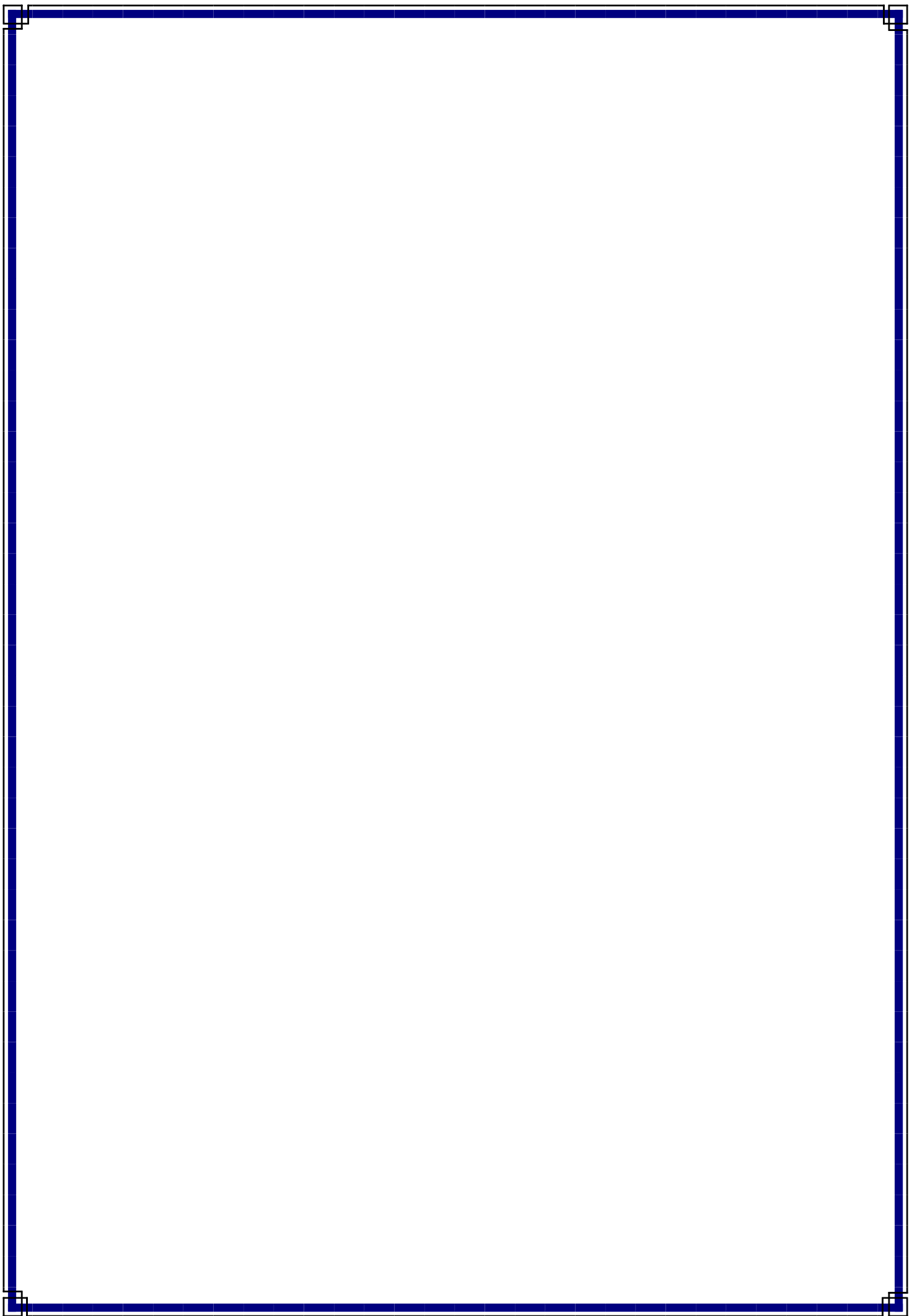
إضافة إلى ذلك ، فإن النشاط بروتوليتيك لعزلات الترايكوديرما *Trichoderma spp.* كشفت عن وجود منطقة التحلل البروتيني كبيرة بالنسبة للعزلتين TM و TH (10,3 مم). في حين قد أثبت هذا النشاط ضعف منطقة التحلل البروتيني بالنسبة للعزلة TF (8,3 مم).

بالنسبة للنشاط كيتوليتيك ، لم يتم اكتشاف أي منطقة التحلل البروتيني لجميع عزل *Trichoderma spp.*

بيّن هذا العمل أيضا عن ظهور أعراض لعزلتين A1 A2 و لفيتوفثورا *Phytophthora infestans* على أقرص لأوراق البطاطا من نوع سيونتا بعد العلاج بخلاصات الأنزيمية الخارجية و الداخلية للخلية لعزلات الترايكوديرما *Trichoderma spp.*

## الكلمات المفتاحية :

نشاط المضادة للفطريات، خلاصات بروتينية، *Phytophthora infestans, Trichoderma spp.*



## Liste des figures

	Page
<b>Figure 1</b> : Morphologie de la pomme de terre (Soltner, 2005) .....	5
<b>Figure 2</b> : Production de la pomme de terre dans le monde (FAOStat,2013).....	7
<b>Figure 3</b> : Symptôme du mildiou sur feuilles (a), tiges (b) et tubercules (c).....	14
<b>Figure 4</b> : Cycle de développement du mildiou (Haine et Verlaine, 2006).....	16
<b>Figure 5</b> : Aspect cultural de <i>Phytophthora infestans</i> .....	18
<b>Figure 6</b> : Aspect morphologique de <i>Phytophthora infestans</i> .....	18
<b>Figure 7</b> : Les sections systématiques de <i>Trichoderma</i> spp. avec quelques espèces, selon Bissett (1991).....	23
<b>Figure 8</b> : Aspect cultural des isolats A1 et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> .....	29
<b>Figure 9</b> : Technique de confrontation directe.....	30
<b>Figure10</b> : Pouvoir inhibiteur des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur la croissance mycélienne de l'isolat de <i>Phytophthora infestans</i> .....	38
<b>Figure11</b> :Analyse de la variance selon le modèle GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> par les isolats antagonistes de <i>Trichoderma</i> spp.....	39
<b>Figure 12</b> : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> selon les isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	41
<b>Figure 13</b> : Modifications structurales de la morphologie des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> sous l'effet antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp.....	42
<b>Figure 14</b> : Courbe d'étalonnage de Sérum Bovine Albumine.....	45
<b>Figure 15</b> : Analyse de la variance en modèle GLM des concentrations en protéines selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	46
<b>Figure 16</b> :Pouvoir inhibiteur des extraits enzymatiques extracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.sur la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> après 04jours d'incubations.....	48
<b>Figure 17</b> : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp .....	49

<b>Figure 18:</b> Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp.	50
<b>Figure 19 :</b> Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.	52
<b>Figure 20 :</b> Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> (A1et A2) selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp....	53
<b>Figure 21 :</b> Analyse de la variance selon le modèle GLM de taux d'inhibition de la germination des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> (A1et A2) par les extraits enzymatiques extracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.....	55
<b>Figure 22 :</b> Analyse de la variance selon le modèle GLM de taux d'inhibition de la germination des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> (A1et A2) par les extraits enzymatiques intracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.....	56
<b>Figure 23 :</b> Effet des extraits enzymatiques des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur la morphologie des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> .....	57
<b>Figure 24 :</b> Analyse de la variance selon le modèle GLM de la croissance mycélienne des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> préalablement inhibés par les extraits enzymatiques extracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.....	61
<b>Figure 25 :</b> Analyse de la variance selon le modèle GLM de la croissance mycélienne des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> préalablement inhibés par les extraits enzymatiques intracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.....	62
<b>Figure 26 :</b> Symptôme du mildiou développé sur le disque foliaire /duvet blanchâtre sur la face inférieure pour l'isolat témoin et l'isolat traité par l'extrait enzymatique .....	63
<b>Figure 27 :</b> Activité enzymatique de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu Czapek-Dox Agar.....	64

## Liste des tableaux

	Page
<b>Tableau 1 :</b> Tableau récapitulatif des superficies, des productions, des rendements de la pomme de terre durant la campagne 2013/2014(MADR, 2014)...	9
<b>Tableau 2 :</b> Les ravageurs et maladies de la pomme de terre (Rolot et Vanderhofstadt,2014).....	11
<b>Tableau 3 :</b> Préparation des dilutions de la courbe d'étalonnage.....	34
<b>Tableau 4 :</b> Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> par les isolats antagonistes de <i>Trichoderma</i> spp.....	39
<b>Tableau 5 :</b> Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats A1 et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> par les isolats antagonistes de <i>Trichoderma</i> spp.....	40
<b>Tableau 6 :</b> Analyse de la variance des concentrations en proteines selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	45
<b>Tableau 7 :</b> Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1et A2 de <i>Phytophthora infestans</i> selon le type d'extraits enzymatiques des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	47
<b>Tableau 8 :</b> Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> (A1et A2) selon le type d'extrait enzymatique des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	51
<b>Tableau 9 :</b> Analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp.....	54
<b>Tableau 10 :</b> Analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de <i>Phytophthora infestans</i> préalablement inhibés par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.....	60
<b>Tableau 11 :</b> Activité protéolytique de 13 isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	66

## Liste des abréviations

### Divers

**ANOVA**: Analysis of variance

**Arg** : Arginine

**BBC G-250**: Brillant Bleu de Coomassie

**CNCC** : Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants

**CMD** : Agar semoule de maïs de dextrose (Corn Meal Dextrose)

**DDL** : Degré de liberté

**D.O** : Densité optique

**DSA** : Direction des Services Agricoles

**FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations

**ELR** : Elicitin Resistance

**G.L.M** : General Linear Model

**Gr** : Grossissement

**h** : heure

**His** : Histidine

**ITCMI** : Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles

**JAE** : Jours après l'émergence

**MADR** : Ministère de l'Agriculture et du développement Rural

**M.C.B** : Maître de conférence classe B

**Lys** : Lysine

**OECD** : Organization for Economic Co-operation and Development

**P** : Probabilité

**P** : *Phytophthora*

**PDA** : Potato Dextrose Agar

**PPA** : Petit Pois Agar

**Prod** : Production

**Rdt** : Rendement

**SBA** : Sérum Bovine Albumine

**Sup** : Superficie

**T** : *Trichoderma*

**UE** : Union Européenne

**USDA-ARS** : United States Department of Agriculture - Agricultural Research Service



**U.S.D.B** : Université Saad Dahleb de Blida

**6pap** : 6-pentyl-alpha-pyrone

**Produits chimiques:**

**Na NO<sub>3</sub>** : Nitrate de sodium

**Mg SO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O** : Sulfate de magnésium heptahydraté

**Fe SO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O** : Sulfate de fer heptahydraté

**Zn SO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O** : Sulfate de zinc heptahydraté

**Cu Cl<sub>2</sub>** : Chlorure de cuivre

**Mn Cl<sub>2</sub>, 4 H<sub>2</sub>O** : MANGANÈSE(II) TÉTRAHYDRATÉ

**K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>** : Phosphate de Potassium Dibasique

**KCl** : Chlorure de potassium

## Liste des annexes

	Page
<b>Annexe 1</b>	
Composition du milieu petit pois.....	84
Composition du milieu de culture PDA.....	84
Composition du milieu Czapeck dox (modifié).....	84
Composition de la solution aqueuse d'oligo-éléments.....	84
Composition du milieu Czapek-Dox Agar (modifié).....	84
<b>Annexe 2</b>	
Composition du tampon tris-glycine .....	85
Composition du Réactif de Bradford.....	85
<b>Annexe 3</b>	
<b>Tableau 1</b> : Densité optique (D.O.) de chaque dilution de la solution Sérum Bovine Albumine(SBA).....	86
<b>Tableau 2</b> : Densité optique (D.O.) et concentration en protéines des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. dans chaque extrait enzymatique extracellulaire.....	86
<b>Tableau 3</b> : Densité optique (D.O.) et concentration en protéines des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. dans chaque extrait enzymatique intracellulaire.....	86

# INTRODUCTION

## Introduction

La pomme de terre est classée au quatrième rang mondial des cultures vivrières, derrière le maïs, le riz et le blé (FAO, 2014). Elle est cultivée dans plus de cent pays d'Afrique, d'Asie, d'Australie, d'Europe, d'Amérique du Nord et d'Amérique du Sud (USDA-ARS, 2014).

En plus de son importance dans l'alimentation, elle est aussi utilisée par voies biotechnologiques dans la production des vaccins contre le diabète et l'hépatite (Arakawa et *al.*, 1999).

Cependant, elle peut être la cible de nombreuses maladies causées par différents agents pathogènes, qui peuvent toucher tant les plants de la pomme de terre que les tubercules en conservation (Hooker, 1981).

En effet, la maladie la plus importante de la pomme de terre dans le monde est sans conteste le mildiou, causée par *Phytophthora infestans*, de la classe des oomycètes. Elle continue de causer des dégâts dans toutes les régions où les conditions d'environnement lui sont favorables (Salazar, 1996).

Cette maladie redoutable a provoqué dans les années 1840, la grande famine européenne marquée par la mort d'un million d'Irlandais et l'exil d'un autre million et demi vers les USA et le Canada (Pam, 1998). Ces dernières années, des souches extrêmement virulentes de cet agent pathogène, la plupart résistantes aux fongicides synthétiques courants ont fait leur apparition, créant de nouveaux défis pour les producteurs de pommes de terre et de tomates (Powelson, 1998).

En Algérie, les wilayate de Chlef et Ain-Defla, au centre-ouest du pays, régions potentiellement cultivées en pomme de terre, ont été littéralement frappées par l'épidémie du mildiou, qui s'était déclenchée au mois d'avril, pour s'étendre et affecter progressivement, près du tiers de cette importante spéculation maraîchère (CAW, 2007). Cependant, la lutte contre les maladies fongiques des plantes d'une manière générale et du mildiou plus particulièrement est basée sur l'utilisation de fongicides, engendrant le plus souvent des problèmes de toxicité aux consommateurs lorsqu'ils sont appliqués sur les fruits et légumes (Zhang et *al.*, 1997).

Récemment, le changement dans l'attitude du public envers l'utilisation des pesticides chimiques et des fumigants comme le bromure de méthyle a poussé les chercheurs à trouver d'autres alternatives comme l'utilisation des biopesticides non polluants de l'environnement (Yedida et *al.*, 1999).

Ainsi, dans le but de limiter les problèmes qui sont dus à la lutte chimique, on s'est orienté vers la lutte biologique à l'aide de différents isolats de *Trichoderma* spp. . Cette lutte est une bonne alternative pour une agriculture durable afin de surmonter les problèmes d'intérêt public associés à des pesticides et des pathogènes résistants aux pesticides (Akhtar et al., 2008).

Des études récentes ont signalé que, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, et les espèces de *Streptomyces* sont des agents de lutte biologique commerciaux pour contrôler les espèces de *Phytophthora* ( Xiao et al ., 2002, Lozoya-Saldaña ,2006, Fialho, 2010).

En effet, les champignons du genre *Trichoderma* spp. ont la particularité de faciliter l'absorption d'éléments nutritifs du sol par les plantes (Harman, 2011). Ces agents antagonistes ont développé une étonnante capacité à interagir, à la fois parasite et en symbiose, avec différents substrats et les organismes vivants, y compris les plantes et d'autres microorganismes (Harman et Kubicek, 1998). Ce sont les plus résistants aux pesticides et aux toxines (Harman et al., 2004).

Dans ce sens, la présente étude a pour objectif de tester l'efficacité *in vitro* et *in vivo* de 13 isolats de *Trichoderma* spp. et leurs extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires sur deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* agent causal du mildiou de la pomme de terre en Algérie, afin de connaître les composés responsables de la lutte biologique chez *Trichoderma* spp.

*Chapitre 1*

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1.1 Généralités sur la pomme de terre

### 1.1.1 Origine et historique

La pomme de terre *Solanum. tuberosum* subsp. *andigena* a été signalé pour la première fois à l'extérieur de l'Amérique du Sud en 1567, aux îles Canaries (Hawkes and Francisco-Ortega, 1993 ; Ríos et al., 2007); peu de temps après, en 1573, cette sous-espèce était signalée en Espagne continentale (Hawkes, 1990 ; Hawkes and Francisco-Ortega, 1992 ; Romans, 2005). Elle a été adaptée par sélection, aux jours plus longs et au climat des latitudes européennes (OECD, 1997). Les formes ainsi obtenues sont aujourd'hui connues sous le nom de *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* ou *Solanum tuberosum*.

Depuis l'Europe, elle a été transportée jusqu'en Amérique du Nord. Selon l'hypothèse privilégiée par Laufer (1938) et Hawkes (1990), elle pourrait avoir été transportée initialement de l'Angleterre aux Bermudes en 1613, puis des Bermudes au continent nord-américain en 1621. D'après Sauer (1993) le *Solanum. tuberosum* était présent en Inde en 1610 et en Chine continentale en 1700. Il a été apporté en Nouvelle-Zélande par le capitaine Cook en 1769, et présentait un intérêt agricole pour les indigènes Maori en 1840 (Sauer, 1993). Les missionnaires pourraient avoir joué un rôle crucial dans sa dissémination mondiale (Laufer, 1938 ; Sauer, 1993).

En Algérie, la pomme de terre a probablement, été introduite une première fois au XVI<sup>ème</sup> siècle par les Maures andalous qui ont propagé les autres cultures dans la région : tomate, poivron, maïs, tabac... puis, elle est tombée dans l'oubli n'ayant pas suscité d'intérêt. Dans la deuxième moitié du XIX<sup>ème</sup> siècle, les colons l'ont cultivé pour leur usage, car les algériens y sont réticents malgré les disettes successives (Meziane, 1991).

### 1.1.2 Aspects botaniques

La pomme de terre est une plante herbacée, tubéreuse à feuilles caduques, à port dressé, qui peut atteindre 1 m de hauteur, plus ou moins étalé avec l'âge. C'est une vivace grâce à ses tubercules, à condition que le climat leur permettent de survivre à la saison froide, mais qui est cultivée comme une plante annuelle (Benoît, 2012).

Le système racinaire est fasciculé et très ramifié. Il a tendance à s'étendre superficiellement mais peut s'enfoncer jusqu'à 0,8 m de profondeur. Il est constitué de racines adventives qui apparaissent à la base des bourgeons du tubercule ou sur les nœuds des tiges enterrées (Benoît, 2012).

Les feuilles, caduques, alternes, font de 10 à 20 cm de long. Elles sont insérées sur la tige. Elles sont composées *DE* 7 à 9 folioles de forme lancéolée et de tailles hétérogènes.

La pomme de terre présente deux types de tiges : des tiges aériennes, à section circulaire ou angulaire, sur lesquelles sont disposées les feuilles et des tiges souterraines, les stolons, sur lesquelles apparaissent les tubercules. Les tiges souterraines, ou stolons, sont formées par des bourgeons latéraux plus ou moins longs qui naissent à la base des tiges aériennes. Chaque rhizome engendre un tubercule par le grossissement de son extrémité distale (Benoît, 2012) (Figure 1).

L'inflorescence est une cyme qui naît à l'extrémité de la tige. Elle compte d'1 à 30 fleurs, généralement entre 7 et 15. Le nombre d'inflorescences et le nombre de fleurs par inflorescence varient fortement selon les cultivars. Approximativement au moment où s'ouvre la première fleur, une nouvelle tige, qui donnera naissance à une nouvelle inflorescence, se développe à l'aisselle de la feuille proximale. En général, 2 ou 3 fleurs s'ouvrent chaque jour (Benoît, 2012).

Le fruit de la pomme de terre est une baie qui ressemble à une petite tomate. Sa forme peut être sphérique, allongée ou ovoïde, son diamètre varie généralement de 1 à 3 cm et sa couleur peut aller du vert au jaunâtre, ou de marron rougeâtre à violet. Les baies présentent 2 loges et peuvent contenir approximativement de 200 à 400 graines. Elles sont groupées en grappes terminales (Benoît, 2012).



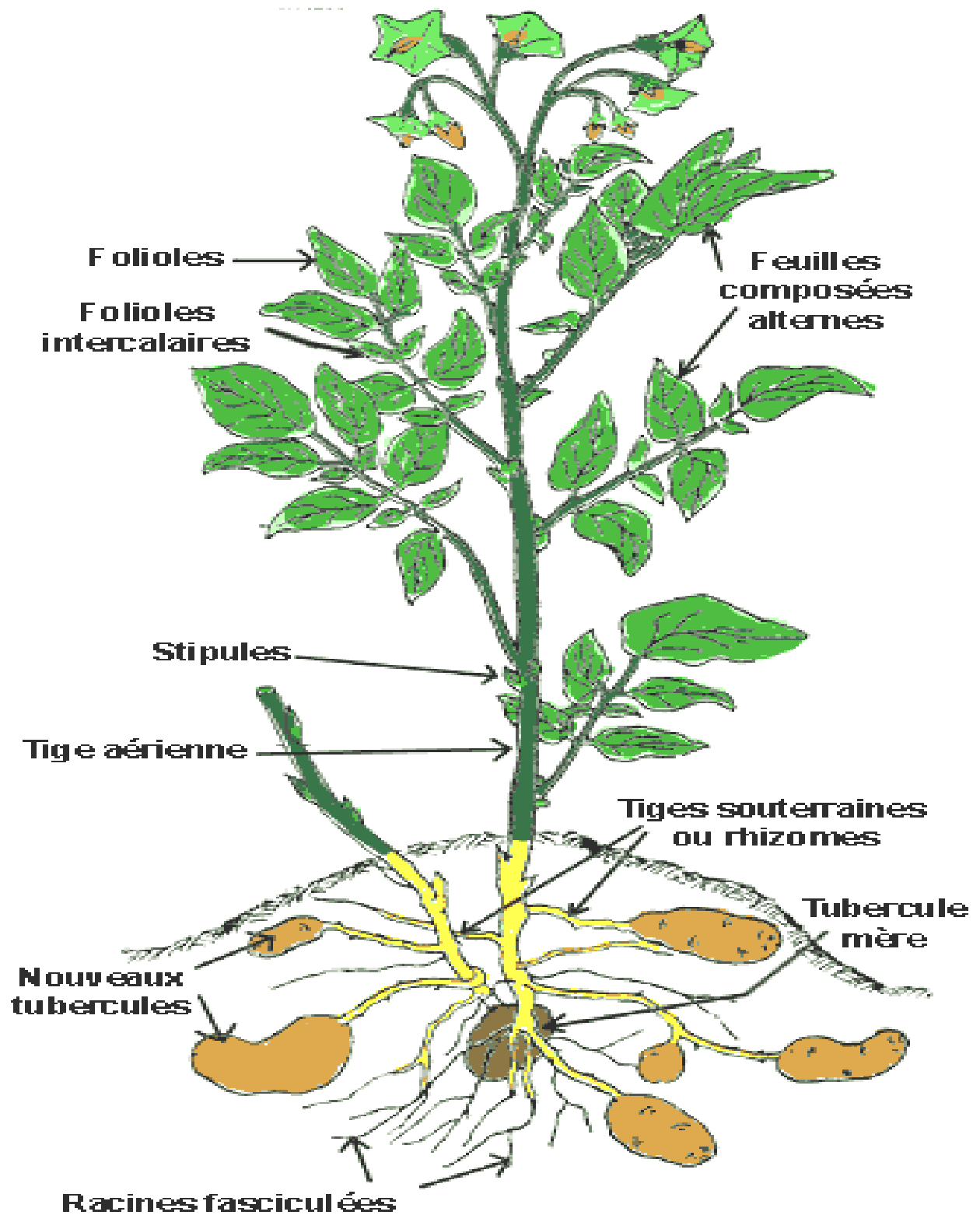


Figure 1 : Morphologie de la pomme de terre (Soltner, 2005).

### **1.1.3 Reproduction et stades de développement**

La pomme de terre peut être reproduite par graine (reproduction sexuée) ou par multiplication végétative. La reproduction par graine est très peu pratiquée dans le milieu agricole. Les tubercules de pomme de terre qui lui confèrent sa valeur alimentaire et économique sont le plus couramment utilisés comme semence. Le cycle de croissance ou de développement de la pomme de terre dure trois à quatre mois. Il peut être divisé en plusieurs stades conditionnés par des facteurs génétiques et environnementaux. Le cycle de développement de la pomme de terre comprend plusieurs stades à savoir :

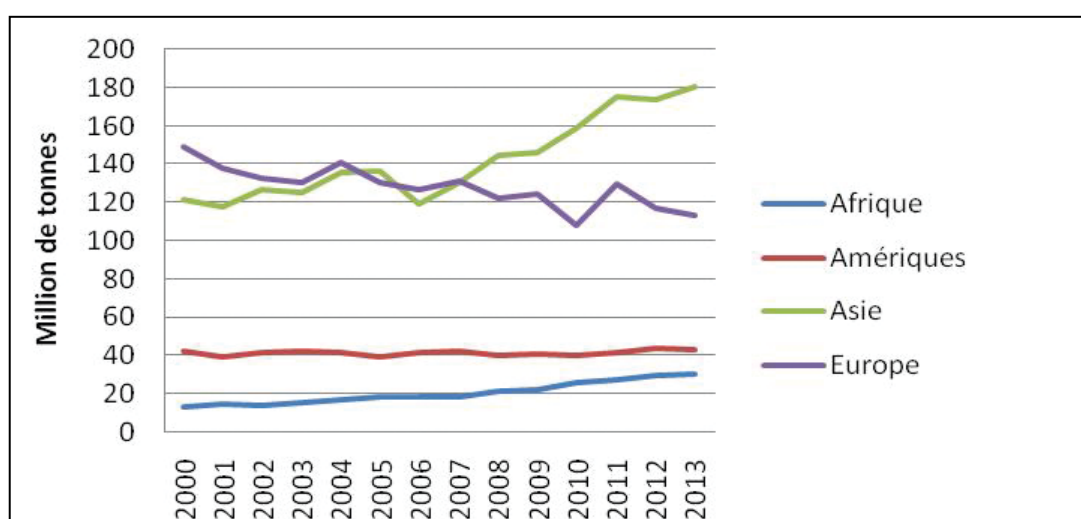
- La germination et l'émergence de la plantule,
- Le développement des feuilles 30 à 40 jours après l'émergence (JAE),
- La formation des tubercules et l'émergence de l'inflorescence 50 à 60 JAE,
- La floraison et le développement des tubercules 60 à 80 JAE,
- Le développement des fruits et la poursuite du développement des tubercules 70 à 90 JAE),
- La sénescence des feuilles et l'arrêt de développement des tubercules 85 à 130 JAE.

La formation du tubercule est optimale lorsque la température est inférieure à 18°C et que les jours sont courts (12 h). Au contraire, le développement de l'appareil végétatif est favorisé par des températures élevées (> 25°C) et des jours longs (entre 14 et 18 h). Le plant de pomme de terre se caractérise par un système racinaire superficiel, sensible aux températures élevées (Kotchi ,2004).

### **1.1.4 Importance économique de la pomme de terre**

La pomme de terre joue un rôle clé dans le système alimentaire mondial. C'est la principale denrée alimentaire non céréalière. La production mondiale a été évaluée en 2013 à plus de 368 millions de tonnes sur 19,4 millions d'hectares. Depuis dix ans, l'accroissement de la culture est le plus marqué dans les pays en voie de développement alors que, dans les pays développés, on observe une stabilité (Amériques) ou une diminution de la production (Europe) (Rolot et Vanderhofstadt, 2014) (Figure 2).

En Afrique, la pomme de terre est très diversement cultivée. En bordure de la mer méditerranéenne, on retrouve les deux principaux producteurs africains ; l’Egypte (4,8 millions de tonnes), où une partie de la production (primeur) part à l’exportation, et l’Algérie (4,4 millions de tonnes), où le produit est classé comme «aliment stratégique» par son importance pour nourrir la population. Les autres pays d’Afrique du Nord sont également des producteurs et consommateurs importants (Maroc et Tunisie). Sous les mêmes latitudes mais dans l’hémisphère sud, on notera également une production importante en Afrique du Sud (2,2 millions de tonnes). Dans toutes ces régions, la pomme de terre, qui peut être cultivée deux fois par an, a pris une place importante dans l’agriculture (Rolot et Vanderhofstadt, 2014).



**Figure 2 : Production de la pomme de terre dans le monde (faostat, 2013)**

## 1.1.5 Situation de la pomme de terre en Algérie

### 1.1.5.1 Superficie et production

En Algérie, la production de la pomme de terre est passée de 1,5 millions de tonnes en 2007 à 4,22 millions en 2012. Par ailleurs, la surface cultivée augmente rapidement, elle a augmenté de 60 000 ha au cours des six dernières années (Agriplan ,2013). Selon les services de statistiques des cultures au niveau du ministère d’agriculture, de développement rural et de la pêche, la production de la pomme de terre enregistrée pour la campagne 2012-2013 est de 48 865 380 qx pour une superficie de 161 156 ha et un rendement de 303,2 qx/ha.

Une légère diminution a été notée pour la campagne 2013-2014 avec une production de 46 735 155 qx pour une superficie de 156 176 ha et un rendement de 299,2qx / ha.

La pomme de terre est cultivée selon trois types de culture: la primeur, la saison et l'arrière saison, ce qui offre des avantages avérés pour une bonne régulation de la pomme de terre sous toutes ses formes (stockage sous froid, transformation et exportation) (ITCMI , 2013).

La saison primeur commence avec la plantation en septembre pour une récolte en janvier et février de l'année suivante (Aagriplan, 2013).

La production totale de pommes de terre primeur pour la campagne 2013- 2014 était de l'ordre de 1 166 525 qx. La wilaya d'Alger, Boumerdes et Tipaza assurent plus de 66% de cette production avec respectivement 184 035 qx, 377 000 qx et 215 410 qx ( MADR , 2014 ) (Tableau 1).

En fonction de la zone climatique (côte, plaine, plateau), la saison principale commence avec la plantation en janvier, jusqu'à mi-mars. La récolte se fait de mi-avril à fin juin (Aagriplan, 2013). La production totale enregistrée pour la campagne 2013- 2014 est de 26 890 290 qx. La production principale se fait dans les wilayas de Ain Defla, El Oued, Mostaganem et Mascara avec respectivement 4 217 950 qx , 4 070 000 qx , 2 845 590 qx et 2 232 875 qx (MADR, 2014 ) ( Tableau 1 ).

La plantation pour l'arrière-saison commence en mi-juillet et se poursuit jusqu'à la fin août. En général la récolte a lieu du début à la fin novembre (Aagriplan, 2013).

La production totale de la pomme de terre d'arrière saison pour la campagne 2013- 2014 a été de 18 678 340 qx.

L'Algérie disposant de larges réserves d'eau souterraines, le secteur d'El-Oued va certainement se développé pour devenir une zone de production clé de pomme de terre (Aagriplan, 2013). Une forte production a été enregistrée au niveau de cette région avec 6 820 000 qx pour une superficie de 22 000 ha et un rendement de 310,0 qx /ha (MADR ,2014) ( Tableau 1).

**Tableau 1 : Tableau récapitulatif des superficies, des productions et des rendements de la pomme de terre durant la campagne 2013/2014 (MADR, 2014).**

Wilaya	Primeurs			Saison			Arrière saison		
	Sup (ha)	Prod (qx)	Rdt (qx/ha)	Sup (ha)	Prod (qx)	Rdt (qx /ha)	Sup (ha)	Prod (qx)	Rdt (qx /ha)
Adrar	307	42 275	137,7	9	1405	156,1	0	0	0,0
Chlef	0	0	0,0	2 614	1130100	432,3	1 987	697 160	350,9
Laghouat	0	0	0,0	1467	427813	291,6	445	129 050	290,0
O.E.Bouaghi	0	0	0,0	203	48 195	237,4	147	21 930	149,2
Batna	0	0	0,0	1615	492 560	305,0	915	263 980	288,5
Béjaïa	41	6 870	167,6	223	43 350	194,4	61	9 990	163,8
Biskra	0	0	0,0	0	0	0,0	90	19 890	221,0
Bechar	0	0	0,0	12	1840	153,3	137	31 647	231,0
Blida	0	0	0,0	826	490 700	594,1	10	2 100	210,0
Bouira	0	0	0,0	2 746	915 159	333,3	2 776	845 340	304,5
Tamanraset	0	0	0,0	18	4851	269,5	47	4 940	105,1
Tébessa	0	0	0,0	1060	360 000	339,6	0	0	0,0
Tlemcen	80	20 100	251,3	3505	1125000	321,0	2 611	630 000	241,3
Tiaret	0	0	0,0	3609	1049293	290,7	1 466	402 350	274,5
Tizi-Ouzou	88	14 345	163,0	460	87255	189,7	575	117 570	204,5
Alger	614	184 035	299,7	1127	485970	431,2	203	63 320	311,9
Djelfa	0	0	0,0	1740	320340	184,1	800	128 270	160,3
Jijel	110	16 090	146,3	370	63615	171,9	44	6 560	149,1
Sétif	0	0	0,0	2450	648982	264,9	83	19 193	231,2
Saida	0	0	0,0	1524	418038	274,3	572	127 145	222,3
Skikda	810	151 640	187,2	3298	836358	253,6	977	188 800	193,2
S.B.Abbes	0	0	0,0	1515	467402	308,5	580	134 657	232,2
Annaba	0	0	0,0	32	6340	198,1	11	2 800	254,5
Guelma	0	0	0,0	500	172065	344,1	2 254	676 473	300,1
Constantine	0	0	0,0	390	101630	260,6	104	27 940	268,7
Médéa	0	0	0,0	1190	333485	280,2	1 024	216 097	211,0
Mostaganem	463	92 600	200,0	8623	2845590	330,0	3 526	811 908	230,3
M'sila	0	0	0,0	490	147000	300,0	300	90 000	300,0
Mascara	0	0	0,0	7372	2232875	302,9	4 803	1 365 750	284,4
Ouargla	0	0	0,0	113	32800	290,3	906	257 300	284,0
Oran	0	0	0,0	149	40260	270,2	85	24 270	285,5
El-Bayadh	0	0	0,0	655	149800	228,7	422	84 330	199,8
Illizi	0	0	0,0	0	0	0,0	4	540	135,0
B.B.Arreridj	0	0	0,0	169	41525	245,7	21	3 880	184,8
Boumerdes	1 300	377 000	290,0	2162	689115	318,7	350	91 000	260,0
El-Tarf	130	24 000	184,6	255	75000	294,1	90	16 850	187,2
Tindouf	0	0	0,0	0	0	0,0	10	1 500	150,0
Tissemsilt	0	0	0,0	98	16910	172,6	90	14 675	163,1
El-Oued	0	0	0,0	11000	4070000	370,0	22 000	6 820 000	310,0
Khenchela	0	0	0,0	112	31000	276,8	19	3 400	178,9
Souk-Ahras	0	0	0,0	1000	260000	260,0	300	75 000	250,0
Tipaza	1 027	215 410	209,7	1408	484220	343,9	1 536	335 840	218,6
Mila	0	0	0,0	1412	549184	388,9	220	55 000	250,0
Ain-Defla	0	0	0,0	12900	4217950	327,0	11 625	3 072 310	264,3
Naama	0	0	0,0	383	66665	174,1	219	39 520	180,5
Ain Temouchent	70	19 020	271,7	208	58250	280,0	68	18 150	266,9
Ghardaïa	10	3 140	314,0	0	0	0,0	135	36 450	270,0
Relizane	0	0	0,0	2893	850400	294,0	2 573	693 465	269,5
<b>Total Algérie</b>	<b>5 050</b>	<b>1 166 525</b>	<b>231,0</b>	<b>83 905</b>	<b>26890290</b>	<b>320,5</b>	<b>67 221</b>	<b>18 678 340</b>	<b>277,9</b>

### **1.1.5.2 Principales zones de production**

La pomme de terre apparaît comme une espèce s'adaptant à différents milieux agro climatiques, c'est ainsi qu'on la retrouve dans toutes les régions du pays. Cependant ses zones de prédilection se situent dans les régions où les potentialités terre– eau sont les plus disponibles (ITCM, 2013).

La pomme de terre est cultivée sur tout le territoire, y compris dans les oasis du sud du pays, avec l'apparition récente du bassin spécifique d'El Oued, où la pomme de terre est devenue une spéculation majeure en quelques années. Cependant, si l'on retient les quinze wilayate où elle occupe plus d'un millier d'hectares, on pourra alors distinguer dans les zones du littoral et du sublittoral, trois bassins de production (Chehat , 2008) :

- A l'Ouest, celui constitué par les wilayate de Tlemcen, Mostaganem et Chlef ;
- Au Centre, celui regroupant les wilayate d'Ain Defla, Tipaza, Alger, Boumerdes, Bouira et Tizi- Ouzou ;
- A l'Est, représenté par la wilaya de Skikda sur le littoral et de Guelma, Sétif, Mila et Batna à l'intérieur.

### **1.1.5.3 Importation et exportation de la pomme de terre**

L'import de pommes de terre de semence en Algérie est important, sur une base annuelle 100 000 à 125 000 tonnes de semences sont importées. Plus de 75 % des importations de semences de pommes de terre proviennent des Pays-Bas, le restant étant importé du Danemark, de France, de Belgique et du Royaume-Uni (Agriplan ,2013).

Après avoir largement satisfait les besoins du marché local, la filière de la pomme de terre offre, désormais, des opportunités aux opérateurs pour se lancer dans l'industrie de transformation et gagner des marchés à l'exportation. Avec une production moyenne annuelle de 4,5 millions de tonnes, l'Algérie commence à devenir un véritable gros producteur de pommes de terre, les premières exportations, notamment vers la Russie, ont révélé une bonne appréciation du marché international, par rapport à la qualité de la pomme de terre algérienne. Cette dernière a intéressé quatre pays arabes : les Emirats Arabes Unis, l'Arabie Saoudite, le Qatar et la Tunisie, et quatre autres européens : la Russie, l'Italie, la France et l'Espagne (DSA d'El Oued ,2016).

#### 1.1.5.4 Les variétés de la pomme de terre

Le catalogue national des variétés autorisées à la production et à la commercialisation comprend plus de 150 variétés. Les plus demandées par la production sont pour les peaux rouges: Désirée, Kondor, Bartina, Sarpomira, Kuroda et Rubis. Pour les peaux blanches: Spunta, Timate et Fabula (ITCM , 2013).

#### 1.1.6 Principaux problèmes phytosanitaires de la pomme de terre

La pomme de terre peut être touchée par plusieurs maladies et ravageurs qui peuvent gravement nuire à la croissance végétative et réduire considérablement la productivité de la plante et la qualité des tubercules. Les ravageurs et maladies les plus courantes sont essentiellement d'ordre viral, bactérien et fongique (Tableau 2).

**Tableau 2 : Les ravageurs et maladies de la pomme de terre dans le monde (Rolot et Vanderhofstadt, 2014)**

Bioagresseurs	Nom de la maladie	Nom de l'agent causal
<b>Maladies bactériennes</b>	Jambe noire et/ou pourriture molle	<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>atrosepticum</i>
	Flétrissement bactérien	<i>Ralstonia solanacearum</i>
	Gale commune	<i>Streptomyces scabies</i>
<b>Maladies fongiques</b>	Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>
	Alternariose	<i>Alternaria solani</i>
	Fusariose	<i>Fusarium roseum</i> et <i>Fusarium solani</i>
	Rhizoctone	<i>Rhizoctonia solani</i>
	Dartrose	<i>Colletotrichum coccodes</i>
	Gale poudreuse	<i>Spongospora subterranea</i>
	Gale argentée	<i>Helminthosporium solani</i>
<b>Insectes</b>	Teigne	<i>Phthorimea opercullella</i>
	Pucerons	<i>Aphis nasturtii</i>
		<i>Aulocorthum solani</i>
		<i>Macrosiphum euphorbiae</i>
	Doryphore	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
Taupins	<i>Agriotes obscurus</i>	
	<i>Agriotes sputator</i>	
	<i>Agriotes sordidus</i>	
<b>Nématodes</b>	Nématodes à galles	<i>Meloïdogyne</i> spp.
	Nématodes à kyste	<i>Globodera</i> spp.
<b>Maladies virales</b>	Le virus de l'enroulement	PLRV: Potato Leaf Roll virus
	Le virus Y de la pomme de terre	PVY :Potato virus Y
	Le virus X de la pomme de terre	PVX :Potato virus X
	Le virus A de la pomme de terre	PVA :Potato virus A

## 1.2 Généralités sur le mildiou

### 1.2.1 Introduction

Le mildiou de la pomme de terre, causé par *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary., est l'une des maladies les plus redoutables de cette culture. Elle est présente partout dans le monde là où la culture de la pomme de terre existe et aujourd'hui encore, elle reste le principal facteur limitant à l'échelle mondiale (Duvauchelle et *al.*, 1996). Elle peut également causer des dommages sur d'autres solanacées sauvages et cultivées, en particulier la tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) (Turkensteen, 1978). Cette maladie peut détruire une culture entière en moins de deux semaines, les pertes de rendements atteignent alors 100% (Gaucher et *al.*, 1998). Il est important de souligner que les conséquences des attaques diffèrent selon la période où elles interviennent dans le cycle de la culture. En effet, les attaques précoces perturbent la photosynthèse et affectent ainsi la formation des tubercules, ce qui provoque une perte partielle ou totale de rendement. En revanche, les attaques tardives affectent plutôt la qualité des tubercules pouvant entraîner leur destruction lors du stockage (Radtke et Rieckmann, 1991).

### 1.2.2 Historique

Le mildiou, causé par *Phytophthora infestans* a été observé pour la première fois en Europe en 1832 près de Hanovre, mais c'est au mois de juin 1845 dans les Flandres belges que la maladie prend réellement un caractère épidémique. La maladie progresse alors de 100 à 200 km par mois si bien qu'elle atteint, à la mi-octobre, le sud de la France, l'Ecosse, l'Irlande, la Scandinavie et la Prusse. Entre 1846 et 1851, les dégâts de ce bioagresseur sur les cultures irlandaises et la famine qui s'en suivit ont provoqué la mort d'un million d'Irlandais et l'exode d'un autre million vers le continent américain (Woodham-Smith, 1962 ; Andrivon, 1996).

De nombreux auteurs pensent que le centre d'origine de la maladie serait la vallée de la Toluca au Mexique (Grünwald et *al.*, 2005), où la diversité des populations de *Phytophthora infestans* est maximale et où la reproduction sexuée du champignon a toujours existé (Tooley et *al.*, 1986).

La maladie s'est manifestée en dehors du Mexique après migration en plusieurs temps (Spielmen et *al.*, 1991 ; Fry et *al.*, 1992 ; Goodwin et *al.*, 1993 ; Andrivon, 1996). Cette dernière a été détectée en Afrique pour la première fois en 1941 (Sediqui et *al.*, 1997).



Dans le reste de l'Europe, l'été chaud et sec de 1846 limite les dégâts, mais le mildiou gagne de nouvelles régions, franchit la Méditerranée et atteint l'Algérie (Chevaugeon, 1979).

Récemment, des recherches concernant l'histoire généalogique du mildiou ont montré que le mildiou actuel dériverait de populations des Andes, du Pérou et de l'Equateur (Gómez-Alpizar et al., 2007).

### 1.2.3 Symptomatologie

Les symptômes de mildiou peuvent être observés sur l'ensemble des organes de la pomme de terre: jeunes pousses (foyers primaires), feuilles (Figure 3a) et pétioles (à tous les stades de l'épidémie), bouquets terminaux et tiges et enfin les tubercules (Figure 3d).

Le premier signe macroscopique de l'infection par *Phytophthora infestans*, est l'apparition de taches humides sur feuilles (Pieterse et al., 1992). Ces taches devenant brunes s'entourent d'une bande de couleur vert pâle ou jaune clair sur la face supérieure (Henfling, 1987). Les nécroses se développent souvent aux extrémités des feuilles ou sur les parties marginales. En temps chaud et humide, les feuilles nécrosées se recouvrent sur leur face inférieure par une fructification blanchâtre abondante du pathogène (Paitier, 1980). L'infection des tubercules se manifeste sur l'épiderme par des lésions grisâtres irrégulières. Tandis que la chair présente une altération de couleur brunâtre avec une texture souvent granuleuse. Il en résulte une pourriture sèche (Thurston et Shultz, 1981 ; Henfling, 1987).

Sur tige, le symptôme typique est une nécrose brune violacée, s'étendant sur 2 à 10 cm à partir d'un nœud. Par temps humide, cette nécrose se couvre d'une pulvérulence blanche ou grisâtre, correspondant aux organes de multiplication du pathogène (Rousselle et al., 1996) (Figure 3b).



**Figure 3: Symptôme du mildiou sur feuilles (a), tiges (b) et en plein champ(c) ( Zouai ,2010). Symptôme sur tubercules (d) (<http://www.plantdepommeeterre.org/pages/maladies/mildiou.htn>)**

#### 1.2.4 Importance et dégâts

Les attaques du mildiou de la pomme de terre n'ont pas les mêmes conséquences sur le rendement : les attaques précoces induisent surtout une diminution de la photosynthèse alors que les attaques tardives conduisent à une baisse de la qualité des tubercules engendrant des pertes en conservation, des surcoûts de triage et souvent une chute des prix de vente ( Radtke et *al.*, 1991).

Il a également une influence sur le calibre, le taux de matière sèche et la mauvaise conservation au stockage. Il peut fortement endommager le rendement jusqu'à 50 % en cas d'attaques précoces (Bayer, 2015).

En Algérie, les wilayas de Chlef et Ain-Defla, au centre-ouest du pays, régions potentiellement cultivées en pomme de terre, ont été littéralement frappées par l'épidémie du

mildiou, qui s'était déclenchée au mois d'avril, pour s'étendre et affecter progressivement, près du tiers de cette importante spéculation maraîchère (CAW, 2007).

### 1.2.5 Cycle biologique

Le cycle biologique de *Phytophthora infestans* comporte une phase asexuée et une phase sexuée (Figure 4). La reproduction sexuée nécessite la présence des deux types sexuels A<sub>1</sub> et A<sub>2</sub>. Les oospores constituent le stade de survie du pathogène et la source de variation des populations du *Phytophthora infestans*. Ces dernières peuvent survivre plusieurs années dans le sol (Mayton et al., 2000 ; Turkensteen et al., 2000) , à condition que les températures restent relativement basses (Fay et al.,1997).

Le cycle de la maladie correspond à la période qui s'écoule entre deux générations de spores, de l'infection à la production d'une nouvelle génération de spores. Ce cycle comprend plusieurs étapes : la période d'incubation qui correspond au laps de temps qui s'écoule entre l'infection et l'apparition des premiers symptômes et la période de latence qui correspond au laps de temps entre l'infection et la production de nouvelles spores. La dispersion des spores asexuées par le vent ou la pluie forme le point de départ d'une épidémie de mildiou. Les épidémies de mildiou sont dites polycycliques, car elles sont causées par la récurrence et la juxtaposition des monocycles (Lepoivre, 2003).

Le principal agent de dispersion de *P. infestans* est le vent (Hirst,1953) assurant ainsi l'extension de la maladie au-delà de la parcelle. L'épidémie peut être ainsi qualifiée de régionale, car les spores de contamination peuvent être transportées jusqu'à 11 km de distance des foyers primaires (Spijkerboer et al., 2002; van der Zaag, 1956).

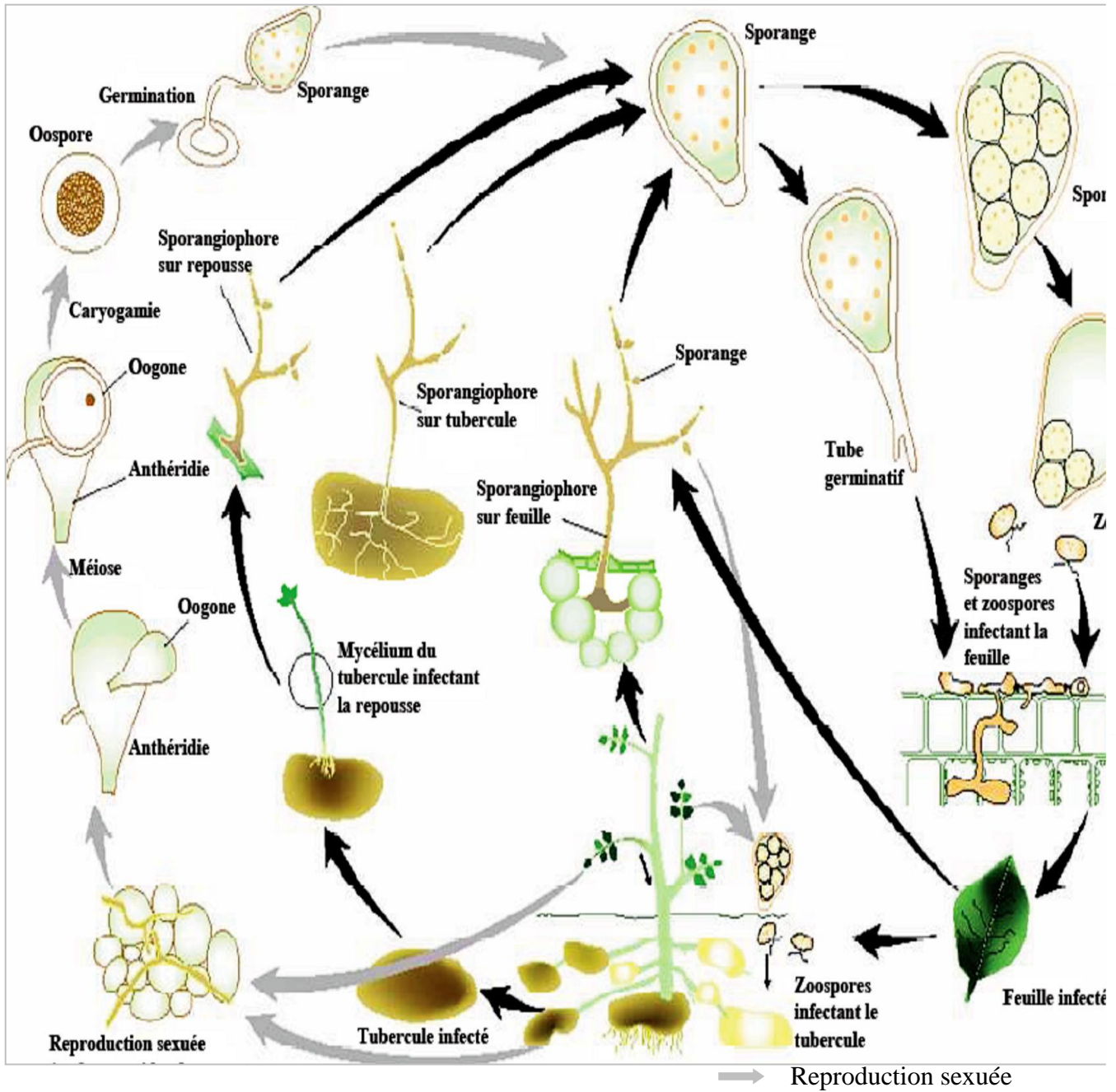


Figure 4 : Cycle de développement du mildiou (Haine et Verlainne, 2006).

## 1.2.6 Conditions de développement de la maladie

L'évolution de la maladie requiert des conditions climatiques favorables notamment l'humidité et la température (Harrison, 1992 ; Rolot et *al.*, 2014). Ces dernières favorisent le développement de la maladie, avec un optimum de température compris entre 15 et 25 °C et une humidité relative supérieure à 90 % ( Krause et *al.*, 1975).

L'eau, joue un rôle important, il permet la germination des sporanges constituant les organes de propagation de la maladie (Rolot et *al.*, 2014 ).

La compacité du cycle infectieux (3 à 5 jours) et la quantité importante d'inoculum secondaire produite expliquent le développement très rapide de la maladie (Lebreton et *al.*, 1998).

---

## 1.3 GENERALITES SUR L'AGENT PATHOGENE

### 1.3.1 Taxonomie

*Phytophthora infestans* est un Oomycète de la famille des Pythiacées (Agrios, 1997). Taxonomiquement, ce sont des Straminopyles, phylogénétiquement plus proches des algues brunes que les champignons supérieurs (Kroon et *al.*, 2004 ; Avila- Adame et *al.*, 2006). Le génome de *P. infestans* a une taille très importante, de 240 mégabases. Sa plasticité peut contribuer à faire émerger de nouveaux traits de virulence (Raffaele et Kamoun, 2012).

Selon Kirk et *al.*, (2008), la classification de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary est comme suit :

- Règne** : Chromistan ou Straminopila
- Phylum** : Oomycota
- Classe** : Peronosporae
- Ordre** : Peronosporales
- Famille** : Peronosporaceae
- Genre** : *Phytophthora* de Bary.

---

### 1.3.2 ASPECT CULTURAL ET MORPHOLOGIQUE

*Phytophthora infestans* se comporte dans la nature comme un biotrophe obligatoire sans capacité de survie saprophyte, mais il peut néanmoins être isolé et cultivé en milieu de culture

semi -artificiel, ses colonies poussent de façon radiale. Elles sont compactes, sans marge nette, elles sont duveteuses présentant de courts hyphes aériens (Figure 5) (Andrivon, 1995).

La reproduction asexuée est réalisée avec des zoospores biflagellées qui sont contenues dans un sporocyste présentant une papille caractéristique. Elles peuvent être terminaux, rarement intercalaires. Ils sont caduques et portent un court pédicelle (3  $\mu\text{m}$ ); ils ont une forme ovoïde, ellipsoïdale à limoniforme. Les sporocystophores sont isolés ou arrangés en sporocystes organisés en bouquet de dimensions de 19-55 $\mu\text{m}$  x 16-46 $\mu\text{m}$  (Erwin et *al.*,1996 ; Noyd, 2000).

La reproduction sexuée est représentée par les anthéridies de forme sphériques à globuleuses, fécondant l'oogone de façon amphigyne. La fécondation est hétérothallique. Les oogones, hyalines, présentent une paroi lisse et sont plérotiques (31-50  $\mu\text{m}$ ).

Les oospores germent en produisant un sporocyste ou du mycélium (Figure 6) (Erwin and *al.*, 1996 ; Noyd, 2000).

## **1.4 Lutte contre la maladie**

La priorité de la lutte contre le mildiou est d'empêcher l'installation de la maladie et, le cas échéant, de réduire au maximum la vitesse de propagation de l'agent pathogène (Lebreton et *al.*, 1998).

Les nouvelles souches de mildiou apparues ces dernières années rendent particulièrement difficile la production de pommes de terre, mais plusieurs méthodes existent pour lutter contre cette maladie, notamment les pratiques culturales, une certaine résistance variétale, et la pulvérisation de produits de remplacement qui freinent le développement de la maladie (Kuepper et *al.*, 2004) .

### **1.4.1 Alerte et surveillance**

Dans la lutte contre le mildiou, le dépistage sur le terrain est très important. Dépister une épidémie dès son éclosion peut réduire les pertes et donner lieu à davantage d'options de lutte (Kuepper et *al.*, 2004) .

### **1.4.2 Lutte culturale**

La lutte préventive face au mildiou de la pomme de terre consiste à limiter au maximum les sources d'inoculum primaire par rotation culturale et élimination des déchets, issus de la récolte précédente.

L'assainissement et la salubrité constituent la première ligne de défense contre cette maladie. Évitez de laisser en tas les pommes de terre rejetées. Il faut plutôt les déchiqueter, les enterrer, les composter ou les détruire d'une façon quelconque avant la levée de la nouvelle récolte. On doit détruire par ailleurs les repousses spontanées de pommes de terre, les herbes adventices solanacées et tous les plants infectés dès qu'on les repère (Kuepper et *al.*, 2004).

Les producteurs qui ont la possibilité de planter plusieurs petits champs séparés peuvent avoir un avantage à contenir les épidémies de mildiou (Caldwell, 1998). Aussi, la rotation des cultures peut également aider surtout lorsque les repousses spontanées de pommes de terre deviennent un problème mais son efficacité est limitée contre cet organisme très mobile (Caldwell.,1998 ; Saling.,1998). La tomate, le poivron, l'aubergine sont tous les hôtes au mildiou qui devrait être évitée en rotation (Kuepper et *al.*, 2004) .

L'utilisation de semences certifiées peut diminuer l'infection causée par des semences contaminées, mais elle ne peut prévenir l'infection foliaire venant d'autres sources telles que

les champs voisins. Une attention particulière devrait être accordée aux semences de pommes de terre. Tous les tubercules qui sont de signes décolorées ou montrent l'infection par *Phytophthora infestans* devraient être détruits ( Kuepper et *al.*,2004) .

Le temps pendant lequel les feuilles restent humides est un facteur critique dans l'infection au mildiou (Stevenson, 1993). Par conséquent, l'irrigation par aspersion doit être planifiée avec soin ou réduite au minimum, particulièrement en fin de saison lorsque le couvert serré des pommes de terre crée des conditions idéales pour le développement du mildiou.

Aussi, il faut gérer la récolte afin de réduire au minimum les dommages aux tubercules et d'éviter les conditions humides, car l'infection des tubercules atteints va se poursuivre et la maladie va se propager pendant l'entreposage. Des pertes pouvant atteindre 100 % surviennent parfois dans certaines conditions (Pam, 1998). Il faut donc gérer la circulation de l'air dans les entrepôts afin d'y conserver un taux minimal d'humidité et maintenir les tubercules aussi secs que possible ( Strausbaugh et *al.*,1996).

### **1.4.3 Lutte chimique**

La lutte chimique, avec l'utilisation de fongicides de contact, pénétrants ou systémiques, reste la principale mesure de lutte contre le mildiou de la pomme de terre (Gaucher et *al.*, 1998). Toutefois, l'utilisation massive de fongicides systémiques a conduit à sélectionner des isolats résistants à ces matières actives, qui appartiennent principalement au groupe des phénylamides (métalaxyl et son énantiomère méfénoxam, béalaxyl, oxadixyl) (Gisi et Cohen, 1996).

### **1.4.4 Lutte génétique**

Depuis certaines années, plusieurs études ont abordé les effets nocifs de l'emploi des pesticides sur la santé des utilisateurs et sur l'environnement (Viel et *al.*, 1993). Aussi, l'impact des pesticides sur la pollution des sols et des nappes phréatiques, la réduction de la biodiversité, la destruction des ennemis naturels des bio-agresseurs ou l'apparition de souches de parasites résistantes ont été maintes fois documentées (Savary et *al.*, 1994).

Egalement, le rôle aggravant de l'exposition professionnelle aux pesticides dans la survenue de la maladie de Parkinson a été mis en évidence (Elbaz et *al.*, 2004 ; Galanaud et *al.*, 2005).



Au cours de ces dernières années, des souches très agressives de *Phytophthora infestans* résistantes aux fongicides ont créé de nouveaux défis pour les producteurs de pommes de terre et de tomates (Powelson et al.,1998).

Récemment, Vleeshouwers , de l'université néerlandaise Wageningen, et ses collaborateurs ont cherché dans le matériel génétique de végétaux sauvages du genre *Solanum* des gènes qui répondaient à une protéine sécrétée par le mildiou de la pomme de terre, l'élicitrine ( Du et al., 2015).

Après 10 ans de recherche, ils ont enfin trouvé ce gène, nommé ELR, dans une plante sauvage sud-américaine, *Solanum microdontum*. Cette plante contient des récepteurs qui constituent une ligne de défense immunitaire et agissent comme une série d'antennes radars, chacune réglée sur des caractéristiques différentes des agents pathogènes envahisseurs.

La présence simultanée de l'ELR et de l'élicitrine tue les cellules autour de l'endroit infecté, un mécanisme puissant de défense de la plante qui freine l'avancée de la maladie (Du et al., 2015).

Cette découverte offre de nouvelles stratégies pour reproduire une résistance élargie et durable dans les variétés de pommes de terre, améliorant ainsi la sécurité alimentaire tout en réduisant l'utilisation de fongicides ( Du et al.,2015).

#### **1.4.5 Lutte biologique**

La lutte biologique contre le mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans*) par l'utilisation des antagonistes constitue un moyen nécessaire pour limiter l'utilisation des pesticides et donc leurs effets néfastes sur les producteurs, les consommateurs et l'environnement. Le champignon *Trichoderma* est considéré comme un facteur essentiel dans la lutte biologique (Gary,1998).

La plupart de ces espèces interviennent dans la lutte des microorganismes nocifs, surtout pour le champignon comme *Phytophthora infestans*. le genre *Trichoderma* se trouve souvent dans la terre ou sur les constituants des plantes, et leur croissance est rapide (Gary,1998).

Les bactéries présentes naturellement dans le sol peuvent très bien convenir pour maîtriser les agents pathogènes. Le traitement à base de souches bactériennes actives inhibait non seulement la croissance du mycélium de *Phytophthora infestans*, mais avait également une influence sur la formation de sporanges (Bönisch et al., 2014).

Aussi, diverses études ont montré l'efficacité des extraits de plantes dans la lutte biologique. Certains ont fait l'objet d'une formulation biologique efficace contre le mildiou de la pomme de terre (Sturz et *al.*, 2006).

## **1.5 Généralités sur *Trichoderma* spp.**

Le terme «*Trichoderma*» a été introduit dans la mycologie en 1794 par Persoon (Bissett, 1991). Il désigne des champignons microscopiques considérés durant 200 ans comme étant des «Gastéromycètes». Ces organismes cosmopolites appartiennent à un grand ensemble de champignons sans reproduction sexuée connue (Genilloud et *al.*, 1994 ; Roquebert, 1996).

*Trichoderma* spp. existe dans presque tous les sols agricoles et dans d'autres environnements, il est très commun dans les divers habitats. Dans le sol, ils sont souvent les champignons cultivables plus répandus (Harman, 2000).

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

Aussi, les champignons du genre *Trichoderma* spp. ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre un large spectre de pathogènes aussi bien telluriques (Camporota 1985; Davet 1986; Ouazzani-Touhami et *al.*, 1994) que foliaires (Hmouni et *al.*, 1999; Mouria et *al.*, 1997a, b). Ces champignons sont caractérisés par leur croissance rapide, leur capacité d'utiliser divers substrats et leur résistance à des agents chimiques nocifs (Klein et *al.*, 1998).

*T. harzianum*, *T. reesei*, *T. koningii*, *T. hamatum*, *T. asperellum*, *T. viride* sont d'importants agents de lutte biologique contre les champignons pathogènes des plantes pour une grande variété de cultures et de climats (Hjeljord et Tronsmo ,1998).

### **1.5.1 Taxonomie**

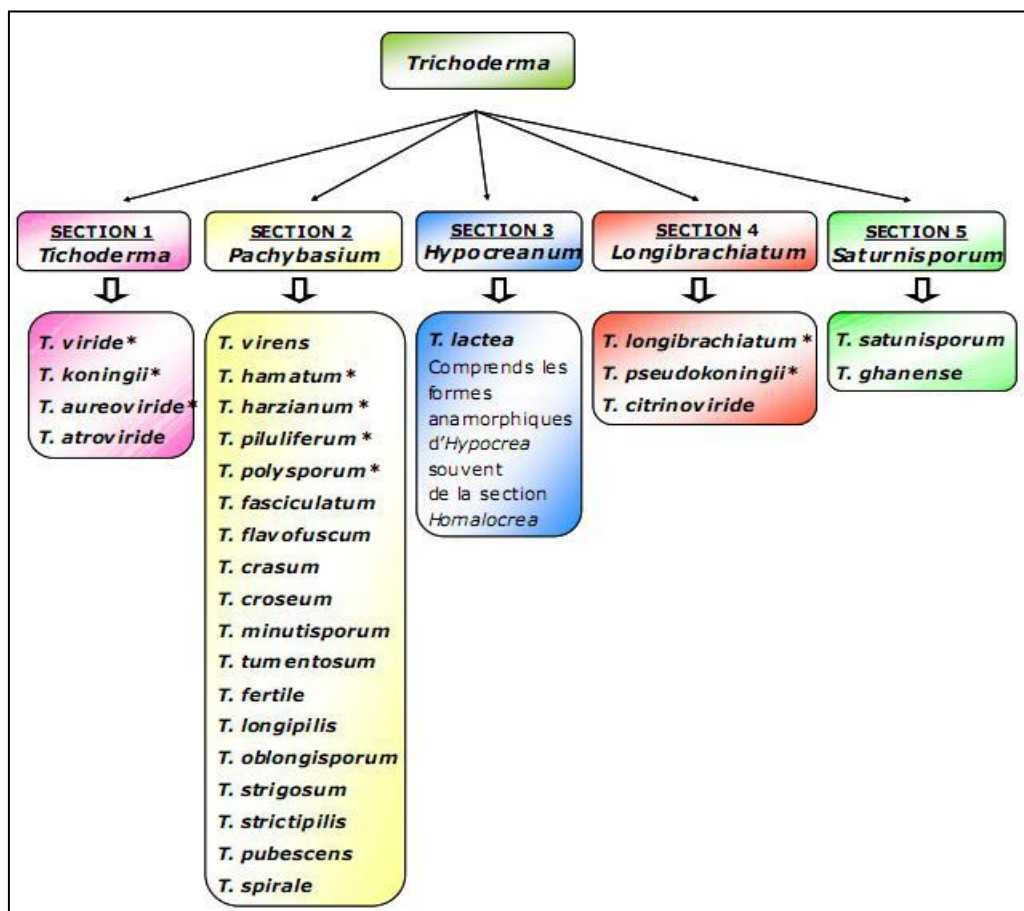
Les *Trichoderma* sont des champignons filamenteux imparfaits appartenant à la classe des Deutéromycètes. La forme parfaite appartient à la classe des Ascomycètes (*Hypocrea*).

Les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, n'ont pas de reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique. On se base alors sur les aspects culturels et la morphologie des appareils sporogènes (Roquebert, 1996) ainsi que

sur le matériel génétique en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaire (Gams et Bissett, 1998).

Les espèces de *Trichoderma* ainsi que leurs rares formes téléomorphes observées sont classées parmi les Ascomycètes (second plus important groupe fongique en nombre d'espèces) du genre *Hypocrea* (Sugiyama, 1987 ; Kubicek et al., 2003). Sous certaines conditions, méconnues, les *Hypocrea* spp. (Téléomorphes) se transforment définitivement en *Trichoderma* spp. (Anamorphes). Les auteurs pensent que l'évolution a conduit à la disparition du mode sexué pour l'établissement d'un genre à reproduction exclusivement asexuée (Roquebert, 1996).

En 1991, Bissett propose la notion de « section » pour faire face au nombre croissant de nouvelles espèces de *Trichoderma* spp., sans rapport avec les espèces agrégées. En se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides, il regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (*Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum*) (Figure 7) (Leuchtman et al., 1996 ; Landreau, 2001).



**Figure 7 : Les sections systématiques de *Trichoderma* spp. avec quelques espèces, selon Bissett (1991).\*** Espèces agrégées de Rifai (1969).

Selon Bissett (2004), la position taxonomique actuelle des *Trichoderma* spp. se présente comme suit :

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

### 1.5.2 Morphologie

Les colonies fongiques de *Trichoderma* spp. 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. La conidie donne au début naissance à un mycélium blanc et stérile qui s'organise en cercles. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse (Kubicek et *al.*, 2003).

Les cultures présentent généralement une croissance rapide entre 25 et 30°C, on note fréquemment l'absence de croissance à 35°C. Les colonies apparaissent aux débuts transparentes sur des supports tels que l'agar semoule de maïs de dextrose (CMD) ou blanche sur les milieux riches tels que le milieu pomme de terre -dextrose- agar (PDA). Cependant, le pigment jaune peut être sécrété dans l'agar-agar et en particulier sur PDA. L'odeur 'de noix de coco »caractéristique est produite par certaines espèces (Samuels ,2015).

Les conidies apparaissent généralement déshydratées, mais chez certaines espèces, elles peuvent être maintenues en gouttes de liquide clair vert ou jaune ( *T. virens* et *T. flavofuscum*). Pour la plupart des espèces, les conidies sont ellipsoïdales, de dimensions 3-5 x 2-4 µm ( Samuels , 2015).

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 supportant des phialides en forme de flasques ou de quilles. Ces dernières portent les conidies ( Landreau, 2001, Kubicek et *al.*,2003).

### 1.5.3 Ecologie et biologie

Les espèces de *Trichoderma* sont caractérisées par une croissance rapide et une grande capacité à la compétition saprophytique (Jenkins, 1986 ; Cole et *al.*, 1988 ). Elles constituent les éléments prédominants de la mycoflore des sols de divers écosystèmes (Danielson et *al.*, 1973; Roiger et *al.*, 1991 ; Smith, 1995).

Le genre *Trichoderma* est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive. Il permet, au niveau des racines, de créer un manchon protecteur autour de celles-ci et ainsi contrer l'entrée des agents pathogènes à l'intérieur des racines. Le même effet est observé lorsqu'il est utilisé en pulvérisation aérienne. Une fois installée, *Trichoderma* peut avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes (Caron, 2002).

Certaines souches de *Trichoderma* spp. sont très rhizosphères et compétentes, à savoir, capable de coloniser et de croître sur les racines. Une fois qu'elles entrent en contact avec les racines, elles colonisent sa partie superficielle ou le cortex, en fonction de la souche (Harman, 2000). Ces souches semblaient exercer une action stimulatrice sur la croissance de certaines plantes (Baker ,1988 ; Lynch et *al.*, 1991a).

La population naturelle de *Trichoderma* dans les sols des régions agricoles ne dépasse en aucun cas  $10^2$  CFU (unité formant colonie/g de sol) (Chet, 1987). En outre, la concentration efficace minimale de *Trichoderma* est d'environ  $10^6$  CFU/g de sol (Chet et *al.*, 1980).

Sous forme d'une simple poudre de spores, l'inoculum de *Trichoderma* se maintient difficilement dans le sol non stérile et il est peu actif (Davet et *al.* ,1981).

### 1.5.4 Mode d'action de *Trichoderma* spp.

Les propriétés antagonistes du *Trichoderma* ont été mentionnées pour la première fois par Vuillemin en 1887 (Lamy Krafft et *al.*, 1981).

Ce champignon croît et prolifère mieux quand il ya des racines saines abondantes, il a développé de nombreux mécanismes à la fois pour l'attaque de champignons et d'autres pour améliorer la croissance des plantes et des racines (Harman, 2000).

Les différents mécanismes d'action de ce champignon antagoniste incluent le mycoparasitisme, l'antibiose, la compétition pour les nutriments ou l'espace, la tolérance au stress grâce à une meilleure racine, la solubilisation et la séquestration de nutriments

inorganiques, la résistance induite et l'inactivation des enzymes de l'agent pathogène (Dennis et Webster, 1971 ; Harman, 2000 ).

Selon Caron, 2002, *Trichoderma* a la capacité d'attaquer les agents pathogènes par différents modes d'action. Il peut utiliser :

-**L'antibiose** qui résulte de la production de substances qui agissent comme « Antibiotiques »

et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène;

-**La compétition** qui 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 des indésirables;

- **Le parasitisme** qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui injectant des substances (enzymatiques) qui le détruisent.

*Trichoderma* peut utiliser un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène. Le déploiement des modes d'action varie également selon les partenaires en présence et les conditions physico-chimiques du milieu (Caron, 2002).

La mise en évidence de la production de métabolites secondaires par les *Trichoderma* spp. a été rapportée pour la première fois par Weidling (1934), concernant un antifongique (Papavizas, 1985).

Leur production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* spp. des agents potentiels en agroalimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (Prieto et al., 1997).

Le genre *Trichoderma* renferme des espèces plus utilisées en tant qu'agents de lutte biologique contre les phytopathogènes et comme source d'enzymes et de métabolites secondaires d'intérêts biotechnologiques (Kubicek et Penttilä, 1998).

Le processus antagoniste repose sur la production d'antibiotiques et /ou d'enzymes hydrolytiques et peut être associé à la concurrence pour les nutriments dans la rhizosphère. Le complexe mycoparasites - processus a été largement revu (Herrera-Estrella et Chet 1998).

#### **1.5.4.1 Production d'enzymes**

Les espèces de *Trichoderma* sont bien connues comme hyper-productrices d'enzymes de dégradation comme les chitinases et les cellulases. Elles ont été promues indirectement comme agents de lutte biologique et stimulateurs de croissance des plantes (Papavizas, 1985; Elad, 2000; Freeman et *al.*, 2004; Dubey et *al.*, 2007; Jayalakshmi et *al.*, 2009).

Le rôle de chaque protéine dans le complexe enzymatique de *Trichoderma* semble être différent, et les enzymes avec les modes d'action différents ou complémentaires sont nécessaires pour avoir un effet antifongique maximal envers différents agents pathogènes (Lorito et *al.*, 1993 ; 1994).

#### **1.5.4.2 Production de métabolites**

Les métabolites secondaires produits par *Trichoderma* spp. sont nombreux, on distingue :

- Les métabolites volatils tels que , 6 pentyl \_ pyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (Vizscaino et *al.*, 2005).
- Les Métabolites non volatils diffusibles comme, les Polyacétates (antifongiques, antibiotiques), trichotécènes (variété de toxines actives sur microorganismes et mammifères notamment les trichodermines) (Blumenthal, 2004).
- Les Métabolites polypeptidiques tels que, les Ciclosporines (immunosuppresseurs et anti inflammatoires) et les peptaïbols (Landreau, 2001).

# *Chapitre 2*

## **MATERIEL ET METHODES**



## 2 MATERIEL ET METHODES

Cette étude a nécessité l'utilisation d'un matériel biologique représenté par un matériel fongique et un matériel végétal. Elle comporte quatre (04) parties d'études suivantes :

- 1- Etude de l'activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. ;
- 2- Etude de l'activité antifongique *in vitro* de leurs extraits enzymatiques ;
- 3- Dosage des protéines totales des extraits enzymatiques ;
- 4- Etude de l'activité antifongique *in vivo* des extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans* ;
- 5- Etude de l'activité enzymatique des isolats de *Trichoderma* spp. sur milieu solide.

### 2.1 Matériel biologique

#### 2.1.1 Matériel fongique

Le matériel fongique est distingué en agents antagonistes et agents pathogènes.

##### 2.1.1.1 Agent antagoniste

Treize (13) isolats de *Trichoderma* spp. issus d'Algérie et provenant de la mycothèque de Madame MOUMENE ayant fait objet de thèse de doctorat et de nombreuses communications internationales et publications (Moumene-Messgo et al., 2014).

##### 2.1.1.2 Agent pathogène

Deux isolats de deux types sexuels A1 et A2 de *Phytophthora infestans* obtenus à partir de plants de pomme de terre mildioués, provenant respectivement de la région d'El Abadia de la wilaya d'Ain Defla et de Bourkika de la wilaya de Tipaza et ayant fait l'objet de travaux de recherches (Figure 8) (Bencheikh, 2012 ; Saddek, 2012).

#### 2.1.2 Matériel végétal

La semence de pomme de terre de la variété Spunta utilisée nous a été fournie par le Centre National de Contrôle et de Certification des semences et plants (C.N.C.C) d'EL Harrach. Elle est homologuée, certifiée et largement cultivées en Algérie. Les tubercules prégermés ont été plantés à raison d'un tubercule par pot (10 pots) dont le substrat est

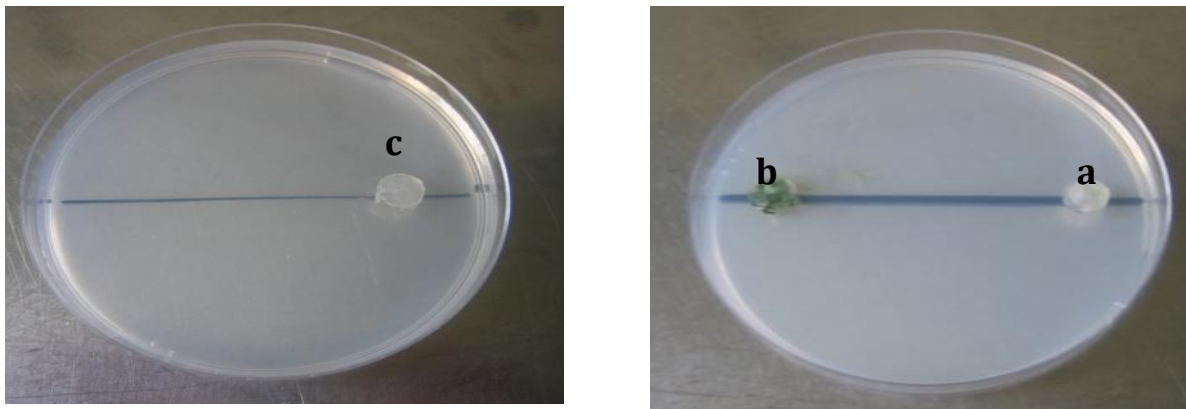
constitué par un mélange de 2/3 de sol et 1/3 de tourbe (Campobello et *al.*, 2002), à une profondeur de 5 à 6 cm.

## 2.2 Etude de l'activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp.

L'activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. vis à vis de *Phytophthora infestans* a été effectuée selon la méthode de confrontation directe sur milieu de culture PPA (composition en annexe 1) par l'utilisation des isolats antagonistes de *Trichoderma* spp.

### 2.2.1 Méthode de confrontation directe

L'activité antifongique a été dépistée en utilisant la technique modifiée de la double culture décrite par Sivakumar et *al.* (2000). Elle consiste à placer un disque de 10 mm de diamètre de l'isolat pathogène âgé de 7 jours dans une boîte de pétri contenant le milieu PPA et incubée à 18 °C pendant 02 jours pour initier la croissance puis, un autre disque du même diamètre de l'isolat antagoniste de *Trichoderma* sp. âgé de 7 jours est placé à l'autre extrémité de la boîte à une distance de 50 mm entre le disque de l'isolat pathogène et le disque de l'isolat antagoniste. Le témoin est représenté par les cultures de chacun des isolats pathogènes seuls. Pour chaque isolat antagoniste et isolat pathogène trois (03) répétitions sont prises en considération. L'incubation est faite à 18°C pendant 07 jours à l'obscurité (Figure 9).



**Figure 9 : Technique de confrontation directe**

a : Isolat pathogène de *Phytophthora infestans*. , b : Isolat antagoniste de *Trichoderma* spp.

c : Témoin (isolat de *Phytophthora infestans*).

## **2.2.2 Evaluation de l'activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp.**

L'activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. a porté sur l'inhibition de la croissance mycélienne, de la sporulation et de la germination des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

### **2.2.2.1 Inhibition de la croissance mycélienne**

La croissance mycélienne a été évaluée quotidiennement, pendant une durée d'incubation de sept jours, en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de culture.

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de chacun des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* a été calculé pour chaque isolat antagoniste selon la formule décrite par Dennis et Webster (1971), Rollan et al. (1999) in Ibarra-Medina et al. (2010) :

$$IC (\%) = \frac{(CT - Ct)}{CT} \times 100$$

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

**CT :** Croissance mycélienne de l'agent phytopathogène témoin (mm).

**Ct :** Croissance mycélienne de l'agent phytopathogène confronté à l'antagoniste (mm).

### **2.2.2.2 Inhibition de la sporulation et de la germination**

Une suspension sporangiale est préparée en versant 10 ml d'eau distillée stérile dans chaque boîte contenant séparément la culture des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* et ceux des 13 isolats de *Trichoderma* spp. La boîte est rincée soigneusement de manière à ne pas abimer la gélose.

La suspension sporangiale est récupérée dans des tubes à essai stérilisés. Le comptage des sporanges est déterminé sous microscope photonique au grossissement (x 500) à l'aide d'une cellule de Malassez à raison de dix comptages par suspension. Pour chaque antagoniste l'observation a concerné trois boîtes (Hammi, 2003).

En ce qui concerne les sporanges germés, les suspensions sporangiales ayant servi pour la détermination de la sporulation, ont été conservées à 20°C pendant 48 heures pour déterminer le nombre de sporanges germés par le biais de cellule de Malassez.

Les taux d'inhibition de la sporulation et de la germination des sporanges de chacun des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* ont été déterminés selon les formules décrites par Sy (1976) et Rollan et al. (1999) in Ibarra-Medina et al. (2010) :

$$IS(\%) = \frac{(ST - St)}{ST} \times 100$$

**IS** : Taux d'inhibition de la sporulation (%)

**ST** : Concentration en sporanges de l'inoculum témoin (nombre de sporanges / ml)

**St** : Concentration en sporanges de l'inoculum confronté à l'antagoniste (nombre de Sporanges / ml).

$$IG(\%) = \frac{(GT - Gt)}{GT} \times 100$$

**IG** : Taux d'inhibition de la germination (%)

**GT** : Concentration en sporanges germés de l'inoculum témoin (nombre de sporanges germés/ml)

**Gt** : Concentration en sporanges germés de l'inoculum confronté à l'antagoniste (nombre de sporanges germés/ml)

### **2.3 Etude de l'activité antifongique *in vitro* des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans***

Cette étude comporte trois (03) étapes essentielles :

- Préparation des deux types d'extraits enzymatiques ;
- Dosage des protéines totales des extraits enzymatiques ;
- Evaluation de leurs activités antagonistes sur *Phytophthora infestans*.

#### **2.3.2 Dosage des protéines totales des extraits enzymatiques**

Le dosage des protéines totales de l'extrait enzymatique a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode colorimétrique permet de déterminer la concentration d'une solution protéique. Elle est basée sur l'interaction en milieu acido-alcoolique, les Protéines - BBC G-250 (Bleu de Coomassie). Ce colorant s'adsorbe sur les protéines, ce qui provoque un déplacement de son pic d'absorption maximale qui passe du rouge (464nm, forme cationique)

au bleu (595nm, forme anionique) (Bradford, 1976; Roe, 2001 ; Walker, 2002 ; Walsh, 2002). Cette adsorption se fait principalement et de façon spécifique par les liaisons ioniques avec les acides aminés basiques (Arg, Lys, His) de la molécule protéique. La rapidité (maximum d'adsorption au bout de 2 à 5 minutes) et la grande sensibilité de la méthode qui peut atteindre 1 à 20µg de protéines caractérisent sa haute qualité (Roe, 2001; Walker, 2002).

La concentration des protéines dans l'extrait enzymatique de chaque filtrat d'isolat de *Trichoderma* spp. est déterminée par la courbe d'étalonnage. Cette dernière est tracée à partir de solutions d'Albumine de différentes concentrations, préparées à partir d'une solution mère de Sérum Bovine Albumine (SBA) d'une concentration de 1 mg. ml<sup>-1</sup>. De cette dernière une série de dilutions est effectuée. A chaque dilution, 2 ml de réactif de Bradford (composition voir annexe 2) sont ajoutés pour faire la lecture au spectrophotomètre, à une longueur d'ondes de 595 nm (Tableau 3).

Ainsi, 100 µl de chaque extrait est mélangé avec 2 ml de réactif de Bradford, bien agités au vortex. Après 2 à 3 minutes de repos, la lecture de la densité optique (D.O.) est faite à la longueur d'onde de 595 nm.

**Tableau 3 :** Préparation des dilutions de la courbe d'étalonnage.

Dilution	1/2	1/3	1/4	1/5	1/6	1/7	1/8	1/9	1/10	1
SBA (µl)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Eau distillée (µl)	100	200	300	400	500	600	700	800	900	2
Bradford (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	

### 2.3.3 Evaluation de l'activité antifongique *in vitro* des extraits enzymatiques de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans*

L'activité antagoniste *in vitro* des extraits enzymatiques des isolats antagonistes est basée sur l'inhibition de la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

#### 2.3.3.1 Inhibition de la croissance mycélienne

Deux (02) ml de chaque extrait enzymatique intracellulaire et extracellulaire des 13 isolats de *Trichoderma* spp. sont versés séparément dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PPA.

Un disque de 10 mm de diamètre de chacun des deux isolats A1 et A2 est prélevé à partir d'une culture âgée de 7 jours puis déposé au centre des boîtes de Pétri ainsi préparées. L'incubation est faite à 20°C et à l'obscurité. Trois répétitions ont été prises en considération.

La croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* est évaluée quotidiennement en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de cultures.

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne de chacun des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* ont été calculés, selon la formule décrite par Dennis and Webster (1971), Rollan et al. (1999) in Ibarra-Medina et al. (2010) :

$$IC (\%) = \frac{(CT - Ct)}{CT} \times 100$$

**IC** : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne (%),

**CT** : Croissance mycélienne de l'agent phytopathogène témoin (mm)

**Ct** : Croissance mycélienne de l'agent phytopathogène confronté à l'antagoniste (mm).

### 2.3.3.2 Inhibition de la sporulation et la germination

Une suspension sporangiale est préparée en versant 10 ml d'eau distillée stérile dans chaque boîte de culture de chacun des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* et l'extrait enzymatique. La boîte est rincée soigneusement de manière à ne pas abimer la gélose.

La suspension sporangiale est récupérée dans des tubes à essai stérilisés. Le comptage des sporanges est réalisé sous microscope photonique au grossissement (x 500) à l'aide de la cellule de Malassez à raison de dix comptages par suspension. Pour chaque antagoniste, trois répétitions ont été prises en considération ( Hammi, 2003).

Les suspensions sporangiales ayant servi pour la détermination de la concentration en sporanges, ont été conservés à 20°C pendant 48 heures pour déterminer le nombre de sporanges germées par le biais de cellule de Malassez.

Les taux d'inhibition de la sporulation et de la germination des sporanges de chacun des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* ont été déterminés selon les formules décrites par Sy (1976) et Rollan et al. (1999) in Ibarra-Medina et al. (2010) :

$$IS(\%) = \frac{(ST - St)}{ST} \times 100$$

**IS** : Taux d'inhibition de la sporulation (%)

**ST** : Concentration en sporanges de l'inoculum témoin (nombre de sporanges/ml)

**St** : Concentration en sporanges de l'inoculum confronté à l'antagoniste (nombre de

sporanges/ml).

$$IG (\%) = \frac{(GT - Gt)}{GT} \times 100$$

**IG** : Taux d'inhibition de la germination (%),

**GT** : Concentration en sporanges germés de l'inoculum témoin (nombre de sporanges germés/ml)

**Gt** : Concentration en sporanges germés de l'inoculum confronté à l'antagoniste (nombre de sporanges germés/ml).

## **2.4 Etude du pouvoir fongicide *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. et de leurs extraits enzymatiques sur *Phytophthora infestans***

Cette étude est basée sur la technique modifiée de Mahanta et *al.* (2007) qui, repose sur la reprise ou l'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* préalablement inhibés sur milieu PPA frais après confrontation directe avec les isolats de *Trichoderma* spp. ou leur contact direct respectivement avec les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires pour confirmer leurs effets fongistatiques ou fongicides.

## **2.5 Etude de l'activité antifongique *in vivo* des extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans***

L'activité antifongique *in vivo* des extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp. a été évaluée sur les disques foliaires de pomme de terre.

Cette technique est réalisée selon les trois étapes suivantes :

### **2.5.1 Préparation du tissu végétal**

Les folioles de même âge sont collectées à partir de plants de pomme de terre de la variété Spunta, soigneusement lavées à l'eau du robinet et désinfectées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 1% pendant 3 minutes. Elles sont rincées trois fois à l'eau distillée stérile. Les disques foliaires de 15 mm de diamètre sont découpés à l'aide d'un emporte pièce puis, déposés sur un papier filtre absorbant. Après séchage, les disques sont

déposés en randomisation totale dans 4 boîtes (répétitions) en présence du coton imbibé d'eau distillée stérile au fond des boîtes. La face inférieure des disques est placée vers le haut (Klarfeld et *al.*, 2009).

### **2.5.2 Inoculation et incubation**

Six (06) disques foliaires ont été placés par boîte, puis inoculés séparément avec chaque extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp. Les inoculations ont été réalisées à l'aide d'une micro pipette, par dépôt préalable de 10 µl de chaque extrait enzymatique suivi de l'inoculation par le dépôt de 10 µl de suspension sporangiale de  $10^5$  sporanges.ml<sup>-1</sup> de chacun des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* à la face inférieure de chaque disque foliaire (Mpika, 2009).

Le témoin positif correspond aux disques foliaires inoculés par le dépôt des suspensions sporangiales de chacun des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

Le témoin négatif correspond aux disques foliaires inoculés avec l'eau distillée stérile. L'incubation des boîtes est réalisée à l'obscurité et à la température de 18 °C.

### **2.5.3 Lecture des résultats**

L'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. vis-à-vis des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* a été évaluée en notant la présence ou l'absence du pouvoir pathogène de chacun des deux isolats pathogènes.

## **2.6 Etude de l'activité enzymatique des isolats de *Trichoderma* spp.**

Notre étude repose sur deux activités importantes :

### **2.6.1 Activité protéolytique**

Cette activité est basée sur la capacité de croissance de l'isolat fongique sur les milieux de culture à base de protéines comme seule source d'azote et de générer des zones de protéolyse claires autour de la culture (Nygren et *al.*, 2007).

La recherche de l'activité protéolytique des isolats de *Trichoderma* spp. a été réalisée sur milieu Czapek-Dox Agar à base de caséine (Composition voir annexe 1). Après stérilisation et refroidissement, le milieu coulé estensemencé par quelques spores au centre de la boîte de pétri, puis incubé à 25 °C pendant 5 jours. La détermination qualitative de cette activité est



basée sur le calcul du diamètre de l'anneau de protéolyse qui se forme autour de la colonie fongique.

### **2.6.2 Activité chitinolytique**

L'étude de l'activité chitinolytique des isolats de *Trichoderma* spp. est réalisée selon la même technique d'étude de l'activité protéolytique en changeant seulement le substrat caséine par la chitine.

### **2.7 Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats obtenus sont effectuées à l'aide du logiciel SYSTAT, version.12.La comparaison des taux d'inhibition de la croissance mycélienne, de la sporulation et de la germination de *Phytophthora infestans* par les isolats de *Trichoderma* spp. et leurs extraits enzymatiques ont été analysés par le test ANOVA et G.L.M ( General Linear Model). L'analyse de la variance a été considérée significative lorsque la valeur de P est  $\leq 0.05$  (Philippeau, 1989).

# *Chapitre 3*

## **RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### 3 RESULTATS ET DISCUSSION

#### 3.1 Activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans*

##### 3.1.1 Inhibition de la croissance mycélienne

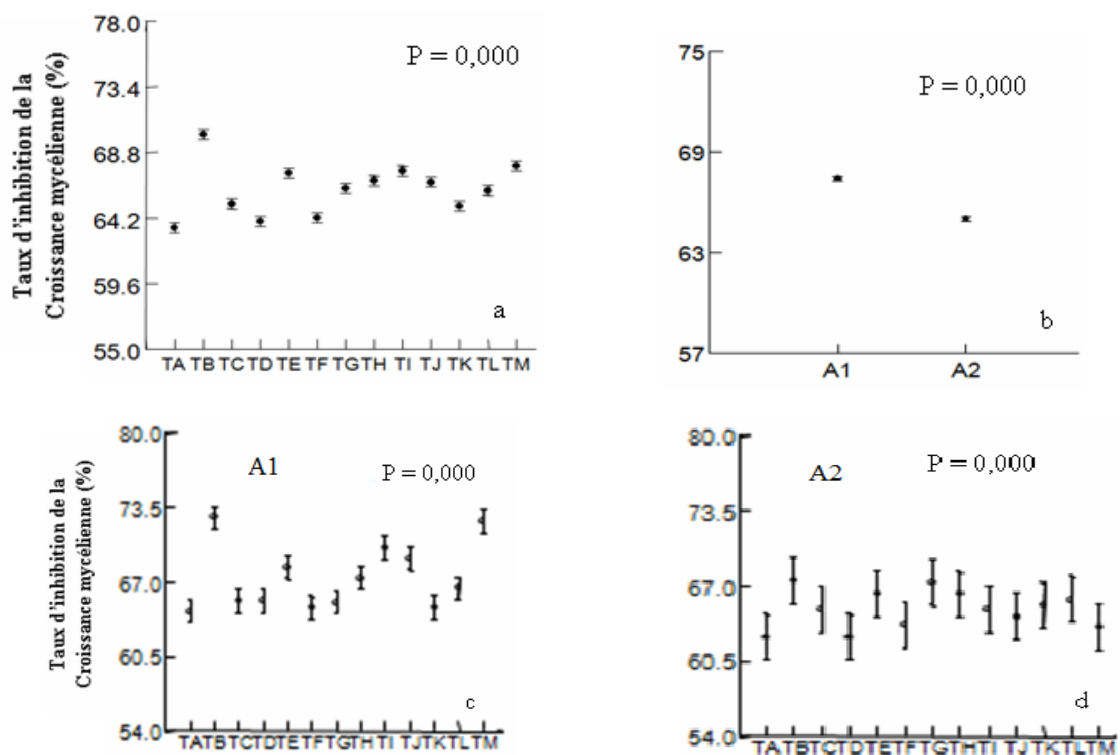
L'ensemble des isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. ont révélé une inhibition de la croissance mycélienne des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*. Au bout de cinq (05) jours d'incubation, les boîtes ont été presque envahies par l'antagoniste, alors que les isolats de *Phytophthora infestans* ont développé des colonies à un diamètre ne dépassant pas 28,5 mm pour l'isolat A1 et 31,7 mm pour l'isolat A2. Au terme de six (06) jours, les cultures des isolats de *Trichoderma* spp. recouvrent complètement les colonies des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* sur lesquelles elles sporulent (Figure 10).

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* par les isolats de *Trichoderma* spp. a montré une différence très hautement significative selon les isolats de *Trichoderma* spp. et selon les deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* avec ( $P < 5\%$  ;  $P=0.000$ ) (Tableau 4). Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Phytophthora infestans* varient entre 64,46% et 72,62% pour l'isolat A1 et entre 62,59% et 67,48% pour l'isolat A2. L'isolat TB apparaît plus efficace sur les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* avec des taux d'inhibition respectivement de 72,62% et 67,48% (Figure 11).

Ainsi, les plus importants taux d'inhibition ont été enregistrés pour l'isolat A1. Par ailleurs, le test de confrontation directe a montré une légère différence entre les taux d'inhibition de la croissance mycélienne des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* confrontés aux 13 isolats antagonistes de *Trichoderma* spp.

**Tableau 4 . Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* par les isolats antagonistes de *Trichoderma* spp.**

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
<i>Trichoderma</i> spp.	237.792	12	19.816	26.636	0.000
<i>Phytophthora infestans</i>	109.672	1	109.672	147.419	0.000
Interaction isolats de <i>Trichoderma</i> spp. et ceux de <i>Phytophthora infestans</i> .	153.296	12	12.775	17.171	0.000



**Figure 11 : Analyse de la variance selon le modèle GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* par les isolats antagonistes de *Trichoderma* spp.**

- Inhibition de la croissance mycélienne selon les isolats antagonistes
- Inhibition de la croissance mycélienne selon les isolats pathogènes
- Inhibition de la croissance mycélienne selon l'isolat A1
- Inhibition de la croissance mycélienne selon l'isolat A2

### 3.1.2 Inhibition de la sporulation et la germination

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* par les isolats de *Trichoderma* spp. a montré une différence très hautement significative ( $P=0,000$ ) entre les isolats de *Trichoderma* spp. les isolats de *Phytophthora infestans* et leur interaction (Tableau 5).

Les 13 isolats de *Trichoderma* spp. ont inhibé la sporulation de *Phytophthora infestans* avec des taux d'inhibition variant entre 93% et 100%.

Selon le modèle GLM, l'isolat A1 de *Phytophthora infestans* a montré une inhibition complète (100%) pour les isolats TB, TM et TI de *Trichoderma* spp. et un taux important de 93% pour les isolats TA et TK.

Concernant l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*, l'inhibition de la sporulation était complète (100%) avec l'isolat TB et variant entre 93% et 97% pour les autres isolats (Figure 12).

**Tableau 5 . Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* par les isolats antagonistes de *Trichoderma* spp.**

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
<i>Trichoderma</i> spp.	246.744	12	20.562	31.106	0.000
<i>Phytophthora infestans</i>	6.154	1	6.154	9.310	0.000
Interaction isolats de <i>Trichoderma</i> spp. et ceux de <i>Phytophthora infestans</i>	121.441	12	10.120	15.309	0.000

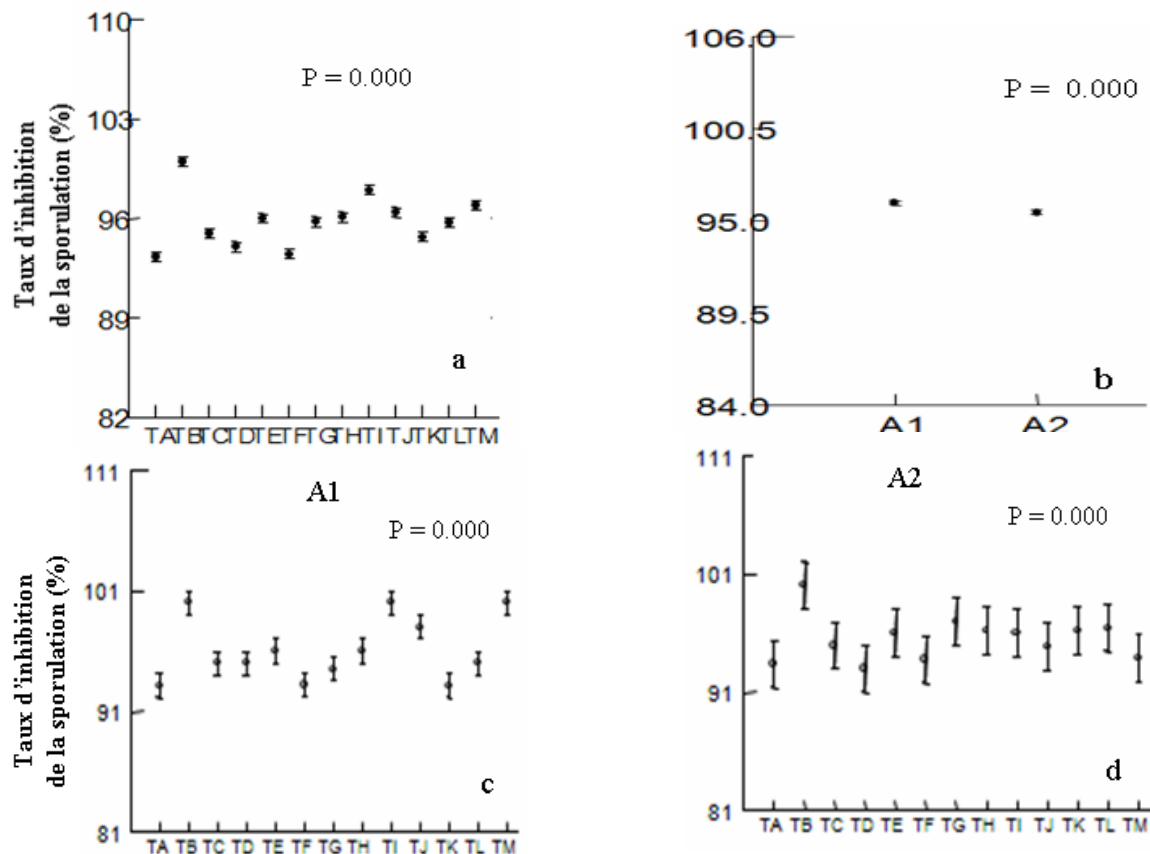


Figure 12 : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Phytophthora infestans* selon les isolats de *Trichoderma* spp.

- Inhibition de la sporulation selon les isolats antagonistes.
- Inhibition de la sporulation selon les isolats pathogènes.
- Inhibition de la sporulation selon l'isolat A1.
- Inhibition de la sporulation selon l'isolat A2.

Aussi, les 13 isolats de *Trichoderma* spp. ont complètement inhibé la germination des sporanges des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

### 3.2 Événements mycoparasitaires des isolats de *Trichoderma* spp. sur les isolats de *Phytophthora infestans*.

L'observation microscopique de la zone d'interpénétration des deux colonies de *Trichoderma* spp. et de *Phytophthora infestans* a montré des modifications structurales au niveau du mycélium du *Phytophthora infestans*. Elles se traduisant par la vacuolisation du cytoplasme, l'enroulement du mycélium de l'antagoniste sur celui du *Phytophthora infestans*, pénétration du mycélium de l'antagoniste à l'intérieur du mycélium de *Phytophthora infestans*, l'éclatement des sporanges et une désintégration complète du mycélium. Ces observations étaient similaires pour les deux types isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* (Figure 13).

L'étude de l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. a prouvé leur effet inhibiteur important sur la croissance, la sporulation et la germination des isolats de *Phytophthora infestans*.

Ces résultats concordent avec ceux trouvés par Bouziane et al.(2011) qui ont montré que *Trichoderma viride* atteint la confluence de la boîte de Pétri au bout de trois jours d'incubation. La boîte est presque envahie par *Trichoderma viride* alors que les colonies des différents isolats n'occupent qu'une très petite surface ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne.

Mouria (1997a) a également montré que les espèces de *Trichoderma* spp. présentent une activité antagoniste à l'encontre de *Pyricularia. oryzae* . L'inhibition de la croissance mycélienne de cet agent pathogène a été presque totale en présence des espèces antagoniste testées. Les taux d'inhibition varient entre 89% et 100%.

Akbari et Parakhi (2007) ont rapporté que les isolats *Trichoderma viride-I* et *Trichoderma hamatum-IV et V* ont montré un fort antagonisme contre *Alternaria alternata*. Rajkonda et al. (2011) ont également déclaré que les espèces de *Trichoderma* inhibent significativement la croissance mycélienne des champignons pathogènes de nombreux végétaux.

Récemment, Kerroum et al. (2015) ont prouvé que *Trichoderma. harzianum* inhibe la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* et que cet antagoniste est capable de réduire l'incidence de la maladie d'agent pathogène.

Benhamou et Chet (1997) ont également observé l'envahissement du mycélium du pathogène par *T. harzianum* en réalisant une confrontation directe sur milieu de culture entre cet antagoniste et un autre champignon tellurique : *Pythium ultimum* et ceci au bout de quatre à cinq jours après l'inoculation.

Berber et al. (2009) à leur tour ont révélé que les isolats de *Trichoderma* testés ont inhibé la germination des conidies de *Bipolaris* .La germination des conidies de *B. maydis* est fortement inhibée (78 à 94 %), suivie de celle de *B. sorghicola* (55 à 89 %), *B. sorokiniana* (62 à 87 %) et *B. tetramera* (50 à 75 %).

Les événements mycoparasitaires observés lors de notre étude confirme le haut pouvoir mycoparasitaire des isolats antagonistes testés.

L'aptitude des espèces du genre *Trichoderma* spp. à agir en mycoparasites a été prouvée par plusieurs travaux (Elad et al., 1982 ; Elad et al. 1983; Ridout et al. 1988). La mise en évidence d'un tel comportement est en fonction des conditions physico-chimiques de la confrontation, milieu de culture, température, pH et d'autres facteurs ( Ridout et al.,1988).

Elad et al. (1983) ont décrit l'activité mycoparasitaire de *T.harzianum* et *T.hamatum* sur *Rhizoctonia solani* et *Sclerotium rolfsii*. Ce champignon s'attaque à son hôte en enroulant son mycélium autour des hyphes de l'hôte. Par la suite le mycoparasite pénètre dans les cellules de l'hôte et consomme le contenu cytoplasmique.

Par ailleurs, les différentes étapes du mycoparasitisme ont été largement évoquées par divers auteurs (Chet et al., 1981; Chet,1990 ; Elad ,1993).L'antagoniste commence à développer des hyphes en direction de ceux du pathogène. Par la suite, il y a contact, enroulement et enfin pénétration ce qui coïncide avec les événements mycoparasitaires observés lors de notre étude.

Dans le même sens, Benhamou et Chet (1996) ont signalé une altération du mycélium de *Sclerotium rolfsii* causée par *T. harzianum*, se traduisant par une agrégation, une rétraction et une vacuolisation du cytoplasme qui illustre bien le pouvoir hautement myco-parasitaire que possède *T. harzianum*. Des résultats similaires ont été obtenus avec *T. lignorum* qui est capable de s'enrouler sur le mycélium de *Rhizoctonia solani* causant ainsi une dissolution du cytoplasme de l'agent pathogène (Howell, 2003).

Ces observations sont aussi similaires à celles trouvées par ( Hibar et al., 2005 et 2007) qui ont travaillé sur *Trichoderma harzianum* contre *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* où des modifications profondes au niveau du mycélium du pathogène ont été observées. Ces modifications se traduisent par une forte lyse et par une transformation en cordons du mycélium de pathogène ont été observés. Des aspects similaires ont été entraînés par *Trichoderma* spp. sur les isolats de *Fusarium* responsables des pourritures sèches sur pomme de terre.

Les mêmes résultats ont été obtenus par Daami-Remadi (2001), où une lyse importante au niveau du mycélium de *Fusarium solani* var . *coeruleum*, *Fusarium roseum* var. *sambucinum* et *Fusarium roseum* var. *graminearum*, causée par *Trichoderma harzianum* a été observée.

### **3.3 Activité antifongique *in vitro* des extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans***

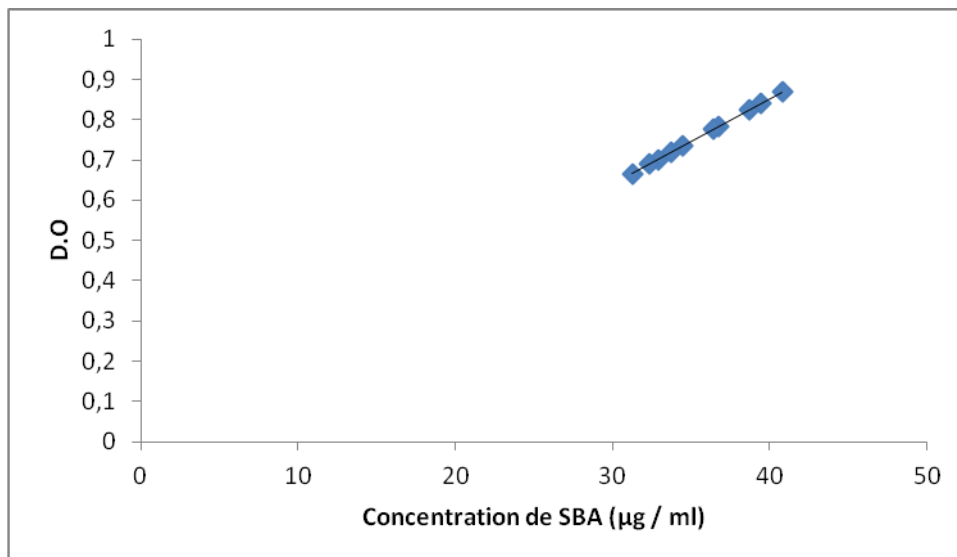
#### **3.3.1 Dosage des protéines des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp.**

Après la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'ondes  $\lambda = 595$  nm, les résultats de la densité optique de chaque dilution sont représentés sur le tableau 1 (voir annexe 3). Ils



seront par la suite reportés sur la figure 14 qui correspond à la courbe d'étalonnage de la densité optique (D.O) en fonction des concentrations.

La concentration en protéines de chaque échantillon d'extrait enzymatique est calculée par l'équation de la droite de la courbe d'étalonnage (Tableaux 2 et 3 voir annexe 3).



**Figure 14 :** Courbe d'étalonnage de Sérums Bovine Albumine

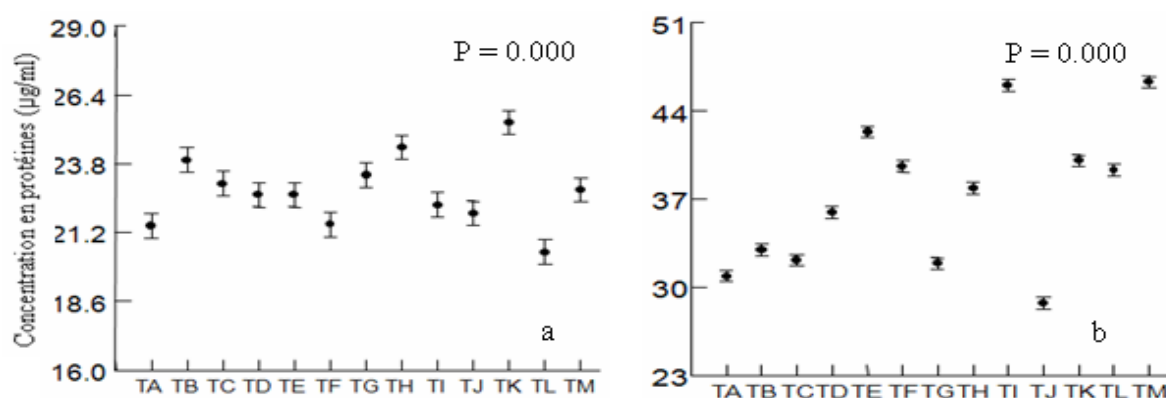
Selon le modèle GLM, La plus importante concentration en protéines a été notée pour l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TK (25,36 µg/ml) alors que, la plus faible correspond à l'isolat TL (20,47µg/ml) (Tableau 6).

Pour les extraits enzymatiques intracellulaires, la plus importante concentration en protéines a été enregistrée pour l'extrait enzymatique intracellulaire de l'isolat TM (46,30 µg/ml) alors que, la plus faible correspond à l'isolat TJ (28,74 µg/ml)( Figure 15) .

Il est à noter que les concentrations en protéines pour les extraits enzymatiques intracellulaires sont plus élevées par rapport aux concentrations en protéines pour des extraits enzymatiques extracellulaires (Tableaux 2 et 3 en annexe 3).

**Tableau 6. Analyse de la variance des concentrations en protéines selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.**

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Extraits enzymatiques extracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.	62,619	12	5,218	8,154	0.000
Extraits enzymatiques intracellulaires de <i>Trichoderma</i> spp.	1173,525	12	97,794	152,803	0.000



**Figure 15 : Analyse de la variance en modèle GLM des concentrations en protéines selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.**

- Concentration en protéines selon les extraits enzymatiques extracellulaires.
- Concentration en protéines selon les extraits enzymatiques intracellulaires.

### 3.3.2 Evaluation de l'activité antagoniste *in vitro* des extraits enzymatiques de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans*

#### 3.3.2.1 Inhibition de la croissance mycélienne

Les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp. montrent une faible inhibition de la croissance mycélienne des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* mis en contact avec les extraits enzymatiques extracellulaires et

intracellulaires de *Trichoderma* spp. ont montré une différence très hautement significative (P=0,000) entre les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires selon, les isolats de *Trichoderma* spp, les isolats de *Phytophthora infestans* et l'interaction entre extrait enzymatique et isolat de *Phytophthora infestans* (Tableau 7 ).

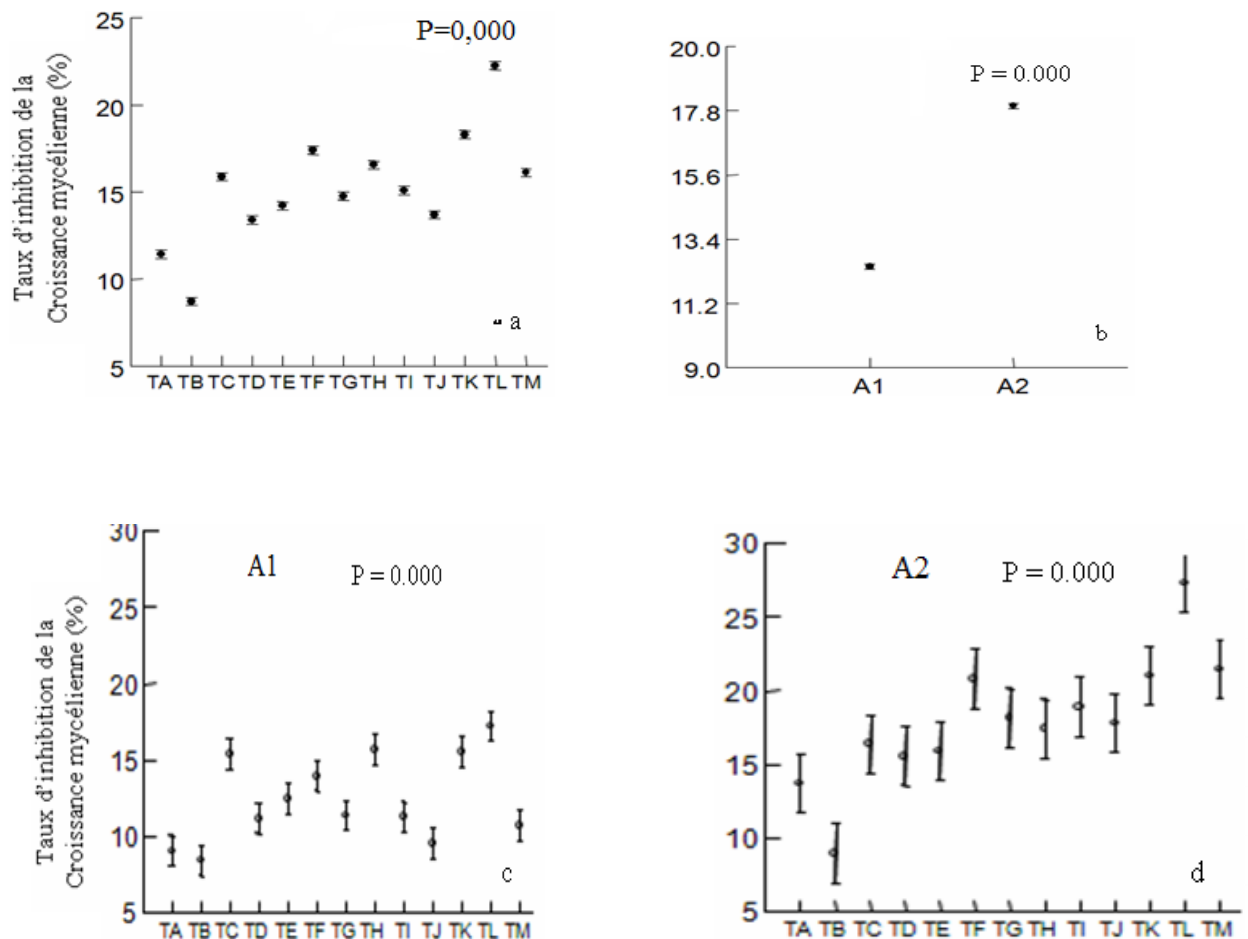
**Tableau 7. Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1et A2 de *Phytophthora infestans* selon le type d'extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp.**

Facteurs		Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	F
Extrait enzymatique extracellulaire	Extrait enzymatique extracellulaire des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.	784.981	12	65.415	198.088	0.0
	Isolats de <i>Phytophthora infestans</i>	591.691	1	591.691	1791.744	0.0
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	194.710	12	16.226	49.135	0.0
Extrait enzymatique intracellulaire	Extrait enzymatique intracellulaire des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.	1950.590	12	162.549	308.834	0.0
	Isolats de <i>Phytophthora infestans</i>	441.276	1	441.276	838.397	0.0
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	634.535	12	52.878	100.465	0.0

En effet, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne enregistrés par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires de *Trichoderma* spp. en contact avec les isolats A1et A2 demeurent très faibles en comparaison avec ceux enregistrés selon la technique de confrontation directe (Figure 16).

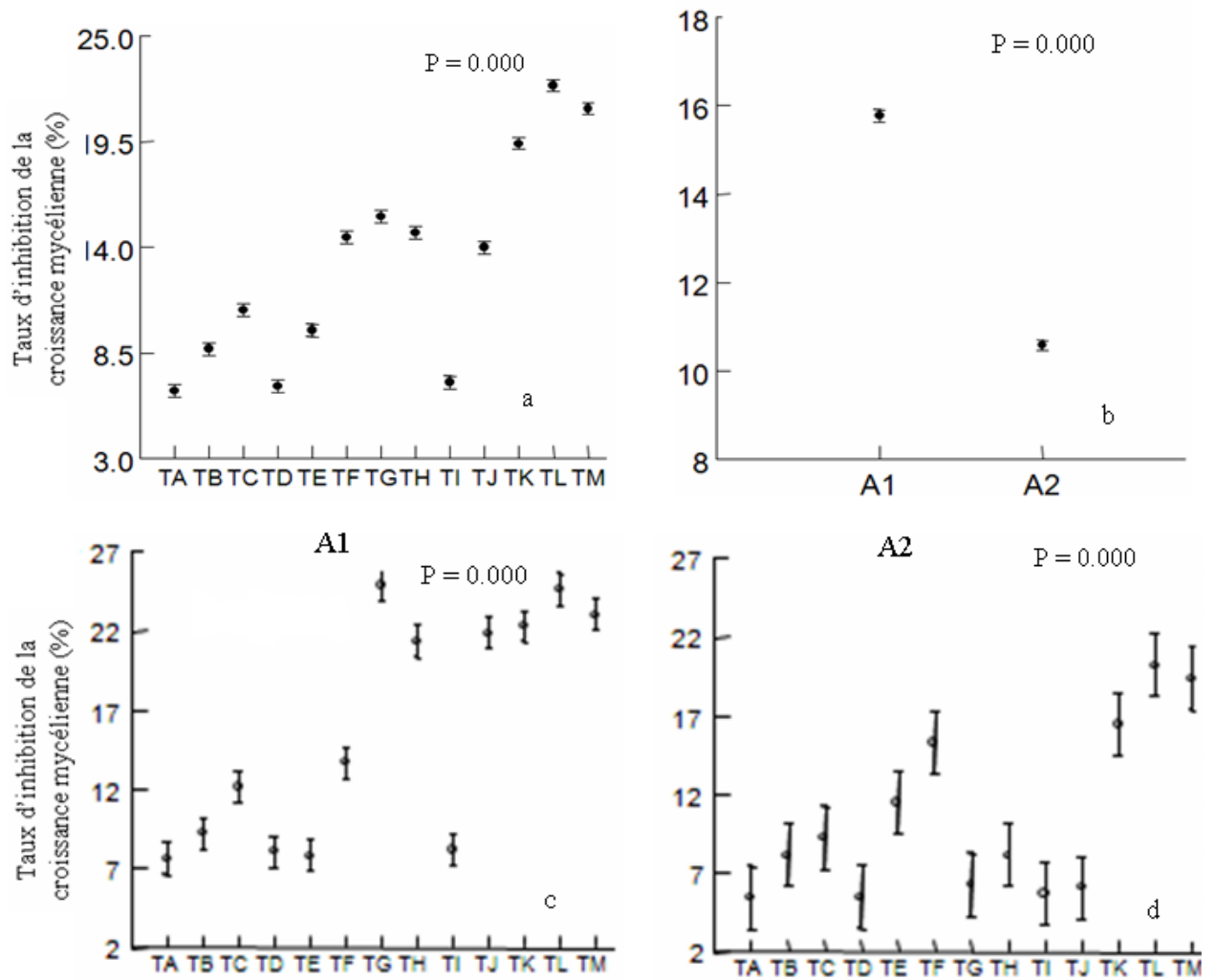
Ainsi, les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires n'ont pas complètement inhibé la croissance mycélienne de *Phytophthora infestans*. Cette dernière a été ralentie par ces extraits mais après le 8<sup>ème</sup> jour d'incubation elle a augmenté pour tous les extraits en contact avec les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

Selon le modèle GLM, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne restent faibles. Les plus importants taux ne dépassent pas 17,23% pour A1 et 27,48% pour A2 concernant l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TL. De même, les plus importants taux d'inhibition pour les extraits enzymatiques intracellulaires sont enregistrés également par l'extrait de l'isolat TL. Ils sont 24,63% et 20,22% respectivement pour les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* (Figure 17 et 18).



**Figure 17 : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire de *Trichoderma* spp.**

- Inhibition de la croissance mycélienne selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.
- Inhibition de la croissance mycélienne selon les isolats pathogènes A1 et A2.
- Inhibition de la croissance mycélienne selon l'isolat A1 de *Phytophthora infestans*.
- Inhibition de la croissance mycélienne selon l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.



**Figure 18 : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire de *Trichoderma* spp.**

- Inhibition de la croissance mycélienne selon l'isolat A1 de *Phytophthora infestans*.
- Inhibition de la croissance mycélienne selon l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.
- Inhibition de la croissance mycélienne selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.
- Inhibition de la croissance mycélienne selon les isolats pathogènes A1 et A2.

### 3.3.2.2 Inhibition de la sporulation et de la germination

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Phytophthora infestans* par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des

isolats de *Trichoderma* spp. a montré une différence très hautement significative (  $P=0,000$  ) entre les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires selon, les isolats de *Trichoderma* spp., les isolats de *Phytophthora infestans* et leur interaction (Tableau 8) .

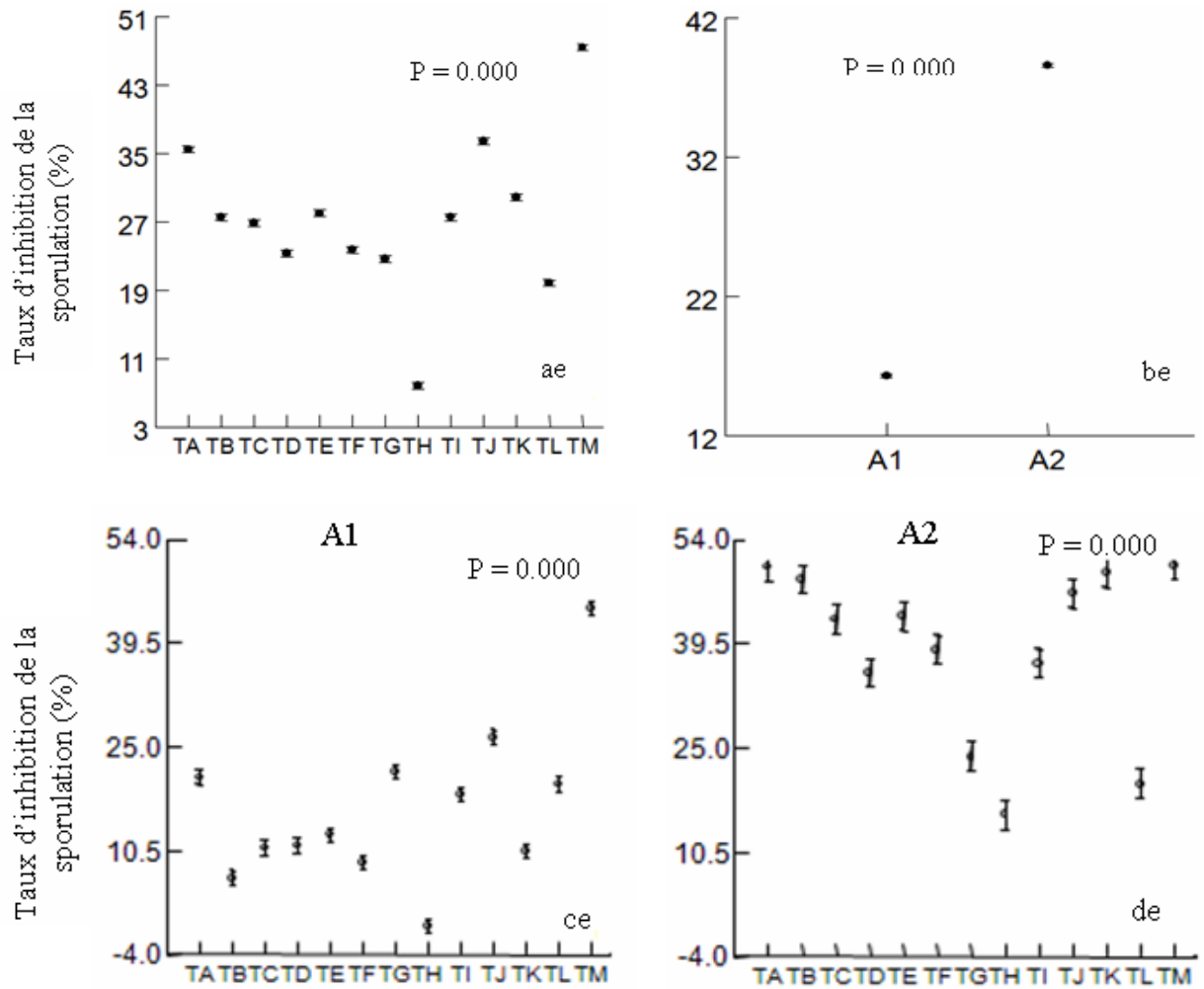
Selon le modèle GLM, le plus important taux d'inhibition de la sporulation (44,38%) a été enregistré pour l'isolat A1 avec l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TM et de 50,46% pour l'isolat A2 avec l'extrait enzymatique extracellulaire du même isolat.

Un taux d'inhibition de 48,95% a été enregistré pour l'isolat A1 et de 50,95% pour l'isolat A2 avec l'extrait enzymatique intracellulaire de l'isolat TL.

De même, le plus important taux d'inhibition de la sporulation a été enregistré pour l'isolat A2 de *P. infestans* selon les deux extraits enzymatiques de *Trichoderma* spp. (Figure 19 et 20).

**Tableau 8 :Analyse de la variance des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Phytophthora infestans* (A1et A2) selon le type d'extrait enzymatique des isolats de *Trichoderma* spp.**

Facteurs		Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	
Extrait enzymatique extracellulaire	Extrait enzymatique extracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp	6266.464	12	522.205	611.856	0.
	<i>Phytophthora infestans</i>	9684.448	1	9684.448	11347.053	0.
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	3199.130	12	266.594	312.362	0.
Extrait enzymatique intracellulaire	Extrait enzymatique intracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp	12379.947	12	1031.662	2824.617	0.
	<i>Phytophthora infestans</i>	8398.044	1	8398.044	22993.237	0.
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	6083.133	12	506.928	1387.931	0.



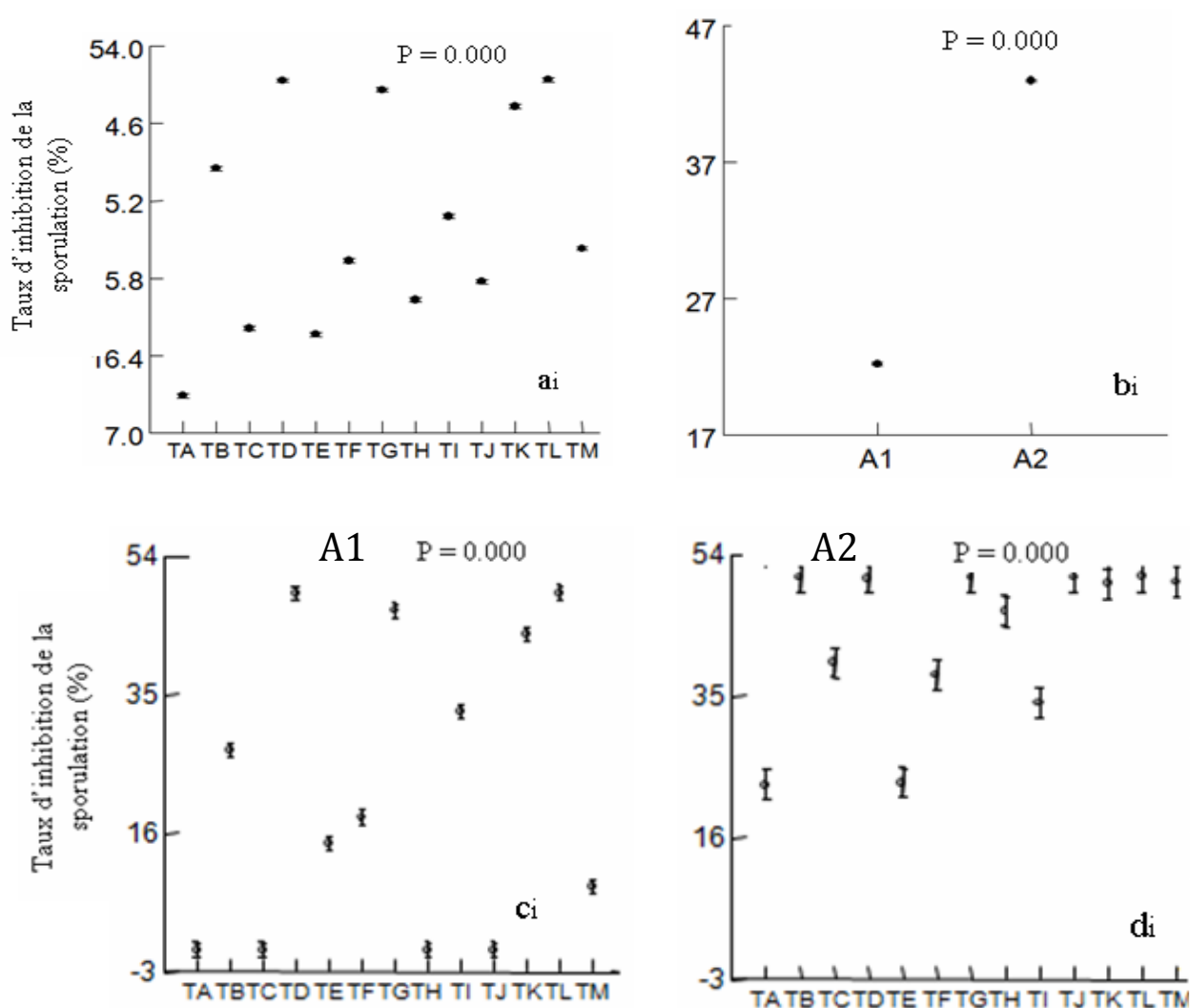
**Figure 19 : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma spp.***

**ae** : Inhibition de la sporulation selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma spp.*

**be** : Inhibition de la sporulation selon les isolats pathogènes A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

**ce** : Inhibition de la sporulation selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma spp.* et l'isolat A1 de *Phytophthora infestans*.

**de** : Inhibition de la sporulation selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma spp.* et l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.



**Figure 20 : Analyse de la variance en modèle GLM des taux d'inhibition de la sporulation des isolats de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.**

**ai** : Inhibition de la sporulation selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp .

**bi** : Inhibition de la sporulation selon les isolats pathogènes A1 et A2 de *Phytophthora infestans* .

**ci** : Inhibition de la sporulation selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l' isolat A1 de *Phytophthora infestans*.

**di** : Inhibition de la sporulation selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.



Par ailleurs, l'analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des isolats de *Phytophthora infestans* par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp. a montré une différence très hautement significative ( $P=0,000$ ) selon les extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp., les isolats de *Phytophthora infestans* et leur interaction (Tableau 9).

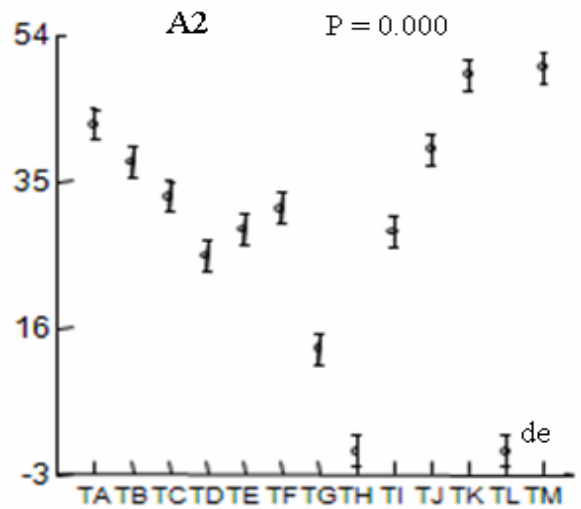
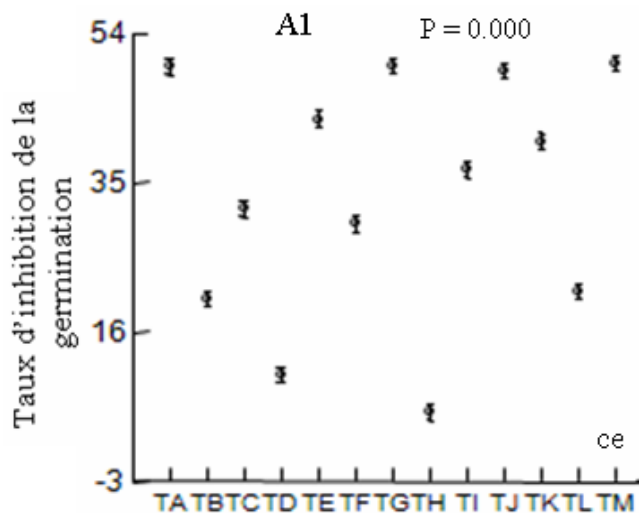
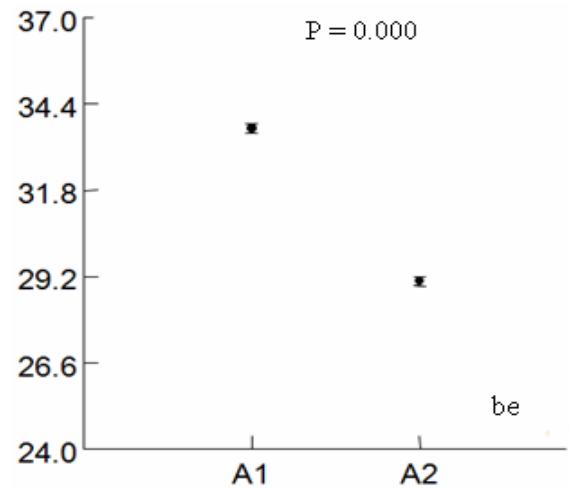
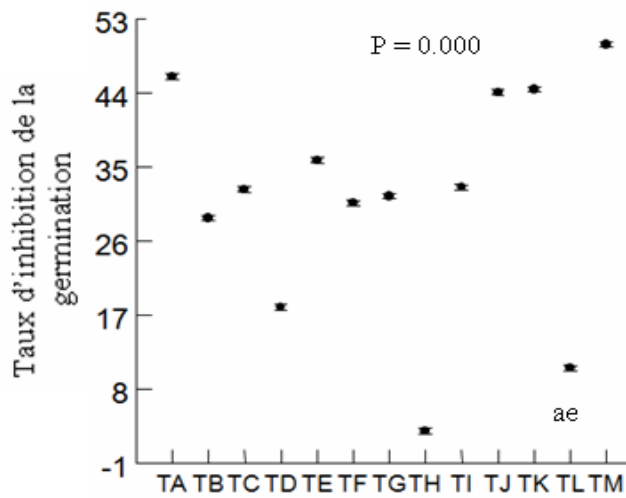
En modèle GLM, le plus important taux d'inhibition de la germination a été enregistré pour l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TM pour les isolats A1 (50,15%) et A2 (49,84%) de *Phytophthora infestans*.

Concernant les extraits enzymatiques intracellulaires, un taux d'inhibition de 50,85% a été enregistré pour l'isolat A1 et 50,25% pour celui de A2 avec l'extrait enzymatique intracellulaire de l'isolat TL.

Aussi, le plus important taux d'inhibition de la germination a été noté pour l'isolat A1 de *Phytophthora infestans* avec les deux types d'extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp. (Figure 21 et 22).

**Tableau 9 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des isolats de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire et intracellulaire de *Trichoderma* spp.**

Facteurs		Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Extrait enzymatique extracellulaire	Extrait enzymatique extracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp.	14103.920	12	1175.327	1719.335	0.000
	<i>Phytophthora infestans</i>	413.587	1	413.587	605.018	0.000
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	3841.786	12	320.149	468.332	0.000
Extrait enzymatique intracellulaire	Extrait enzymatique intracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp.	7541.480	12	628.457	1749.770	0.000
	<i>Phytophthora infestans</i>	2180.856	1	2180.856	6072.010	0.000
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	3449.076	12	287.423	800.252	0.000



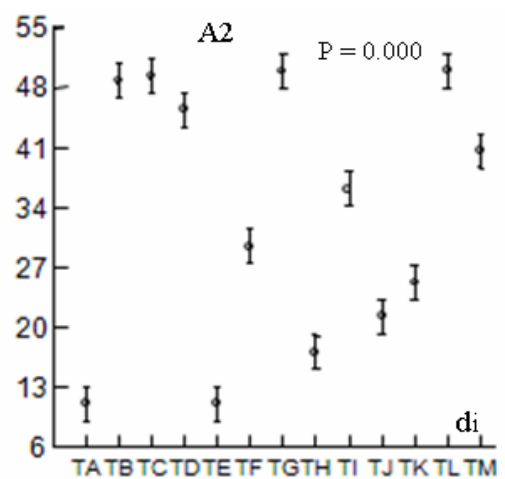
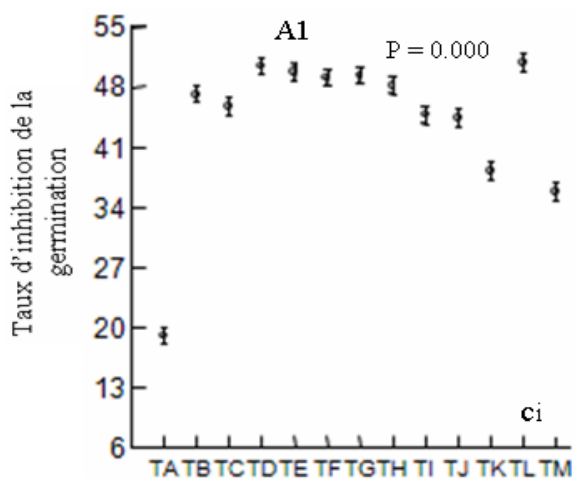
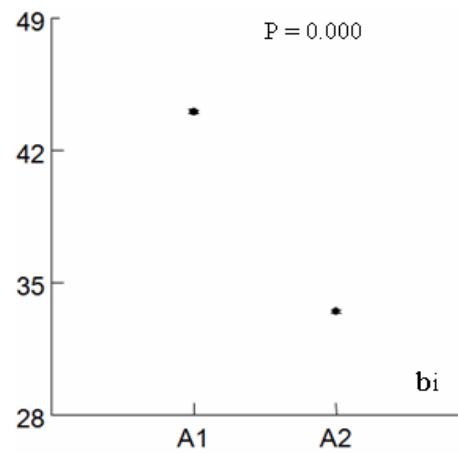
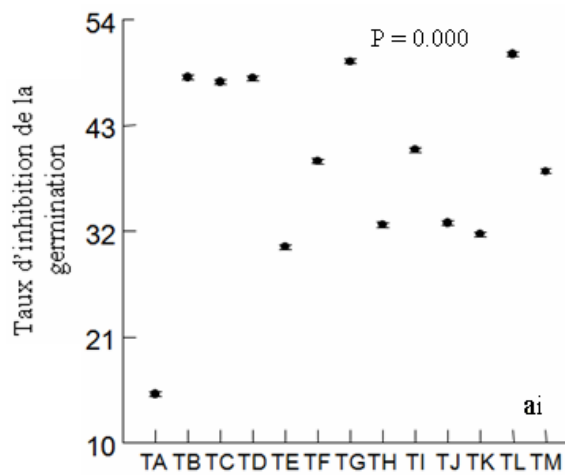
**Figure 21 :Analyse de la variance selon le modèle GLM de taux d'inhibition de la germination des isolats de *Phytophthora infestans* (A1et A2) par les extraits enzymatiques extracellulaires de *Trichoderma* spp.**

**ae** : Inhibition de la germination selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp .

**be** : Inhibition de la germination selon les isolats pathogènes A1 et A2 de *Phytophthora infestans* .

**ce** : Inhibition de la germination selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l' isolat A1 de *Phytophthora infestans*.

**de** : Inhibition de la germination selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.



**Figure 22 :Analyse de la variance selon le modèle GLM de taux d'inhibition de la germination des isolats de *Phytophthora infestans* (A1et A2) par les extraits enzymatiques intracellulaires de *Trichoderma* spp.**

**ai** : Inhibition de la germination selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp .

**bi** : Inhibition de la germination selon les isolats pathogènes A1 et A2 de *Phytophthora infestans* .

**ci** : Inhibition de la germination selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l' isolat A1 de *Phytophthora infestans*.

**di** : Inhibition de la germination selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.

Les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp. ont montré leur pouvoir inhibiteur beaucoup plus sur la sporulation et la germination des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*. La faible inhibition de la croissance mycélienne est en relation avec la qualité des protéines des parois cellulaires des isolats de *Phytophthora infestans* qui augmentent la résistance des parois à la dégradation par les enzymes extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp.

Dans le même contexte, les travaux de Bouziane et al. (2011) ont montré que les isolats de *Scytalidium* sp., *Ulocladium* sp., *Pythium* sp., *Phoma* sp. et *Melanconium* spp. ont présenté une résistance importante aux substances produites par *Trichoderma viride*. Leur croissance mycélienne était de 48,46mm, 49,33mm, 45,5mm, 66,5mm et 53,83mm, par rapport aux témoins 75,83mm, 70,91mm, 60,66mm, 74,25mm et 72,66m.

Plusieurs auteurs ont montré aussi que le mécanisme impliqué dans l'activité antagoniste par *Trichoderma harzianum* peuvent être résumé par la sécrétion de substances antifongiques, divers métabolites toxiques et d'antibiotiques qui sont impliqués dans l'inhibition et la lyse des champignons pathogènes (Dennis et Webster (1971a, 1971b), Claydon et al. (1987) et Lorito et al. (1994).

Selon Essalmani, H et al. (2002), les substances inhibitrices de *Trichoderma harzianum* ne sont pas de nature protéique. Elles inhibent la croissance mycélienne et ont une faible action fongicide sur les conidies de *Fusarium oxysporum*.

En effet, Dennis et Webster (1971c) ont pu isoler un antibiotique chez *T. viride* (Trichodermine), ces auteurs n'excluent pas toutefois la possibilité de production, chez cette espèce, d'autres antibiotiques tels que, la gliotoxine et la viridine découverts auparavant par d'autres chercheurs.

Ces mêmes auteurs ont prouvé que les *Trichoderma* produisent plus qu'un métabolite volatile actif et ont identifié l'acétaldehyde comme un des inhibiteurs utilisé par *T. viride*.

Par ailleurs, *T. harzianum* s'est montré capable de produire un certain nombre d'antibiotiques tels que : la trichodermine (McLean et al., 2004), la suzukaciline, l'alaméthicine, la dermadine, la pénicilline, la trichothicine et les trichorzianines (Vial, 1989). trichodermol A et harzianolide. (McLean et al., 2004) Ces composés sont responsables de l'inhibition de plusieurs champignons phytopathogènes.

Aussi, la production de métabolites antifongiques et d'autres composés inhibiteurs par les *Trichoderma*, tel que l'alkylpyrone a été rapportée par Dennis et Webster (1971 a et b), Tronsmo et Dennis (1978), Papavizas (1985) et Claydon et al. (1987).

En outre, il se trouve qu'il ya un grand choix de métabolites secondaires volatile produits par *Trichoderma* spp. tels que l'éthylène, le dioxyde de carbone, le cyanure d'hydrogène, les aldéhydes et les cétones, qui jouent un rôle important dans le contrôle des agents pathogènes des plantes (Vey et al., 2001 ; Faheem et al., 2010; Nagendra et Kumar, 2011).

Selon Ben Jannet et al. (2005), la production de composés volatils par *T. harzianum* comme la 1-hydroxy-3-méthylantraquinone a montré une forte capacité à limiter le développement de plusieurs champignons pathogènes du sol.

Simon et al. (1988) ont également rapporté que *T. koningii* produit le 6-pentyl-alpha-pyrone capable d'inhiber la croissance du mycélium de *Gaeumannomyces graminis*. Worsatit et al. (1994) ont supposé que le 6PAP joue un rôle important dans le contrôle de rhizoctone sur le blé.

### **3.3.4 Etude du pouvoir fongicide *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. et leurs extraits sur *Phytophthora infestans***

Les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* préalablement inhibés par les isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. n'ont pas repris leur croissance sur milieu PPA frais. Cependant, toutes les boîtes ont montré la croissance rapide de *Trichoderma* spp.

L'absence de survie des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* s'explique par la dégradation du mycélium et l'inhibition complète de la germination des sporanges des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

Par contre, en présence des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires de *Trichoderma* spp. les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* ont repris leur croissance sur milieu PPA frais. La croissance mycélienne de l'isolat A2 de *Phytophthora infestans* mis en contact avec les extraits enzymatiques intracellulaires des isolats TA, TB, TD, TG, TJ et TK séparément, est similaire à celui de l'isolat témoin A2 (85mm). Néanmoins, les deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* ont montré une croissance mycélienne importante dépassant les 70 mm avec les deux extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires sauf pour l'isolat A1 précédemment mis en contact avec les deux extraits enzymatiques extracellulaires des isolats antagonistes TG et TH dont leur croissance mycélienne est respectivement de 64,3mm et 68 mm.

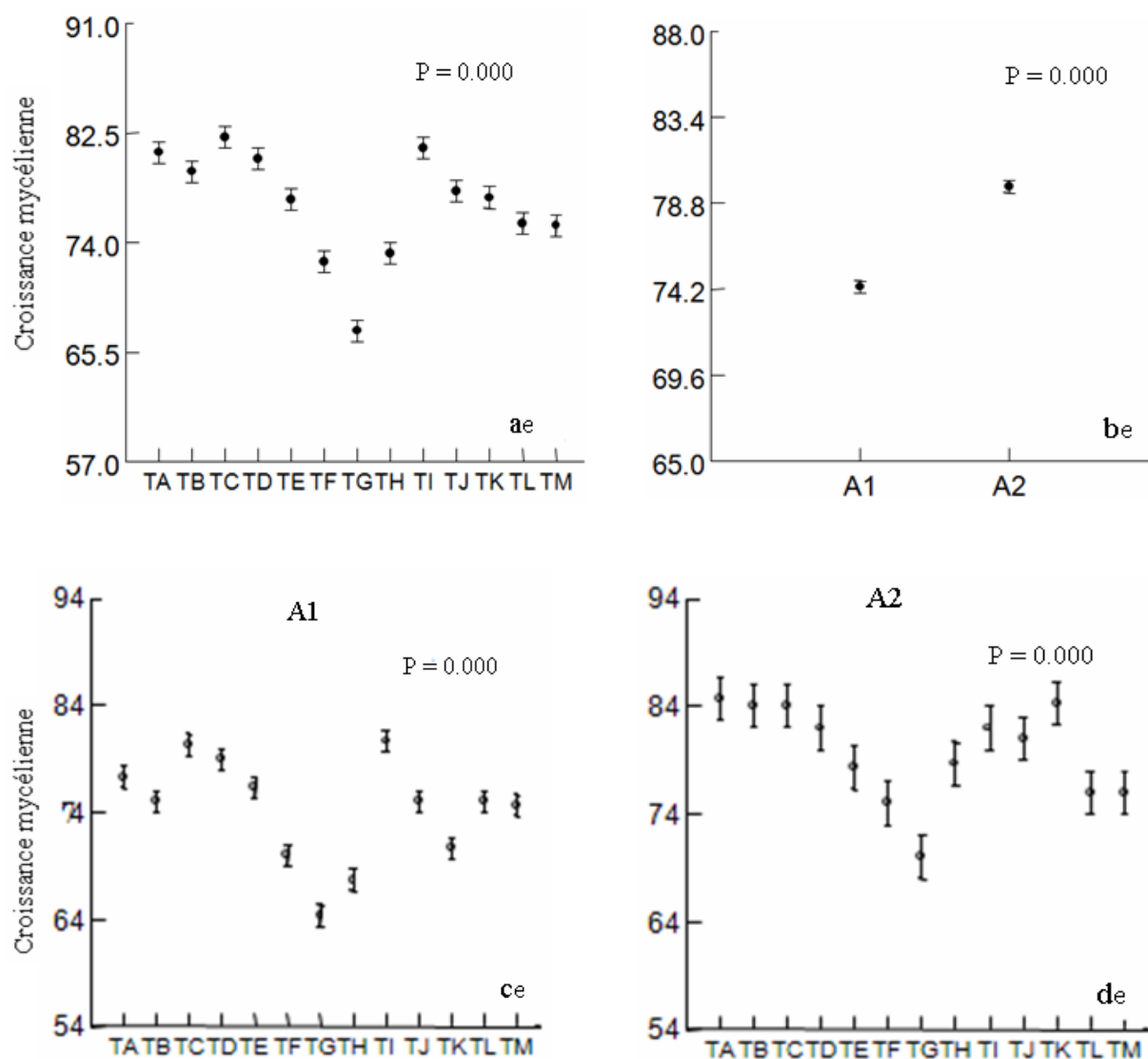
L'analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* préalablement inhibé par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires de *Trichoderma* spp. a montré une différence très hautement significative ( P=0.000) selon les

extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp., les isolats de *Phytophthora infestans* et leur interaction (Tableau 10) .

Selon le modèle GLM, la plus importante croissance mycélienne est enregistrée pour l'isolat A2 en présence des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires (Figure 24 et 25).

**Tableau 10 :Analyse de la variance de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* préalablement inhibés par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires de *Trichoderma* spp.**

Facteurs		Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Extrait enzymatique extracellulaire	Extrait enzymatique extracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp	1308.000	12	109.000	25.080	0.000
	<i>Phytophthora infestans</i>	565.385	1	565.385	130.088	0.000
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	284.615	12	23.718	5.457	0.000
Extrait enzymatique intracellulaire	Extrait enzymatique intracellulaire de <i>Trichoderma</i> spp	372.128	12	31.011	15.505	0.000
	<i>Phytophthora infestans</i>	738.462	1	738.462	369.231	0.000
	Extrait + <i>Phytophthora infestans</i>	341.205	12	28.434	14.217	0.000



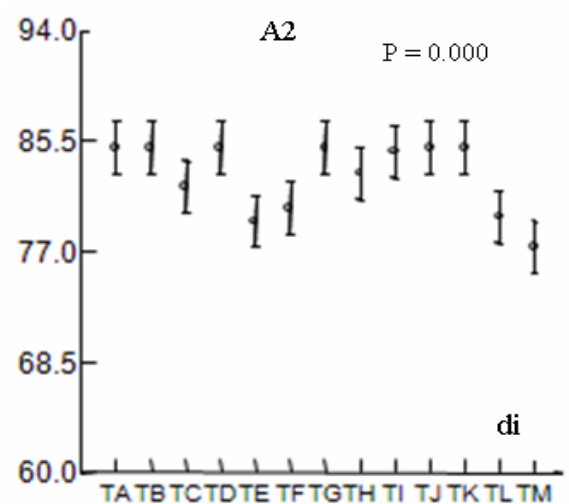
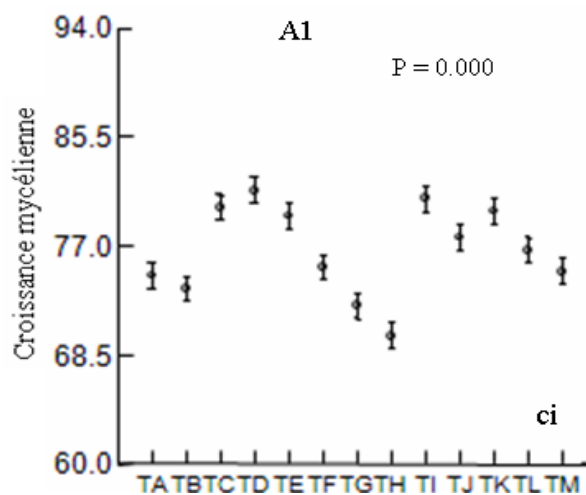
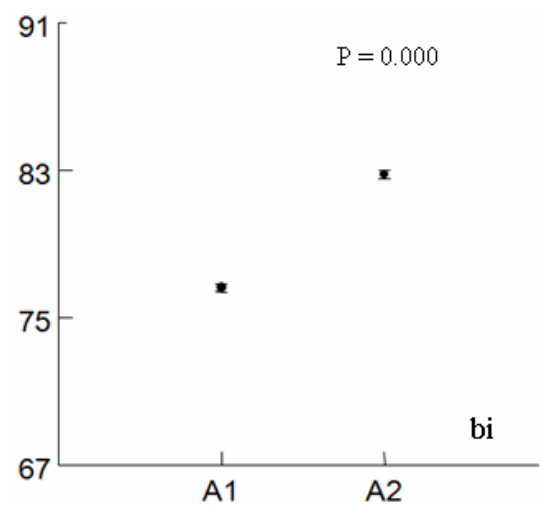
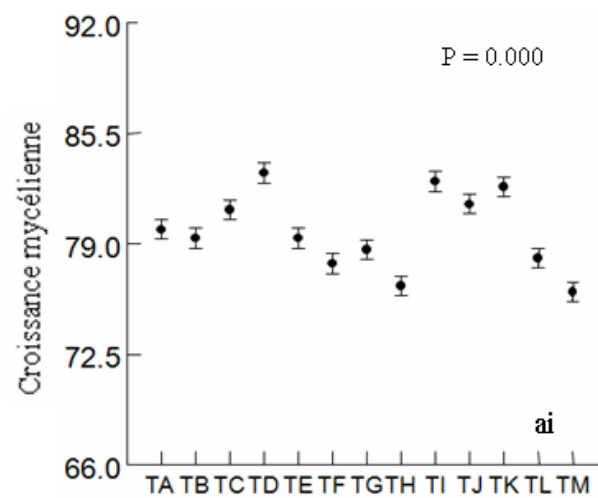
**Figure 24 : Analyse de la variance selon le modèle GLM de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* préalablement inhibés par les extraits enzymatiques extracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp.**

**ae :** Croissance mycélienne des deux isolats de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.

**be :** Croissance mycélienne selon les isolats pathogènes A1 et A2 de *Phytophthora infestans* .

**ce :** Croissance mycélienne selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l'isolat A1 de *Phytophthora infestans*.

**de :** Croissance mycélienne selon le type d'extrait enzymatique extracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l'isolat A2 de *Phytophthora infestans*.



**Figure 25 : Analyse de la variance selon le modèle GLM de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora infestans* préalablement inhibés par les extraits enzymatiques intracellulaires des isolats de *Trichoderma* spp.**

**ai :** Croissance mycélienne des deux isolats de *Phytophthora infestans* selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp.

**bi :** Croissance mycélienne selon les isolats pathogènes A1 et A2 de *Phytophthora infestans* .

**ci :** Croissance mycélienne selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l' isolat A1 de *Phytophthora infestans*.

**di :** Croissance mycélienne selon le type d'extrait enzymatique intracellulaire des isolats de *Trichoderma* spp et l' isolat A2 de *Phytophthora infestans*

Ces résultats affirment que les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires n'ont aucun effet sur la survie des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.



### 3.4 Etude de l'activité antagoniste *in vivo* des extraits enzymatiques des isolats de *Trichoderma* spp. sur *Phytophthora infestans*

Tous les disques foliaires traités par les extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires de *Trichoderma* spp. et inoculés par les isolats de *Phytophthora infestans* ont développé des symptômes caractéristiques du mildiou. En effet, les symptômes sont apparus en premiers sur les disques traités avec les extraits enzymatiques extracellulaires des isolats antagonistes TH, TL, TD et TJ et les extraits enzymatiques intracellulaires de ceux de TC, TD, TK et TA (Figure 26).

Quant aux disques foliaires du témoin négatif inoculés avec de l'eau distillée stérile, les feuilles sont restées intactes.

Les résultats obtenus confirment ceux trouvés *in vitro*. Les extraits enzymatiques des isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. n'ont pas inhibé le pouvoir pathogène des isolats de *Phytophthora infestans* ni réduit son inoculum.

Les mécanismes mis en jeu par *Trichoderma* spp. *in vivo* seraient les mêmes que ceux mis en évidence *in vitro*. Le mycoparasitisme, la sécrétion des substances volatiles et diffusibles et la compétition pour l'espace et les nutriments (Benhamou et al., 1996 ; Daami-Remadi, 2001 ; Elad et al., 1983 ; Howell, 2003).

Confirmant ainsi que, les extraits protéiques de *Trichoderma* spp. ne sont pas responsables de la réduction de l'inoculum ni de l'inhibition de leur pathogénicité.

### 3.5. Etude de l'activité enzymatique de *Trichoderma* spp. sur milieu solide

L'activité protéolytique des 13 isolats de *Trichoderma* spp. est caractérisée par la présence d'une zone protéolyse.

Cette zone est variable selon les isolats. Elle est comprise entre 8,3mm et 10,3mm, la plus élevée est enregistrée pour les isolats antagonistes TH et TM (10,3mm), alors que la plus faible par celui de TF (8,3mm) (Tableau 11).

**Tableau 11** : Activité protéolytique de 13 isolats de *Trichoderma* spp.

Isolats	TA	TB	TC	TD	TE	TF	TG	TH	TI	TJ	TK	TL	TM
Zone de protéolyse(mm)	9,5	8,7	9,0	8,7	8,7	8,3	9,0	10,3	9,3	9,7	10,0	9,7	10,3

Les protéases représentent la seule classe des enzymes qui occupe une place essentielle dans les différentes applications industrielle, biotechnologique, médicale et dans les domaines de recherche (Coral *et al.*, 2003; Sandhya *et al.*, 2005). Elles ont été utilisées pour la première fois dans l'industrie alimentaire comme des agents de coagulation pour la production de fromage (Sandhya *et al.*, 2004).

Pour l'activité chitinolytique, aucune zone chitinolyse n'a été observée pour les 13 isolats de *Trichoderma* spp. .

**CONCLUSION GENERALE**  
**ET**  
**PERSPECTIVE**

## Conclusion générale et perspectives

L'étude de l'activité antagoniste des 13 isolats de *TRICHODERMA SPP.* VIS A VIS DE deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* agent responsable du mildiou de la pomme de terre a été réalisée par la méthode de confrontation directe et par la technique du contact direct des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires des isolats antagonistes avec ceux des isolats pathogènes.

Les essais de confrontation directe ont révélé une forte inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène. Au bout de six jours d'incubation, les boîtes ont été totalement envahies par l'antagoniste.

Aussi, une légère variabilité a été décelée entre les taux d'inhibition des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*, variant de 64,46 % à 72,62 % pour l'isolat A1 et 62,59 % à 67,48 % pour celui de A2, selon les 13 isolats de *Trichoderma spp.*

Par ailleurs, des modifications structurales ont été traduites par une lyse et une désintégration du mycélium, une vacuolisation du cytoplasme, l'enroulement du mycélium du *Trichoderma spp.* sur celui du *Phytophthora infestans* et l'éclatement des sporanges de ce dernier.

Également, une importante inhibition a affecté la sporulation (93% - 100%) et la germination (100%) des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

De même, aucune reprise de croissance n'a été présentée par les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* préalablement inhibés par les isolats antagonistes de *Trichoderma spp.*

L'effet inhibiteur des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires était relativement faible sur la croissance mycélienne des deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*. Les plus importants taux d'inhibition étaient enregistrés par l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TL qui, ne dépassaient pas 17,23% pour l'isolat A1 et 27,48% pour celui de A2.

Cependant, les extraits enzymatiques intracellulaires du même isolat ont enregistré des taux d'inhibition plus élevés respectivement de 24,63% et 20,22% pour les isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans*.

Par ailleurs, les deux types d'extraits enzymatiques de l'ensemble des isolats de *Trichoderma spp.* ont montré un pouvoir inhibiteur modéré sur la sporulation et la germination des deux isolats de *Phytophthora infestans*. Les plus importants taux d'inhibition de la sporulation étaient respectivement de 44,38% pour l'isolat A1 et 50,46% pour celui de

A2 avec l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TM, alors qu'ils étaient respectivement de 48,95% et 50,95% pour les isolats A1 et A2 pour l'extrait enzymatique intracellulaire de l'isolat TL.

Quant à la germination, les taux d'inhibition les plus élevés étaient enregistrés pour l'extrait enzymatique extracellulaire de l'isolat TM avec respectivement 50,15% et 49,84% pour les isolats A1 et A2 ainsi que 50,85% et 50,25% pour les extraits enzymatiques intracellulaires de l'isolat TL, concernant les mêmes isolats pathogènes.

Il est important de souligner l'absence de modifications morphologiques affectant l'agent pathogène concernant l'activité des extraits enzymatiques des isolats antagonistes.

La survie des isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* a été également remarquable concernant l'activité des extraits enzymatiques de l'ensemble des isolats antagonistes.

Dans ce sens, les extraits enzymatiques de l'ensemble des isolats de *Trichoderma* spp. n'ont pas d'effet mycoparasitaire sur les isolats de *Phytophthora infestans*. On peut donc interpréter le pouvoir inhibiteur et mycoparasitaire observés selon la technique de confrontation directe par des métabolites secondaires produits par les isolats de *Trichoderma* spp.

L'étude de l'activité protéolytique des isolats de *Trichoderma* spp. sur milieu Czapek-Dox- agar a montré des zones protéolyses dont la plus élevée (10,3mm) a été enregistrée pour les deux isolats antagonistes TH et TM. Il serait intéressant donc, d'optimiser la production en masse de ces deux isolats de *Trichoderma* spp. pour la production de protéases.

Il est aussi important de proposer l'ensemble des isolats de *Trichoderma* spp. comme agents de lutte biologique contre le *Phytophthora infestans*.

Il est important aussi de rechercher l'effet fongicide et identifier les substances responsables des mécanismes mycoparasitaires observés par la technique de confrontation directe.

Comme, il serait préférable d'étudier leurs effets fongicides à l'égard de *Phytophthora infestans* sur les variétés de pomme de terre les plus utilisées en Algérie.

En conclusion, les résultats obtenus mériteraient d'être développés par une étude en plein champ afin de, se rapprocher des conditions naturelles et confirmer les résultats obtenus par l'application des extraits enzymatiques extracellulaires et intracellulaires sur les disques foliaires de pomme de terre inoculés par les deux isolats A1 et A2 de *Phytophthora infestans* et connaître leur effet sur l'induction et la stimulation des mécanismes de défense de la plante.

Il serait important dans les études ultérieures de :

- ✓ Identifier les enzymes intracellulaires et extracellulaires produites par l'ensemble des isolats de *Trichoderma* spp. pour les exploiter dans l'industrie,
- ✓ Etudier l'activité antifongique de la fraction non protéique, pour confirmer son pouvoir inhibiteur *in vitro* sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination de l'agent pathogène,
- ✓ Identifier les principes actifs responsables de la réduction de *Phytophthora infestans* et de son pouvoir pathogène en vue de la formulation de fongicide pour une meilleure gestion du mildiou de la pomme de terre en Algérie,
- ✓ Utiliser les 13 isolats de *Trichoderma* spp. dans le biocontrôle des autres champignons phytopathogènes.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1-**Agrawal D., Patidar P., Banerjee T. and Patil S. (2005)**. Alkaline protease production by a soil isolate of *Beauveria felina* under SSF condition: parameter optimization and application to soy protein hydrolysis. *Process Biochemistry*, 40: 1131-1136.
- 2- **Agrios G.N.( 1997)** . Plant Pathology 5<sup>ème</sup> edition, 952p.
- 3-**Agriplan, (2013)**. Étude du secteur de la pomme de terre en Algérie.[http://www.agriplan.eu/files/files/1201jr001\\_algeria\\_-\\_fra\\_final\\_sm.pdf](http://www.agriplan.eu/files/files/1201jr001_algeria_-_fra_final_sm.pdf) .Consulté le 02 Janvier 2015.
- 4-**Akbari L.F. and Parakhi A.M. (2007)**.Eco-friendly approaches to manage blight of sesame. *J.Mycol. Pl.Pathol.* **37** (3): 389-400.
- 5-**Akhtar M.S.et Siddiqui Z.A. (2008)**. Arbuscular mycorrhizal fungi as potential bio protectants against plant pathogens. *Mycorrhizae Sustainable Agriculture and Forestry*. 7: 61–97.
- 6-**Andriveau D. ( 1995)**. Biology, ecology and epidemiology of the potato late blight pathogen *Phytophthora infestans* in soil. *Phytopathology*. 85:1053-1056.
- 7-**Andriveau D. (1996)**. The origin of *Phytophthora infestans* populations present in Europe in the 1840: a critical review of historical and scientific evidence. *Plant Pathology*. 45:1028-1036.
- 8-**Arakawa T., Yu J. and Langridge W.H. ( 1999)**. Food plant-delivered cholera toxin B subunit for vaccination and immunotolerization. *Adv .Exp. Med. BioI.* 464:161-178.
- 9-**Avila-Adame C.,Gomez-Alpizar L., Zismann V.,Jones K.M., Buell C.R. and Ristaino J.B. (2006)**. Mitochondrial genome sequences and molecular evolution of the Irish potato famine pathogen, *Phytophthora infestans*. *Curr. Genet.* 49: 39-46.
- 10-**Baker R. (1988)**. *Trichoderma* spp. as plant-growth stimulants. *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* 7 (2) : 97-106.
- 11-**Bayer. (2015)**. Mildiou, la principale maladie des pommes de terre.Bayer-Agri.fr. <http://www.bayer-agri.fr/protection-cultures/mildiou-de-la-pomme-de-terre/mildiou-la-principale-maladie-des-pommes-de-terre/>. Consulté le 02 Janvier 2015.
- 12-**Bencheikh K. ( 2012 )**. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* sp. à l'égard de *Phytophthora infestans* Mont. de Bary. Agent causal du mildiou de la pomme de terre. Thèse de Master II en Biotechnologie des plantes aromatiques, médicinales et des produits naturels. Université Saad Dahleb Blida. 60p.
- 13-**Benhamou N. and Chet I. (1996)**. Parasitism of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology*. 86(4) : 405-416.



14-**Benhamou N. and Chet I. (1997)**. Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 2095–2099.

15-**Ben Jannet H., Dabbabi N., Boughalleb N.,Mahjoub M. and Mighri Z. (2005)**. Étude chimique et antifongique d'extraits volatils et d'un principe actif du *Trichoderma harzianum*. *J. Soc. Alger. Chim.* 15(1), 141-150.

16-**Benoît B. (2012)**. Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France (BDNFF v4.02). <http://www.tela-botanica.org/> .Consulté le 05 Janvier 2015.

17-**Berber F. , Ouazzani A .T . , Badoc A.et Douira A .( 2009)**.Antagonisme *in vitro* et *in vivo* de deux *Trichoderma* à l'égard de quatre espèces de *Bipolaris* pathogènes sur le sorgho. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 148: 93-114.

18-**Bissett J. (1991)**. Revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Pachybasium*.(a). *Can. J. Bot .* 69 : 2373-2417.

19-**Bissett J. (2004)**.Commentaires de l'adresse internet suivante : [http://www. Medicalglossary .org/fungi\\_mitosporic\\_fungi\\_definitions.html](http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html).

20-**Blumenthal C.Z. ( 2004)**.Production of peptide metabolites in *Aspergillus niger*, *A. oryzae* and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regul. Toxicol. pharmacol.* 39 (2) : 214-228.

21-**Bönisch D., Hunziker L. et Weisskopf L. (2014)**. Les bactéries de la rhizosphère freinent la croissance de l'agent du mildiou. *Recherche Agronomique Suisse* 5 (10): 430–433.

22-**Bouakaz K.et Oussaid Y. (2013)**. Enquête sur le mildiou de la pomme de terre en Algérie.  
Evaluation de l'efficacité des fongicides vis-à-vis de *Phytophthora infestans*.

23-**Bouziane Z. , Dehimat L. , Kacem Chaouche N. et Abdel Aziz W. (2011)**.La compétition de *Trichoderma viride* vis-à-vis des souches fongiques pathogènes de *Zea mays* . *Sciences and Technologies* (33) :31-37.

24-**Bradford M. (1976)**. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals of Biochemistry*, 72:248-254.

25-**Caldwell . (1998)**. Late Blight. *Organic Farms, Folks and Foods*. January-February, 9 p.

26-**Camporota P.( 1985)**. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Agronomie* 5 (7) : 613-620.

27-**Caron J. (2002)**. Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma*. Conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi le 5 décembre 2002.

<http://www.agrireseau.qc.ca/petitsfruits/Documents/trichoderma.PDF>. Consulté le 09 Janvier 2015.

- 28-CAW .(2007).Les ravages du mildiou. Chambre d'agriculture de la wilaya de Ain Defla .
- 29-Chehat F. (2008). La filière pomme de terre Algérienne : une situation précaire. Journée d'étude sur la filière pomme de terre : Situation actuelle et perspectives. I.N.A. El Harrach, le 18 Juin 2008, Alger : 1-11.
- 30-Chet I. et Baker R.( 1980) . Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. *Phytopathology*. 70(10): 994-998.
- 31-Chet I., Harman G.E. and Baker R. (1981). *Trichoderma hamatum*; Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology* 45: 29-38.
- 32-Chet I. ( 1987). *Trichoderma*-application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soil-borne plant pathogenic fungi. Innovative approaches to plant disease control. New York: Wiley, 372 p.
- 33-Chet I. (1990). Mycoparasitism -recognition, Physiology and Ecology in: New Directions in Biological Control: Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases (7):25-133.
- 34-Chevaugon J. (1979). *Phytophthora infestans*: un exemple d'interventions de l'homme sur la structure d'une espèce parasite. Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques. 126(4) : 21-44.
- 35-Claydon N., Allan M. , Hanson J.R. and Avent A.G. ( 1987). Antifungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*. *Transactions of the British Mycological Society* (88): 503-13.
- 36-Cole J.S.and Zvenyika Z.( 1988). Integrated control of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* in tobacco transplants with *Trichoderma harzianum* and triadimenol. *Plant Pathol*. 37(2) : 271-277.
- 37-Compobello E.; Drenth H.H. et Leifrink R.S. (2002). Culture professionnelle de Pomme de terre. Plantation. 2<sup>ème</sup> édition. NIVVA : 22p.
- 38- Coral G., Arikani B., Ünal M. N. and Güvenmez H. (2003). Thermostable alkaline protease produced by an *Aspergillus niger* strain. *Annals of Microbiology*, 53 (4): 491-498.
- 39-Corbière R. et Glais I. (2005). Evaluation du comportement de génotype de pomme de terre vis-à-vis de la forme sexuée de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou. Méthode d'appréciation du comportement variétal vis-à-vis des bioagresseurs. *Le cahier des techniques de l'INRA*. France : 149-152 pp.
- 40-Daami-Remadi M. ( 2001) . Lutte biologique contre les *Fusarium* spp. agents pathogènes responsables de la pourriture sèche des tubercules de pomme de terre. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies en Protection des Plantes et Environnement. Ecole Supérieure d'Horticulture et d'Elevage de Chott Mariem, 72 p.
- 41-Danielson R.M. and Davey D.E. (1973). The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*( 5): 486-494.

42-Davet P., Artigues M. et Martin C. (1981). Production en conditions non aseptiques d'inoculum de *Trichoderma harzianum* Rifai pour des essais de lutte biologique. *Agronomie* 1(10) : 933-936.

43-Davet P. (1986). Activité parasitaire des *Trichoderma* spp. vis-à-vis des champignons à sclérotés; corrélation avec l'aptitude à la compétition dans un sol non stérile. *Agronomie* 6 (9) : 863-867.

44-Dendouga W. (2006). Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Thèse de Magister en Biochimie-Microbiologie appliquées. Université Mentouri Constantine. 80p.

45-Dennis C. et Webster J. (1971a). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. I. Production of non volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* (57): 25-39.

46-Dennis C. et Webster J. (1971b). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. II. Production of volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* (57): 41-48.

47-Dennis C. et Webster J. (1971c). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interactions. *Trans. Br. Mycol. Soc.* (57): 363-369.

48-DSA d'El Oued. (2016). El-Oued: quelque 4.800 tonnes de pomme de terre en voie d'exportation. Direction des Services Agricoles de la wilaya d'El Oued,

49-Du J., Verzaux E., Chaparro-Garcia A., Bijsterbosch G., Paul Keizer L.C., Zhou J., WH Liebrand T., Xie C., Govers F., Robatzek S., AG van der Vossen E., Jacobsen E., GF Visser R., Kamoun S and GAA Vleeshouwers v. (2015). La reconnaissance élicite confère une meilleure résistance à *Phytophthora infestans* dans la pomme de terre. <http://www.ledevoir.com/societe/science-et-technologie/435924/decouverte-d-un-gene-resistant-au-mildiou-de-la-pomme-de-terre>. Consulté le 09 Janvier 2015.

50-Dubey S.C., Suresh M. and Singh B. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. *Ciceri* for integrated management of chickpea wilt. *Biol. Contr.* (40): 118-127.

51-Duvauchelle S. and Andrivon D. (1996). Le mildiou et son agent *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. In P. Rousselle, Y. Robert et J. C. Crosnier (Eds.), La Pomme de terre INRA Editions. Paris., 281-291p.

52-Elad Y., Chet T. and Henis Y. (1982). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.* (28):719-725.

53-Elad Y., Barak K.R. and Chet I. (1983). Possible role of lectins in mycoparasitism. *Journal of Bacteriology.* (154): 1431-1435.

54-Elad Y. (1993). Microbial suppression of infection by foliar plant pathogens. *IOBC Bull.* 16:3-7.

55-Elad Y. (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop. Prot.* (19): 709-714.

56-Elbaz A., Levecque C., Clavel J., Vidal J.S., Richard F., Amouyel P., Alperovitch A., Chartier-Harlin M.C. and Tzourio C. (2004). CYP2D6 polymorphism, pesticide exposure, and Parkinson's disease. *Ann. Neurol.* (55): 430-434.

57-Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. (1996). *Phytophthora* diseases worldwide. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN: 562p.

58-Essalmani H. et Lahlou H. (2002). Etude *in vitro* de l'activité antagoniste de quelques microorganismes à l'encontre de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*. *Mycologie*, 23 :221-234.

59-Faheem A., Razdan V.K., Mohiddin F.A, Bhat K.A and Sheikh P.A. (2010). Effect of volatile metabolites of *Trichoderma* spp. against seven fungal plant pathogens *in vitro*. *J. Phytol.* 2(10): 34-37.

60-FAO. (2014). Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. <http://faostat3.fao.org>.

61-Fay J.et Fry W.(1997).Effects of hot and cold temperatures on the survival of oospores produced by United States strains of *Phytophthora infestans* .*American journal of potato Research* (74):315-323.

62-Fialho M., Germano da Silva M. et Van Der Sand S. T.( 2010). Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces* sp. R18(6), a potential biocontrol agent. *Research in Microbiology* 161(7): 565–572.

63-Freeman S., Minz D., Kolesnik I., Barbul O., Zreibil A., Maymon M., Nitzani Y., Kirshner B., Rav-David D., Bilu A.,Dag A., Shafir S. and Elad Y.(2004). *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea*, and survival in strawberry. *Eur. J. Plant Pathol* (110): 361-370.

64-Fry W.E., Goodwin S. D., Matuszak J. M., Spielman L.J. and Milgroom M. G. (1992).Population genetics and intercontinental migration of *Phytophthora infestans*. *Annual Review of Phytopathology* (30): 107-129.

65-Galanaud J.P., Elbaz A.,Clavel J., Vidal J.S., Corree J.R., Alperovitch A. and Tzourio C. (2005). Cigarette smoking and Parkinson's disease: A case-control study in a population characterized by high prevalence of pesticide exposure. *Movement Disord* (20): 181-189.

66-Gams W.G. et Bissett J.,(1998).Morphology and identification of TRICHODERMA.

TRICHODERMA and GLIOCLADIUM. Vol. 1. Basic biology, taxonomy and genetics. London: Taylor & Francis Ltd. P: 3–25 .

67-Gary E. (1998). TRICHODERMA ET GLIOCLADIUM. EDITED BY G.E.,HARMAN AND C. P.KUBICEK,

P: 367.

- 68-**Gaucher D., Duvauchelle S. and Andrivon D. (1998).** Mildiou de la pomme de terre – le champignon évolue, la lutte aussi! Perspectives agricoles (236):1-20.
- 69-**Genilloud O., Pelaez F., Gonzalez I. and Diez M.T.( 1994).** Diversity on actinomycetes and seaweeds from the Iberian coasts. *Microbiologia* (10): 413-422.
- 70-**Gisi U. and Cohen Y. (1996).** Resistance to phenylamide fungicides : a case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. *Annu. Rev. Phytopathol.* (34): 549-572.
- 71-**Gómez-Alpizar L., Carbone I. and Ristaino J. B. (2007).** An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies. PNAS. 104(9):3306-3311.
- 72-**Goodwin S. B., Cohen B. A., Deahl K. L. and Fry W. E. (1993).** Migration from northern Mexico as probable cause of recent genetic changes in populations of *Phytophthora infestans* in the United States and Canada. *Phytopathology* (84) : 553-558.
- 73-**Grünwald N. and Flier W. G. (2005).** The biology of *Phytophthora infestans* at its center of origin. *Annual Review of Phytopathology* (431):171-190.
- 74-**Haine D. et Verlaine A. (2006).** AsBI Pameseb : Un réseau de station météorologiques automatiques télémétrées. Direction Générale de l'Agriculture de la région Wallonne :42p.
- 75-**Hammi A. (2003).** Caractérisation de populations de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary dans la région de Saïs. *Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ibn Abdollah.* Fes. Maroc : 272 p.
- 76-**Harman G.E. and Kubicek C.P. (1998).** *Trichoderma* and *Gliocladium*,(2). Enzymes, biological control and commercial applications. Taylor and Francis, London , 393p.
- 77-**Harman G. E. ( 2000 ) .** *Trichoderma* spp., including *T.harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). *Cornell University, Geneva, NY 14456.*  
[www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php](http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php). Consulté le 05 Janvier 2015.
- 78-**Harman G.E., Lorito M and Lynch J.M. (2004).** Uses of *Trichoderma* spp. to alleviate or remediate soil and water pollution. *Adv. Appl. Microbiol* (56):313-330.
- 79-**Harman G.E. (2011).** TRICHODERMA not just for biocontrol anymore. *PHYTOPARASITICA*( **39**): 103-108.
- 80-**Harrison J. G. (1992).** Effects of the aerial environment on late blight of potato foliage. *Plant Pathology* (41):384-416.
- 81-**Hawkes J. G. (1990).** The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. *Belhaven Press* , London : 259 p.

- 82-**Hawkes J. G. and Francisco O J. ( 1992)**. The potato in Spain during the late 16<sup>th</sup> century. *Economic Botany* 46(1):86-97.
- 83-**Hawkes J. G. and Francisco O J. (1993)**. The early history of the potato in Europe. *Euphytica* 70(1-2):1-7.
- 84-**Henfling J. W. (1987)**. Le mildiou de la pomme de terre. Bulletin d'information technique,  
C. I. P, Lima Pérou: 23-30.
- 85-**Herrera-Estrella A. and Chet I. (1998)**. Biocontrol of bacteria and phytopathogenic fungi. In: Altman A (Ed). *Agricultural Biotechnology.*, Marcel Dekker Inc. New York, 263–282p.
- 86-**Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H. et El Mahjoub M.( 2005)**. Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis lycopersici* : *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 9 (3): 163–171.
- 87-**Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H. et El Mahjoub M.( 2007)**. Effets de certains fongicides de synthèse et biologiques sur la croissance mycélienne et l'agressivité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* .*Tropicultura* 25(3) :146-152.
- 88- **Hirst J. M. ( 1953)**. Change in atmospheric spore content: diurnal periodicity and the effects of weather. *Transactions of the British Mycological Society* (36):375-393.
- 89-**Hjeljord L., Tronsmo A. (1998)**. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma and Gliocladium. Enzymes, biological control and commercial applications* (Eds: Harman, G. E., Kubicek, C. P.). Taylor and Francis Ltd., London, 131–151.
- 90-**Hmouni A., Massoui M et Douira A. (1999)**. Étude de l'activité antagoniste de *Trichoderma* spp. et de *Gliocladium* spp. à l'égard de *Botrytis cinerea*, agent causal de la pourriture grise de la tomate. *Al Awamia* (100) : 75-92.
- 91-**Hooker W. J. ( 1981)**. Compendium of potatoes diseases, Centre international de la pomme de terre. *The American Phytopathological Society*, 29- 31 p.
- 92-**Howell C.R. (2003)**. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* (87) : 4-10.
- 93-**Ibarra-Medina V.A ., Ferrera-Cerrato R.; Alarcón A ., Hernández M. E.L and Valdez-Carrasco Y.J.M . (2010)**. isolation and screening of *Trichoderma* opposing (conflicting) origins (stumps) to *Sclerotinia sclerotiorum* and *Sclerotinia minor*. *Rev. Mex.* (31): 53-63.
- 94- **ITCM. (2013)**. Journée de la Pomme de Terre .CCI DAHRA Mostaganem. 18p.
- 95-**Jayalakshmi S. K., Raju S., Usha Rani S., Benagi V.I. and Sreeramulu K. (2009)**. *Trichoderma harzianum* L1 as a potential source for lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. *Australian Journal of Crop Science.* ( 3): 44-52.

96-**Jenkins S.F.,Averre C.W.( 1986).** Problems and progress in integrated control of southern blight of vegetables. *Plant Dis.* 70(7): 614-619.

97-**Kerroum F.,Karkachi N., Henni J. E. et Kihal M. (2015).**Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* against *Phytophthora infestans* in the North-west of Algeria. *International Journal of Agronomy and Agricultural Research (IJAAR).* 6(4): 44-53.

98-**Kirk P. M., Cannon P. F., Winter D. W. et Stalpers J. A.( 2008).** Dictionary of the Fungi. *CAB International Wallingford.* UK. 10<sup>th</sup> ed. 750 p.

99-**Klarfeld S., Avia R. and Cohen Y. (2009).** Pathogenic Fitness of Oosporic Progeny Isolates of *Phytophthora infestans* on Late-Blight-Resistant Tomato Lines. *The American Phytopathological Society.* 93(9) : 947 – 953.

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

101-**Kotchi S.O. (2004).** Détection du stress hydrique par thermographie infrarouge. Application à la culture de la pomme de terre. <http://theses.ulaval.ca/archimede/fichiers/22198/22198.html>  
Consulté le 02 Janvier 2015.

102-**Krause R.A., Massie L.B. and Hyre R.A. (1975).** BLITECAST: A computerized forecast of potato late blight. *Plant Dis.* (59): 95-98.

103-**Kroon L.P.N.M., Bakker F.T.,Van den Bosch G.B.M., Bonants P.J.M and Flier W.G. (2004).** Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Fungal Genet. Biol.* (41): 766-782.

104-**Kubicek C.P. and Penttilä M.E.(1998).** Regulation of production of plant polysaccharide degrading enzyme by *Trichoderma*. In *Trichoderma and Glicoladium. (2) Enzymes, biological control and commercial applications.*Taylor and Francis Ltd, London, 49-71p.

105-**Kubicek C.P., Bisset J. , Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C. and Szakacs G.( 2003).** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38 (3): 310-319.

106- **Kuepper G .et Sullivan P. (2004) .**Organic alternatives for late blight control in Potatoes. Pest Management Technical Note. National Sustainable Agriculture Information Service(ATTRA). 8p.

107-**Lamy Krafft P.et Roquebert M.F. (1981).** Analyse des interactions entre deux champignons antagonistes : *Trichoderma viride* Pers. et *Botrytis cinerea* Pers. Ex Fr. Études préliminaires. *Cryptogam. Mycol* (2) : 137-151.

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

109-**Laufer B. (1938)**. The American plant migration: Part I: The potato. Publications of the Field Museum of Natural History Anthropological Series 28(1):1-132.

110-**Lebreton L., Laurent C. and Andrivon D. (1998)**. Evolution of *Phytophthora infestans* populations in the two most important potato production areas in France during 1992-1996. *Plant Pathology* (47):427-439.

111-**Lepoivre P. (2003)**. Phytopathologie: Bases moléculaires et biologiques des pathosystèmes et fondements des stratégies de lutte. De Boeck U., Bruxelles. 432p.

112-**Lenoir J., Choisy C., Auberger B., Marrasse J. and Schmidt M.(1971)** . Aptitude de l'espèce *Penicillium caseicolum* à la production d'enzymes protéolytiques. *Le Lait*, 51 (503) : 138-157.

113-**Leuchtman A., Petrini, O. and Samuels, G.( 1996)**.Isozyme subgroups in *Trichoderma* section Longibrachiatum. *Mycologia* 88 (3) : 384-394.

114-**Lorito M., Harmann G.E., Hayes C.K., Brodway R.M., Woo S.L. and Di Pietro A. (1993)**. Chitinolytic enzymes produced by *T. harzianum*. Antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* (83): 302–307.

115-**Lorito M., Hayes C.K.,Di Pietro A., Woo S.L. and Harman G.E. (1994)** Purification, characterization and synergistic activity of a glucan 1,3- $\beta$ -glucosidase and an *N*-acetylglucosaminidase from *T. harzianum*. *Phytopathology* (84): 398–405.

116-**Lozoya-Saldaña H.,Coyote-Palma M. H.,Ferrera-Cerrato R.and Lara-Hernández M. E.(2006)**.Microbial antagonism against *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Agrociencia* 40(4) : 491–499.

117-**Lynch J.M., Lumsden R.D., Atkey P.T. and Ousley M.A. (1991)**. Prospects for control of *Pythium* damping-off of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Enterobacter* spp. *Biol. Fertil. Soils* (12) : 95-99.

118-**MADR. (2014)**. Services des statistiques des cultures. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

119-**Mahanta J.J., Chutia M., Bordoi M., Adhikary R.K., Pathak M.G. et Sharma T.C. ( 2007)**.*Cymbopogon citratus* L.essential oil as a potential antifungal agent against key weed moulds of *Pleurotus* spp. Spawns. Flavor and fragrance journal (22): 525 – 530.

120-**Mayton H, Smart C.D, Moravec B.C, Mizubuti E.S.G, Muldoon A.E., Fry W.E.(2000)**. Oospore survival and pathogenicity of single oospore recombinant progeny from a cross involving US-17 and US-8 genotypes of *Phytophthora infestans* .*Plant Disease* (84):1190-1196.



121-**McLean K.L., Dodd S.L., Sleight B.E., Hill R.A., Stewart A. (2004)**. Comparison of the behavior of a transformed hygromycin resistant strain of *Trichoderma atroviride* with the wildtype strain. *NZ Plant Protect.* 57: 72–76.

122-**Meyers and Knight .(1958)**. Studies on the nutrition of *Penicillium roque- forti*. *Appl. Microbiol.* 6 (3) : 174-178.

123-**Méziane D.( 1991)**. Histoire de la pomme de terre. *Diététique* (25) : 29.

124-**Moumene-Messgo S., Zanoune S., Laidani M. and Bouznad Z. (2014)**. Biocontrol of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. ; The causal agent of potato late blight , with isolates of *Trichoderma* sp., medicinal plant-based preparations and *Posidonia*-based preparations. In Natural products and Biocontrol. Les médiateurs chimiques naturels, impliqués dans les mécanismes de protection des cultures. Presses Universitaires de Perpignan, France, 108p.

125-**Mouria A., Ouazzani-Touhami A., Douira R., Benkirane A., Mlaiki et El Yachioui M. (1997a)**. Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *P. oryzae*. *Al Awamia* (96) : 9-17

126-**Mouria A., Ouazzani-Touhami A., Mlaiki A., El Yachioui M. et A. Douira.( 1997b)**. Lutte biologique contre *Helminthosporium oryzae* : Antagonisme *in vivo* des *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *H. oryzae*. Troisième congrès de l'Association Marocaine de Protection des Plantes, Rabat, 23-24 déc:113 116.

127-**Mpika J.H., Kebe I.B., Druzhinina I.S., Komon-Zélazowska M., Kubicek C.P. et AKÉ S.( 2009)**. Inhibition de *Phytophthora palmivora*, agent de pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire, par *Trichoderma* sp. *Sciences and Nature*, 6: 49 – 62.

128-**Nagendra B., Prasad., Kumar M.R. (2011)**. Effect of nonvolatile compounds produced by *Trichoderma* spp. on growth and sclerotial viability of *Rhizoctonia solani*, incitant of sheath blight of rice. *Indian J. Fundamental Appl. Life Sci.*1 (2): 37-42.

129-**Noyd R.K. ( 2000)**. Mycology references cards. The American phytopathological society, Minnesota.

130-**Nygren C. M., Edqvist J., Elfstrand M., Heller G. and Taylor A. F. (2007)**. Detection of extracellular protease activity in different species and genera of ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, 17:241-248

131-**OECD (1997)**. Consensus document on the biology of *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* (potato). Organization for Economic Co-operation and Development(OECD), Paris,38p.

132-**Ouazzani-Touhami A., Douira A., Benkirane R., El Oirdi M., Bouslim F., Zidane L., Gmira N. et El Haloui N.E.( 1994)**. Antagonisme *in vivo* de certaines espèces fongiques vis à- vis de *Verticillium dahliae*. *Rev. Res. APAMA* (7) : 197- 211.

133-**Paitier G. ( 1980)**. Le mildiou de la pomme de terre. *Phytoma*,(4): 23-27.

134-**Pam M. (1998)**. Early Blight and Late Blight of Potato. University of Connecticut, Integrated Pest Management. 2p. [www.hort.uconn.edu/IPM/VEG/HTMS/BLTPOT.HTM](http://www.hort.uconn.edu/IPM/VEG/HTMS/BLTPOT.HTM). Consulté le 02 Janvier 2015.

135-**Papavizas G.C.(1985)**. *Trichoderma* and *Gliocladium* biology, ecology and the potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.*( 23): 23-77.

136-**Philipeau G. (1989)**. How to interpret the results (profits) of analysis in main components (ACP). Technical institute of cereal and feeds (ITCF), Paris, 195.

137-**Pieterse C. M. J., Dewit P. J. and Govers F. P. M. (1992)**. Molecular aspects of the potato - *Phytophthora infestans* interaction. *Netherlands Journal of Plant Pathology* (98) : 85-92.

138-**Powelson M. and Debra A I. (1998)**. Potato Late Blight: Live on the Internet. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.[www.apsnet.org/online/feature/lateblit/](http://www.apsnet.org/online/feature/lateblit/) .Consulté le 09 Janvier 2015.

139-**Prieto A., Leal J.A., Poveda, A. , Jimenez-Barbero J., Gomez-Miranda B., Domenech J. , Ahrazem O. and Bernabe M.( 1997)**.Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* and *Hypocrea* species. *Carbohydrate Research*, 304 (3-4) : 281-291.

140-**Radtke W. and Rieckmann W. (1991)**. Maladies et ravageurs de la pomme de terre. Editions Th. Mann. Gelsenkirchen-Buer, Allemagne, 168 p.

141-**Raffaele S. and Kamoun S.( 2012)**. Genome evolution in filamentous plant pathogens: why bigger can be better. *Nature Reviews Microbiology* (10):417-430.

142-**Rajkonda J.N, Sawant V.S, Ambuse M.G. and Bhale U.N.(2011)**.Inimical potential of *Trichoderma* species against pathogenic fungi. *Plant Sciences Feed*. 1(1): 10-13.

143-**Rapilly F.(1968)**. Les techniques de mycologie en pathologie végétale.102p.

144-**Ríos D., Ghislain M., Rodríguez F. and Spooner D. M.( 2007)**. What is the origin of the European potato? Evidence from Canary Island landraces. *Crop Science* 47(3):1271-1280.

145-**Ridout C.J.,Coley-Smith J.R. and Lynch J.M. ( 1988)**.Fractionation of extracellular Enzymes from a mycoparasitic strain of *Trichoderma harzianum* Enzyme. *Microbial Technology* (10): 180-187.

146-**Roe S. (2001)**. Protein purification and applications: a practical approach. 2ème Ed Oxford University Press, USA, 262p.

147-**Roiger D.J., Jeffers S.N. and Cladwell R.W. (1991)**. Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soils. *Soil Biology and Biochemistry* (23): 353-359.

148-**Rolot J.L .et Vanderhofstadt B.( 2014)**. Culture de la pomme de terre en République

Démocratique du Congo. Guide technique.104p.

149-**Romans A. (2005)**.The potato book. Frances Lincoln, London.144p.

150-**Roquebert M.F. (1996)**.Interactions antagonistes des *Trichoderma* spp. dans les systèmes telluriques : Systématique, biologie et écologie des organismes. Compte-rendu des 4èmes Rencontres en Toxinologie, Paris, 13-15p.

151-**Rousselle P., Robert Y. et Crosnier J. C. (1996)**. La pomme de terre production, amélioration, ennemis, maladie et utilisation, I.N.R.A. Paris, 607 p.

152-**Saddek D.(2012)**. Activités antifongique *in vitro* de neufs plantes contre *Phytophthora infestans* agent du Mildiou de la pomme de terre en Algérie. Thèse de Master II en Biotechnologie des plantes aromatiques, médicinales et des produits naturels. Université Saad Dahleb Blida. p.

153-**Salazar L.F.( 1996)**. Potato viruses and their control. ISBN, Lima, Pérou.214p.

154-**Saling T. (1998)**. Late Blight. The Edible Garden. [www.suite101.com/articles/article.cfm/2517](http://www.suite101.com/articles/article.cfm/2517).

155-**Samuels G.J., Chaverri P., Farr D.F. and McCray E.B. (2015)**.TRICHODERMA Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. Retrieved October 22, 2015, from /taxadescriptions/keys/TrichodermaIndex.cfm.

156-**Sandhya C., Sumantha A., Pandey A. (2004)**. Proteases. In: *Enzyme Technology*, A. Pandey, C. Webb, C.R. Soccol, C. Larroche (Eds.), *Asiatech Publishers Inc.*, New Delhi, (India) pp. 312–325.

157-**Sandhya C., Sumantha A., Szakacs G. and Pandey A. (2005)**. Comparative evaluation of neutral protease production by *Aspergillus oryzae* in submerged and solid-state fermentation. *Process Biochemistry*, 40: 2689-2694.

158-**Sauer J. D. ( 1993)**. Historical geography of crop plants: A select roster. CRC Press, Boca Raton, Florida. *Annals of the Association of American Geographers* 84(4): 744-746.

159-**Savary S. and Teng P.S. (1994)**. La protection des cultures dans une agriculture durable. *La Recherche* (25): 1322-1329.

160-**Sedegui M., Carroll R. B. and Morehart A. L. (1997)**. First report from Morocco of *Phytophthora infestans* isolates with metalaxyl resistance. *Plant Disease* 81(7): 831p.

161-**Simon A, Dunlop A.W,Ghisalberti E.L,Sivasithamparam K.(1988)**.*Trichoderma koningii* produces a pyrone compound with antibiotic properties. *Soil Biol Biochem* 20:263-264.

162-**Sivakumar D., Wijeratnam W.R.S., Wijesundera R.L.C., Marikar F.M.T and Abeysekere M. (2000)**. Antagonistic effect of *Trichoderma harzianum* on post-harvest pathogens of Rambutan (*Naphelium lappaceum*). *Phytoparasitica* 28: 240-247.

163-**Smith W.H.(1995)**. Forest occurrence of *Trichoderma* species: emphasis of potential organochlorine (xenobiotic) degradation. *Ecotoxicol. Environmental Safety* (32): 179-183.

164-**Soltner D. (2005)**. Les grandes productions végétales. 20<sup>ème</sup> édition. Collections Sciences et Techniques agricoles, 472p.

165-**Spielman L. J., Drenth A., Davidse L. C., Sujkowski L. J., Gu W., Tooley P. W. et Fry W. E. (1991)**. A second world-wide migration and population displacement of *Phytophthora infestans*. *Plant Pathology* 40: 422-430.

166 -**Spijkerboer H. P., Beniers J. E., Jaspers D., Schouten H. J., Goudriaan J., Rabbinge R. and van der Werf W.( 2002)**. Ability of the Gaussian plume model to predict and describe spore dispersal over a potato crop. *Ecological Modelling* 155(1):1-18.

167-**Stevenson W.R. (1993)**. Management of Early Blight and Late Blight. p. 141-147. In: Randall C. Rowe (ed.) Potato Health Management. APS Press, St. Paul, MN. 178 p.

168-**Strausbaugh C.and Hughes J. (1996)**. Potato Late Blight. University of Idaho, Moscow, ID. [www.uidaho.edu/ag/plant\\_disease](http://www.uidaho.edu/ag/plant_disease). Consulté le 09Janvier 2015.

169-**Sturz A.V., Lynch D.H., Martin R.C., Driscoll A.M. (2006)**. Les effets d'un thé de compost, de la poudre de varech et du Manzate® 75 sur la composition des communautés bactériennes et leur capacité d'antibiose contre *Phytophthora infestans* dans la phyllosphère de la pomme de terre. *Canadian Journal of Plant Pathology* (28): 52–62.

170-**Sujiyama J.( 1987)**. Pleomorphic fungi: the diversity and its taxonomic implications. Tokyo: Elsevier, 325 p.

171-**Thom C and Raper K. (1945)**. A Manual of the *Aspergillus*. The Wilkins and Williams Company, Baltimore. 686 p.

172-**Thurston H. D., Schultz O. (1981)**. Late blight in compendium of potato disease. Hooker Eds. APS Press Michigan (USA).40-42p.

173-**Tooley P. W., Sweigard J. A. and Fry W. E. (1986)**. Fitness and virulence of *Phytophthora infestans* isolates from sexual and asexual population. *Phytopathology* (76):1029-1212.

174-**Tronsmo A. and Dennis C. (1978)**. Effect of temperature on antagonistic properties of *Trichoderma* species. *Trans. Br. Mycol. Soc* (71): 469-474.

175-**Turkensteen I. J. (1978)**. *Phytophthora infestans*: three news hosts an specialized form causing foliar blight of *Solanum muricatum* in Peru. *Plant Disease Reporter*, (62): 829.

176-**Turkensteen L., Flier W ., Wanningen R. and Mulder A. (2000)**. Production ,survival and infectivity of oospores of *Phytophthora infestans* .*Plant Pathology* (49):688-696.

177-**USDA-ARS.(2014).** National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN). 09 Janvier 2015.

178-**Van der Zaag D. E. ( 1956).** Overwintering en epidemiologie van *Phytophthora infestans*, tevens enige nieuwe bestrijdingsmogelijkheden. *Tijdschrift over Plantenziekten.*( 62):89-156.

179-**Vey A., Hoagland R.E., Butt T.M. (2001).** Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. Butt T.M, Jackson C and N, eds.,CAB International, Bristol, 311-346 p.

180-**Vial I .( 1989)** .Critères de qualité de la production d'un biopesticides à base de *Trichoderma harzianum* RIFAI. Mémoire, école Nationale des Ingénieurs des travaux agricoles, Bordeaux, France.

181-**Viel J.F. and Richarson S.T. (1993).** Lymphoma, multiple myeloma and leukaemia among French farmers in relation to pesticide exposure. *Soc. Sci. Med.* (37): 771-777.

182-**Vizcaino J.A., Sanz L., Cardoza R.E., Monte E. and Gutierrez S. (2005).** Detection of putative peptide synthetase genes in *Trichoderma* species: Application of this method to the cloning of a gene from *T. harzianum* CECT 2413. *FEMS. Microb. Lett.*, 244: 139-148.

183-**Walker J. M. (2002).**The protein protocols handbook. 2ème Ed Humana Press (USA), 1146p.

184-**Walsh G. (2002).** Proteins biochemistry and biotechnology. 2ème Ed John Wiley and Sons, England, 547p.

185-**Woodham-Smith C. (1962).**The Great Hunger, Ireland, Penguin Ltd., London, 1845-1849 p.

186-**Worsatit N., Sivasithamparam K., Ghisalberty E.L and Rowland C. (1994).** Variation in pyrone production, pectic enzymes and control of *Rhizoctonia* root rot of wheat among single-spore isolates of TRICHODERMA KONINGII. *Mycol. Res.* (98):1357–1363.

187-**Xiao K. , Kinkel L. and Samac D. A.( 2002).** Biological control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*, *Biological Control* 23 ( 3): 285–295.

188-**Yedida I., Benhamou N. and Chet I. (1999)** .Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl Environ Microbiol* 65 (3): 1061- 1070.

189- **Zhang S., Panaccione D.G., Callegly M.E. ( 1997).** Metalaxyl stimulation of growth of isolates of *Phytophthora infestans*. *Mycologia* 89: 289-292.

190-**Zouai C.A. (2010).**Enquête sur le mildiou de la pomme de terre en Algérie. Dépistage de la souche de type sexuel A2 au niveau des zones à vocation pomme de terre. Institut National de la Protection des Végétaux (INPV).