

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES



DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE

de fin d'étude en vue de l'obtention Du Diplôme de Master 2

Option Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales et des produits
naturels

THEME

**Utilisation des *Trichoderma* spp. et leurs filtrats
dans le cadre du bio-contrôle de *Rhizoctonia
solani* Kuhn. sur pomme de terre**

Présenté par : HAMDI- HADDADJ.SIHEM

Devant le jury composé de :

Mme HOUMANI. Z.
Mme MOUMENE. S.
Mme CHEBATA. N.
Mme SAHRAOUI F.

Prof
M.A.A
M.A.A
M.A.A

U.S.D.B Présidente du jury
U.S.D.B Promotrice
U.S.D.B Examineur
U.S.D.B Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2012-2013

DEDICACES

A mes chers parents que dieu me les garde en parfaite santé, ma mère qui a toujours été à mes côtés pour me donner la force de persévérer, elle adore la science et le savoir ;

Mon mari Hamid, mes enfants Amine, Liza et Samy qui ont suivi mon parcours tout au long de ce travail avec beaucoup de sacrifices et ont supporté mes humeurs;

Mon unique frère Mustapha, puisse dieu me le garde ;

Mes sœurs que dieu les protège et les garde unis pour toujours : Lynda, Amina, Meriem et Fairouz ;

Ma belle sœur Lamia, mes beaux frères Kamel, Ghani et Reda ;

A la mémoire de mes grands parents, mon oncle Mustapha Chahid ainsi que mon beau père.

..... mieux vaut tard que jamais

Remerciements

Ce travail n'aurait certainement pas pu voir le jour sans l'assistance de plusieurs personnes :

Je citerai à leur tête le Chef de Département de Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales et produits naturels ; Professeur à la faculté des sciences agronomiques Mme HOUMANI pour avoir acceptée de me donner une seconde chance de rejoindre à nouveau les bancs de l'université et de l'honneur qu'elle me fait d'avoir acceptée de présider le jury de ma thèse.

Mme MOUMENE, ma promotrice que je ne remercierai jamais assez pour toute l'aide qu'elle m'a apportée, depuis le début du mémoire et jusqu'à la réalisation du présent travail. Je lui sais gré pour la confiance qu'elle m'a accordée. Sa présence, disponibilité, aide et écoute et ses nobles qualités humaines ont été le moteur de ma motivation. Sa rigueur scientifique reste pour moi un modèle. J'ai énormément apprécié sa vision éclairée et sa logique. Par sa simplicité et sa sympathie, Mme MOUMENE a aussi été l'ami et la conseillère de ma vie de tous les jours. J'espère pouvoir la compter indéfiniment parmi mes plus estimés proches.

Mr MOUMENE Directeur de l'Institut National de la protection des végétaux d'El Harrach ; mon directeur qui sans lui ce présent travail n'aurait pas pu être réalisé.

Je remercie de même les membres du jury qui ont bien voulu donner de leur temps précieux pour juger cette thèse, en l'occurrence :
Mme SAHARAOUI et Mme CHEBATA.

Mr DJEBAILI Directeur de la station régionale de la protection des végétaux de Boufarik pour sa disponibilité et sa compréhension lorsque j'en avais le plus besoin.

Mme Lettifi, pour son soutien et sa compassion tout au long de ce modeste travail. J'espère que sa soutenance suivra bientôt la mienne...!

Melle ZANOUNE qui a montré un intérêt constant à mon travail. Sabrina m'a été d'un grand appui durant mon expérimentation.

Mr SMAHA pour sa patience. Je le remercie d'avoir été présent toutes les fois où je l'ai sollicité. Son écoute et conseils m'ont été d'un apport certainement incontournable.

Mon équipe du laboratoire central de mycologie de l'INPV siège Khalida et Yamina. Je leur suis vivement reconnaissante pour leur énergique contribution à ce travail, avec des idées originales et innovantes et soutien moral permanent.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude à toute l'équipe du laboratoire de diagnostic de la SRPV de Boufarik DOUNIA, KHADIDJA, YACINE, MERIEM du Département d'appui Technique du siège ainsi que Mr ALLILI pour leur soutien et leur aide quand je les sollicitais. Ils répondaient toujours à toutes mes inquiétudes et mes questionnements.

Mme AGGAD, Melle AYACHE et Melle ABABSIA pour leur soutien dans les moments les plus durs, pour leur altruisme et sympathie de tous les jours et enfin pour leurs précieuse aide.

Mr BELLATRECHE qui a répondu présent pour m'aider à débusquer bien des... coquilles et résoudre des difficultés scientifiques avec, en prime, une continuelle note d'humour, beaucoup de respect et d'humanité. J'ai aussi profité de sa passion pour l'outil informatique, sa gentillesse, sa culture générale et son ouverture d'esprit.

Zahia pour sa patience et son humanisme ainsi que son dévouement. Merci ma sœur, dieu te le rendra.

Je finirais par remercier tous ceux que j'aurais omis de nommer et qui auraient contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.



Résumé

Utilisation des isolats Algériens de *Trichoderma* spp. et leurs filtrats dans le cadre du bio-contrôle de *Rhizoctonia solani* sur pomme de terre

Cette étude rentre dans le cadre de la recherche de méthodes alternatives pour le bio-contrôle du rhizoctone brun de la pomme de terre. Elle porte sur l'utilisation d'isolats algériens de *Trichoderma* spp. ayant déjà confirmé leur pouvoir antagoniste à l'égard de *P.infestans* agent sur pomme de terre en Algérie. Onze isolats algériens de *Trichoderma* spp., ainsi que leurs filtrats de cultures ont été testés *in vitro* sur quatre isolats de *R.solani* isolés à partir de sclérotés de pomme de terre originaires d'El Oued et commercialisées dans deux marchés de légumes au centre algérien. Après isolement, purification et confrontation directe entre les isolats phytopathogènes, quatre groupes anastomosiques de *Rhizoctonia solani* ont été identifiés, purifiés et caractérisés. La technique de confrontation directe entre les isolats de *Trichoderma* spp. et ceux de *R.solani* ainsi que leurs sclérotés produits, a révélé une importante inhibition de la croissance mycélienne (100%) au bout du 7^{ième} et 9^{ième} jour d'incubation et de la production de sclérotés après un mois d'incubation, ainsi que de leur germination (100%). Les *Trichoderma* spp. ont envahit les colonies de *R.solani* sur lesquelles ils ont même sporulé, révélant ainsi leur pouvoir hautement mycoparasitaire. Ainsi, les antagonistes testés ont agi par la sécrétion de métabolites diffusibles inhibiteurs de la croissance mycélienne, de la production et de la germination des sclérotés des isolats de *R.solani*. Il est à noter, que des modifications structurales traduites par la lyse, la vacuolisation du mycélium et la digestion de son contenu cytoplasmique ont été observées suite à l'enroulement et la pénétration du mycélium des *Trichoderma* spp. à l'intérieur de celui de l'agent pathogène.

Mots clés : Activité antagoniste, Sclérotés, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma* spp., Filtrats.

Summary

The use of Algerian isolates of *Trichoderma* spp. and their filtrates in the framework of the bio-control of *Rhizoctonia solani* on potato

This study falls into the category of the search for alternative methods for bio-control of potato black scurf. It focuses on the use of Algerian isolates of *Trichoderma* spp. which have already confirmed their antagonistic power with regard to *P. infestans* agent on potato in Algeria. Eleven Algerian isolates of *Trichoderma* spp., as well as their culture filtrates were tested in vitro on four *R. solani* isolates isolated from sclerotia potato originated from El-Oued and marketed in two vegetable markets in the Algerian center. After isolation, purification and direct confrontation between phytopathogenic isolates; four groups of *Rhizoctonia solani* were identified, purified and characterized. The technique of direct confrontation between isolates of *Trichoderma* spp. and those of *R. solani* and their sclerotia produced, showed a significant inhibition of mycelia growth (100 %) at the 7th and 9th day of incubation and production of sclerotia after a month of incubation, as well as their germination (100 %). *Trichoderma* spp. have invaded the colonies of *R. solani* on which they even formed spores, revealing their highly mycoparasite power. Thus, the antagonists tested by the secretion of diffusible metabolites inhibitors of mycelia growth, production and germination of sclerotia of *R. solani* isolates. It should be noted that structural changes resulted in lysis, vacuolization of the mycelium and the digestion of its cytoplasmic contents were observed following the winding and the penetration of the mycelium of *Trichoderma* spp. within that of the pathogen.

Keywords : Antagonist, activity , sclerotia , *Rhizoctonia solani* , *Trichoderma* spp, Filtrates .

ملخص

إستعمال العزلات الجزائرية لتريكودرما و تفاعلاتها في المكافحة الحيوية لرزوكتونيا سولاني على البطاطس.

هذه الدراسة تدخل في نطاق البحث عن أساليب بديلة للمكافحة الحيوية لرزوكتونيا البني للبطاطس . يشمل مدى استعمال العزلات الجزائرية لتريكودرما التي أكدت بالفعل سلطتهم الغذائية على الفيتوفتورا أنفستنس المسبب لمرض البياض الزغبي للبطاطس في الجزائر. إثر هذا التأثير تم اختبار 11 عزلة جزائرية و راشحهم في المخبر على 4 عزلات من الرزوكتونيا سولاني المأخوذة من أصليب البطاطس المنتجة في ولاية الوادي و المسوقة . بعد عزلهم ، تنقيتهم و المواجهة المباشرة تم تحديد 4 أفواح التي نقيت و ميزت لأول مرة. و قد كشفت تنقية المواجهة المباشرة بين العزلات لتريكودرما و أصليب الرزوكتونيا سولاني إعاقاة واضحة في النمو الأسطوري (100 %) من 7 و 9 أيام من الحضانة و إنتاج الأصاليب بعد شهر من الحضانة و الإنبات (100 %) بعد 4 أيام . وقد غزت التريكودرما مستعمرات ريزوكتونيا سولاني التي تبوغت و الكشف عن سلطة فطرية طفيلية بالتضاد الحيوي . فعزلات التريكودرما التي جربت تصرفت بإفراز نواتج الأيض بتبسيط الانتشار و النمو الإفطاري و إنبات الأصاليب و يلاحظ أن التغيرات الهيكلية أدت إلى تحلل و تشكل فجوات من الأفطورة و هضم محتوياته الحشوية و هذا بعد التعرج و اختراق التريكودرما داخل العامل الممرض وأكد اختبار البقاء عدم ارتداد النمو فطوري من العزلات التي توقف نموها سابقا بالعزلات العدائية مما يؤكد على تأثير فعله كمبيد فطري وجها لوجه مع العامل الممرض.

اعتمادا على هذه النتائج يمكن استعمال كل عزلات التريكودرما كعلاج وعائي في حقول بطاطس منطقة الوادي .

الكلمات الدالة : النشاط الخضم – أصاليب – تريكودرما – ريزوكتونيا سولاني - الراشح

Liste des figures

Figure 1 Morphologie de la pomme de terre

Figure 2 : Cycle végétatif de la pomme de terre

Figure 3 : Le top des productions de pomme de terre dans le monde

Figure 4 : Classement des principales cultures en Algérie en 2010

Figure 5 : Symptômes du rhizoctone brun pomme de terre

Figure 6 : Cycle de vie de *Rhizoctonia solani* sur pomme de terre

Figure 7 : Aspect cultural (a) et morphologique (b) de *Rhizoctonia solani* (G : X500)

Figure 8 : Sections systématiques de *Trichoderma* spp.

Figure 9 : Aspect cultural (A) et morphologique (B) (Gr x 500) de *Trichoderma* spp.

Figure 10 : Test de confrontation directe entre les isolats de *Rhizoctonia solani* et le témoin

Figure11 : Technique de confrontation directe de *Rhizoctonia solani* et de *Trichoderma* spp.

Figure12 : Technique d'étude de la survie *in vitro* de *Rhizoctonia solani*

Figure 13 : Confrontation directe des isolats de *Rhizoctonia solani*

Figure 14 : Variabilité culturale des isolats de *Rhizoctonia solani*

Figure 15 : Analyse de la variance en GLM de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani*.

Figure 16 : Analyse de la variance en GLM de la fréquence de production de sclérotés des isolats de *R.solani*

Figure 17 : Analyse de la variance en GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Rhizoctonia solani*.

Figure 18 : Isolats de *R.solani* inhibés selon le mode de confrontation aux filtrats des milieux et selon le mode direct avec les isolats de *Trichoderma* spp.

Figure 19 : Analyse en composante principale (ACP) de l'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani* des différentes confrontations avec les onze antagonistes.

Figure 20 : Analyse de la variance en GLM de la production de sclérotés par les isolats de *Rhizoctonia solani* après contact direct aux filtrats des isolats de *Trichoderma* spp.

Figure 21 : Analyse de la variance en GLM de la production de sclérotés par les isolats de *Rhizoctonia solani* les filtrats des isolats antagonistes.

Figure 22 : Confrontation directe des sclérotés issus des isolats de *R.solani* aux isolats de *Trichoderma* spp.

Figure 23 : Analyse de la variance en GLM des taux de l'inhibition de la germination des sclérotés de *R.solani* selon les filtrats de cultures des isolats antagonistes.

Figure 24 : Graphe en GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani* inhibés après confrontation aux filtrats du milieu des antagonistes

Figure 25 : Evènements mycoparasitaires des antagonistes du genre *Trichoderma* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*

Figure26. Analyse de la variance en GLM des taux d'inhibition de la production des sclérotés par les isolats de *R.solani* inhibés après confrontation aux filtrats du milieu des antagonistes

Liste des tableaux

Tableau 1 : Bilan de la culture de pomme de Terre de consommation en Algérie durant la Campagne 2011/2012

Tableau 2 : Principales maladies et ravageurs limitant la culture de la pomme de terre

Tableau 3 : Données sur les isolats algériens de *Trichoderma* spp. utilisés

Tableau 4 : Analyse de la variance de la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani* selon les températures et les milieux de cultures.

Tableau 5 : Analyse de la variance de la fréquence de production des sclérotés selon les isolats de *Rhizoctonia solani*, la température et les milieux.

Tableau 6 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon les 4 isolats de *Rhizoctonia solani* et selon les modes de confrontation.

Tableau 7 : Analyse de la variance de la production de sclérotés selon les isolats de *Rhizoctonia solani* selon le contact direct des filtrats des isolats de *Trichoderma* spp.

Tableau 8 : Analyse de la variance de la production de sclérotés selon les isolats de *Rhizoctonia solani* et selon les isolats antagonistes après contact direct avec les filtrats de des antagonistes.

Tableau 9 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des sclérotés de *R. solani* après contact direct avec les filtrats des isolats de *Trichoderma* spp.

Tableau 10 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R. solani* préalablement inhibés par les filtrats des milieux.

Tableau 11 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la production de sclérotés des isolats de *R. solani* préalablement inhibés par les filtrats des milieux.

Liste des abréviations

A.A : Alto Agro.

AAFC : Agriculture et Agri Food du Canada.

MADR : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural

R : *Rhizoctonia*

R1 : *Rhizoctonia solani* 1

R2 : *Rhizoctonia solani* 2

R3 : *Rhizoctonia solani* 3

R4 : *Rhizoctonia solani* 4

T : *Trichoderma*.

Tr : *Trichoderma*.

PDA : Potato Dextrose Agar.

C.N.I.P : Conseil National Interprofessionnel semences.

DRDPA : Direction de la régulation et du développement de la production agricole.

MADR : Ministère de l'agriculture et du développement rural.

G.I.F.T. : Guide d'identification et fiches techniques.

BSV : Bulletin de santé végétale.

SPQA : Stratégie phytosanitaire quebequoise en agriculture.

FAO : Food Agriculture Organisation.

µm: Micromètre.

pH: Potentiel d'hydrogénation.

nm: Nanomètre.

rpm: Run per minutes

ACP: Analyse en composante principale.

CAH: Analyse des composants hiérarchiques.

DT : Croissance diamétrale du témoin.

DPA : Croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste.

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

GLM : General Linear Model.

ddl : Degré de liberté.

P : Probabilité.

Table des matières

Introduction générale

Introduction

Chapitre I : Données bibliographiques

1.1 Généralités sur la pomme de terre

1.1.1 Origine et historique

1.1.2 Aspect botanique

1.1.3 Cycle de développement

1.1.4 Conditions de développement de la pomme de terre

1.1.5 Importance économique

1.1.5.1 Dans le monde

1.1.5.2 En Algérie

1.1.5.2.1 Evolution des superficies de pomme de terre en Algérie

1.1.5.2.2 Répartition de la culture

1.1.6 Principaux problèmes phytosanitaires de la pomme de terre

1.2 Généralités sur la maladie

1.2.1 Introduction

1.2.2 Symptomatologie

1.2.3 Importance et dégâts

1.2.4 Cycle biologique

1.2.5 Conditions de développement de la maladie

1.3 Généralités sur l'agent pathogène

1.3.1 Historique

1.3.2 Position taxonomique

1.3.3 Morphologie

1.3.4 Biologie

1.3.5 Spécificité parasitaire

1.4 Lutte contre la maladie

1.4.1 Méthodes culturales

1.4.2 Lutte chimique

1.4.3 Lutte biologique

1.5 Généralités sur les *Trichoderma*

1.5.1 Taxonomie

1.5.2 Caractérisation culturale et morphologique

1.5.3 Ecologie et biologie

1.5.4 Pouvoir antagoniste

1.5.5 Intérêts de l'utilisation des *Trichoderma* spp. dans l'agriculture biologique

Chapitre II : Matériel et méthodes

2.1 Introduction

2.2 Matériel biologique

2.2.1 Matériel fongique antagoniste

2.2.2 Matériel fongique phytopathogène

2.3 Méthodologie

- 2.3.1 Isolement et purification
- 2.3.2 Identification des groupes d'isolats phytopathogènes
- 2.3.3 Caractérisation des isolats phytopathogènes
- 2.3.4 Activité antagoniste des isolats algériens de *Trichoderma* spp.
 - 2.3.4.1 Introduction
 - 2.3.4.2 Technique de confrontation directe
 - 2.3.4.3 Technique de contact direct aux filtrats des cultures
 - 2.3.4.3.1 Préparation des filtrats de cultures des isolats antagonistes
 - 2.3.4.4 Inhibition de la croissance mycélienne
 - 2.3.4.5 Inhibition de la production des sclérotés
 - 2.3.4.6 Inhibition de la germination des sclérotés
- 2.4 Evénements structuraux du mycoparasitisme
- 2.5 Etude de la survie de *Rhizoctonia solani*
- 2.6 Analyse statistique

Chapitre III : Résultats et Discussion

- 3.1 Résultats
 - 3.1.1 Isolement et purification
 - 3.1.2 Identification des groupes d'isolats phytopathogènes
 - 3.1.3 Caractérisation des isolats de *Rhizoctonia solani*
 - 3.1.4 Activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*.
 - 3.1.4.1 Inhibition de la croissance mycélienne
 - 3.1.4.2 Inhibition de la production des sclérotés
 - 3.1.4.3 Inhibition de la germination
 - 3.1.5 Evénements structuraux du mycoparasitisme

3.1.6 Survie des isolats de *R.solani*

3.2 Discussion

Conclusion et perspective

Conclusion

Références bibliographiques

Table des matières

Annexes

Sommaire

Introduction générale

Introduction P1

CHAPITRE I : Données bibliographiques

1.1 Généralités sur la pomme de terre p3

1.1.1 Origine et historique P3

1.1.2 Aspect botanique P3

1.1.3 Cycle de développement P6

1.1.4 Conditions de développement de la pomme de terre P6

1.1.5 Importance économique P7

1.1.6 Principaux problèmes phytosanitaires de la pomme de terre P12

1.2 Généralités sur la maladie P14

1.2.1 Introduction P14

1.2.2 Symptomatologie P14

1.2.3 Importance et dégâts P18

1.2.4 Cycle biologique P18

1.2.5 Conditions de développement de la maladie P18

1.3 Généralités sur l'agent pathogène P19

1.3.1 Historique P19

1.3.2 Position taxonomique P19

1.3.3 Morphologie P20

1.3.4 Biologie P 20

1.3.5 Spécificité parasitaire P21

1.4 Lutte contre la maladie P21

1.4.1 Méthodes culturales P21

1.4.2 Lutte chimique P22

1.4.3 Lutte biologique P23

1.5 Généralités sur les *Trichoderma* P24

1.5.1 Taxonomie P24

1.5.2 Caractérisation culturale et morphologique P26

1.5.3 Ecologie et biologie P26

1.5.4 Pouvoir antagoniste P28

1.5.5 Intérêts de l'utilisation des *Trichoderma* spp. dans l'agriculture biologique P29

CHAPITRE II ; Matériel et méthodes

2.1 Introduction P31

2.2 Matériel biologique P31

2.2.1 Matériel fongique antagoniste P31

2.2.2 Matériel fongique phytopathogène P34

2.3 Méthodologie P34

2.3.1 Isolement et purification P34

2.3.2 Identification des groupes d'isolats phytopathogènes P35

2.3.3 Caractérisation des isolats phytopathogènes P36

2.3.4 Activité antagoniste des isolats algériens de *Trichoderma* spp. P37

2.4 Evénements structuraux du mycoparasitisme P40

2.5 Etude de la survie de *Rhizoctonia solani* P41

2.6 Analyse statistique P42

Chapitre III : Résultats et Discussion P43

3.1 Résultats P43

3.1.1 Isolement et purification P43

3.1.2 Identification des groupes d'isolats phytopathogènes P43

3.1.3 Caractérisation des isolats de *Rhizoctonia solani* P44

3.1.4 Activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*. P47

3.1.5 Evénements structuraux du mycoparasitisme 54

3.1.6 Survie des isolats de *R.solani* P56

3.2 Discussion P58

Conclusion et perspectives

Conclusion P62

Références bibliographiques P65

Table des matières

Annexes

Introduction

La pomme de terre est la principale denrée alimentaire non céréalière du monde. Elle est cultivée dans plus de cent pays et, joue donc un rôle clé dans le système alimentaire mondial. Sa production a atteint le chiffre record de trois cent vingt millions de tonnes en 2007 (FAOStat, 2011). D'après les mêmes statistiques, l'Algérie est classée deuxième dans le monde arabe en matière de superficies propres à la culture de pomme de terre après l'Égypte. Cependant, elle est malheureusement classée dernière, après le Maroc, la Tunisie et l'Égypte pour le rendement de sa production (Lefki, 2008). Dans ce sens, un programme de plantation de pomme de terre de multiplication a été mené par

l'Algérie au cours de la campagne agricole 2012-2013, sa superficie s'élève à 10 000 ha pour l'arrière saison de 2012 et 17 300 ha pour la saison de 2013 ; soit une production globale de 27 300 ha de pomme de terre de multiplication (DRDPA, 2013). En revanche, des maladies peuvent attaquer cette culture et occasionner des pertes qui s'élèvent à 32% alors que d'autres surviennent aussi sur les tubercules durant la conservation et le stockage (Rousselle et *al.*, 1996).

Parmi les maladies fongiques dites de qualité sur pomme de terre, nous citons le Rhizoctone brun causé par *Rhizoctonia solani* qui s'attaque particulièrement aux tubercules (Parmenter, 1970). Les dégâts causés déprécient fortement le tubercule en le déformant ou en formant des sclérotés noirâtres dessus, le rendant ainsi impropre à la commercialisation. Ces symptômes peuvent même empêcher la certification des plants de pomme de terre en entraînant un refus à la vente et à l'exportation (Fiers, 2010).

En Algérie, cette maladie provoque chaque année, des dégâts importants au champ et durant le stockage. Les plus importantes pertes concernent la qualité des tubercules qui sont fortement dépréciés (Malet, 2013). La lutte chimique et les mesures prophylactiques contre le rhizoctone brun, en plein champ n'ont pas été efficaces (A.A.F, 2001), C'est pour cela que la lutte biologique est une méthode alternative. En effet, plusieurs travaux ont été menés dans ce sens contre les champignons telluriques tels que : *Fusarium* spp. (Esslmani et Lahlou, 2003) et *Rhizoctonia solani* (Besnard et Davet, 1993). Ainsi, Osman et *al.*, (2011) ont démontré en Égypte, l'efficacité in vitro de *Trichoderma harzianum* et d'une bactérie *Nostoc entophyllum*, sur l'inhibition de la croissance

mycélienne de *Rhizoctonia solani* de 63% sur soja pour le *T.harzianum* et 44,4% pour la bactérie après 4 jours d'incubation à 25°C, alors qu'*in vivo*, *Trichoderma harzianum* a induit une augmentation significative dans les taux de survie du soja de 219,2%.

En Algérie, des travaux récents ont été menés sur la recherche et l'utilisation des *Trichoderma* dans le bio-contrôle de *Phytophthora infestans* agent responsable du mildiou de la pomme de terre en Algérie (Moumene et al., 2012). Les résultats obtenus étaient prometteurs pour les tester au champ contre cette maladie redoutable.

Dans le même concept, notre travail vise à étudier l'activité antagoniste de ces mêmes isolats à l'égard de *Rhizoctonia solani* pour le biocontrôle du rhizoctun brun de la Pomme de terre. En effet, ce présent travail consiste à étudier l'activité antagoniste *in vitro* des isolats algériens de *Trichoderma* spp. sur la croissance mycélienne, la production et la germination des sclérotés des isolats algériens de *Rhizoctonia solani* ainsi que, les événements mycoparasitaires et leur survie après antagonisme.

1.1 - Généralités sur la pomme de terre

1.1.1 Origine et historique

La pomme de terre est une plante cultivée dans la région du Lac Titicaca très anciennement domestiquée par les peuples de l'Amérique latine, découverte et introduite en Europe au XVI^e siècle par les explorateurs. Ces derniers l'ont progressivement acclimatée et adoptée au point d'en faire dès le XVIII^e siècle un ingrédient essentiel de leur alimentation. La pomme de terre a été un des facteurs de la révolution industrielle, avant d'être diffusée principalement par les empires coloniaux (Ernest Roze, 1898).

Les Espagnols ont connu cette culture durant la première moitié du XVI siècle, en 1534, puis la France vers 1540. Les Anglais avaient de leur côté découvert le tubercule en 1586, au retour d'une campagne contre les Espagnols dans l'actuelle Colombie. Propagée aussi bien par les Anglais que par les Espagnols, la pomme de terre gagne le reste de l'Europe, et les nombreuses disettes du XVIII^e siècle encouragent sa consommation par les Européens, l'Allemagne figurant au rang des précurseurs (Rousselle et *al*, 1996).

En Algérie, son introduction fut réalisée par les français à partir de 1856 et en 1898, elle était déjà pays exportateur de pomme de terre (Starstins, 1977), sachant que durant les années 40, elle était productrice de plants de pomme de terre destinés à couvrir ses besoins en semences. Le blocus en méditerranée pendant la seconde guerre mondiale n'a pas permis les approvisionnements à partir de la Bretagne française d'où le fait que la nécessité de produire les plants était de nouveau ressentie, et le premier programme de l'Algérie indépendante avait démarré en 1969. La période de 1970 à 1973 a permis de maîtriser les techniques de multiplication avec la formation des contrôleurs et l'encadrement de la production (Haddad, 2008).

1.1.2 Aspect botanique

La pomme de terre *Solanum tuberosum* est une plante herbacée à feuilles caduques avec un 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 (Arvy et Gallouin, 2007).

Son 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 (Rousselle and *al.*, 1996).

La pomme de terre présente deux types de tiges (Figure 1) :

Des tiges aériennes, à section circulaire ou angulaire, sur lesquelles sont disposées les feuilles et qui naissent à partir de bourgeons présents sur le tubercule utilisé comme semence. Elles sont herbacées, succulentes et peuvent atteindre de 0,6 à 1,0 m de long (Arvy et Gallouin, 2007).

Des tiges souterraines, qui sont les stolons, sur lesquelles apparaissent les tubercules (Rousselle et *al.*, 1996).

Les feuilles, caduques, alternes, font de 10 à 20 cm de long. Elles sont insérées sur la tige selon une phyllotaxie spiralée, de rapport 5/13. Elles sont composées et comptent 7 à 9 folioles de forme lancéolée et de tailles hétérogènes, de toutes petites folioles s'intercalant par paires entre les plus grandes. Les feuilles basales peuvent parfois être entières (Figure 1) Elles présentent des poils à leur surface, en quantité variable selon les cultivars (Bock, 2012).

L'inflorescence est une cyme qui naît à l'extrémité de la tige (Figure 1). Elle compte d'1 à 30 fleurs, en moyenne entre 7 et 15. Le nombre d'inflorescences et le nombre de fleurs par inflorescence varient fortement selon les cultivars. Les fleurs, d'un diamètre de 3 à 4 cm, sont régulières, à symétrie pentamère typique de la famille des *Solanaceae*s, de couleur jaune claire ou jaune verdâtre (Bock, 2012).

Le fruit de la pomme de terre est une baie de forme sphérique, allongée ou ovoïde, son diamètre varie généralement de 1 à 3 cm et sa couleur peut aller du vert au vert jaunâtre, ou de marron rougeâtre à violet. Il n'est pas comestible. Elles sont groupées en grappes terminales (Huamán, 1986).

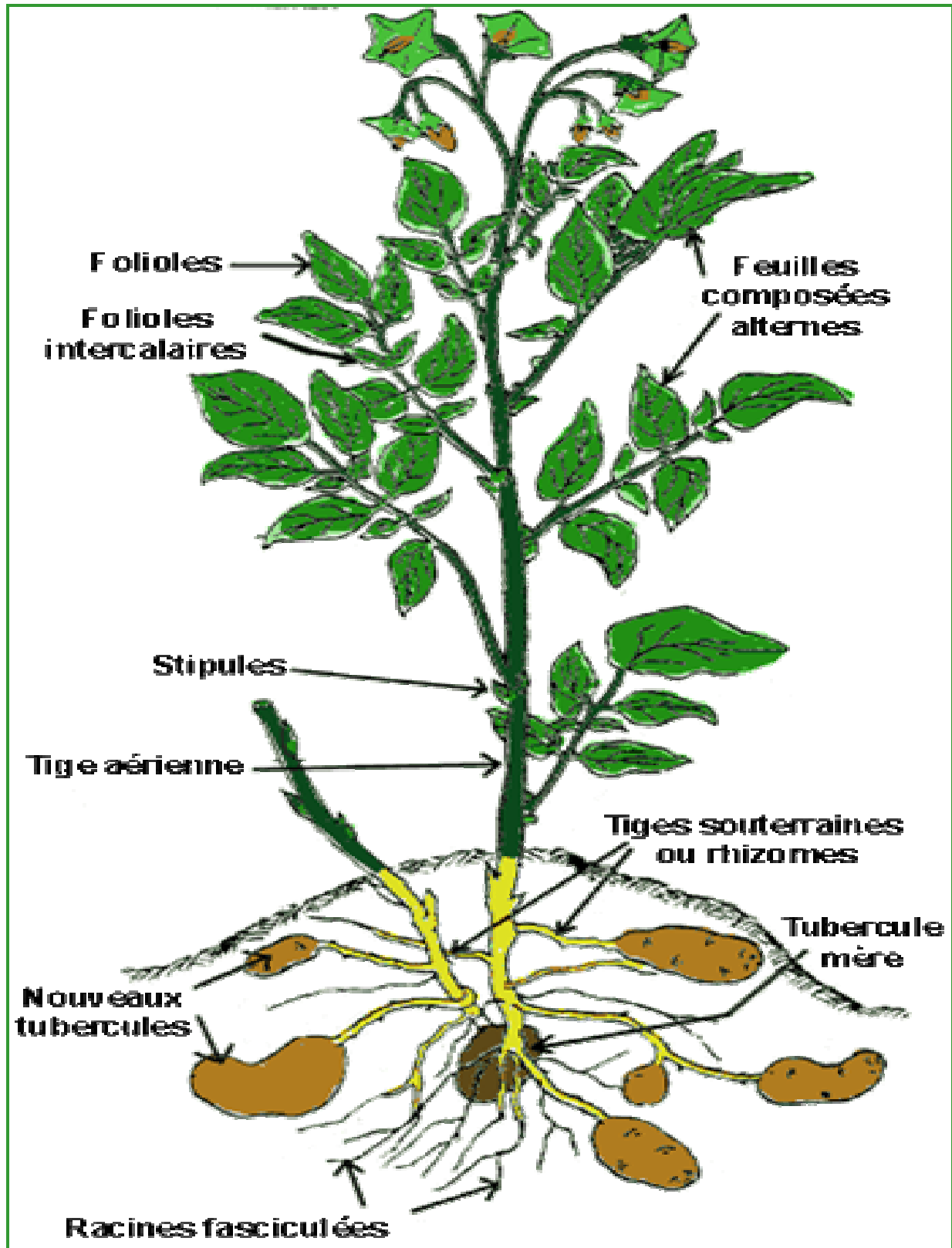


Figure 1 Morphologie de la pomme de terre (Soltner, 2005).

1.1.3 Cycle de développement

Le cycle de la pomme de terre dure environ trois à quatre mois., depuis le semis jusqu'à la destruction de l'appareil végétatif (Martin, 2004). Il se déroule en trois phases principales (Figure 2) :

- Phase de germination, dite de croissance (Madec, 1966 in Montary, 2007),
- Phase de tubérisation (Jolivet, 1969 in Montary, 2007),
- Phase de repos végétatif, Après la récolte (Madec, 1966 In Montary, 2007).

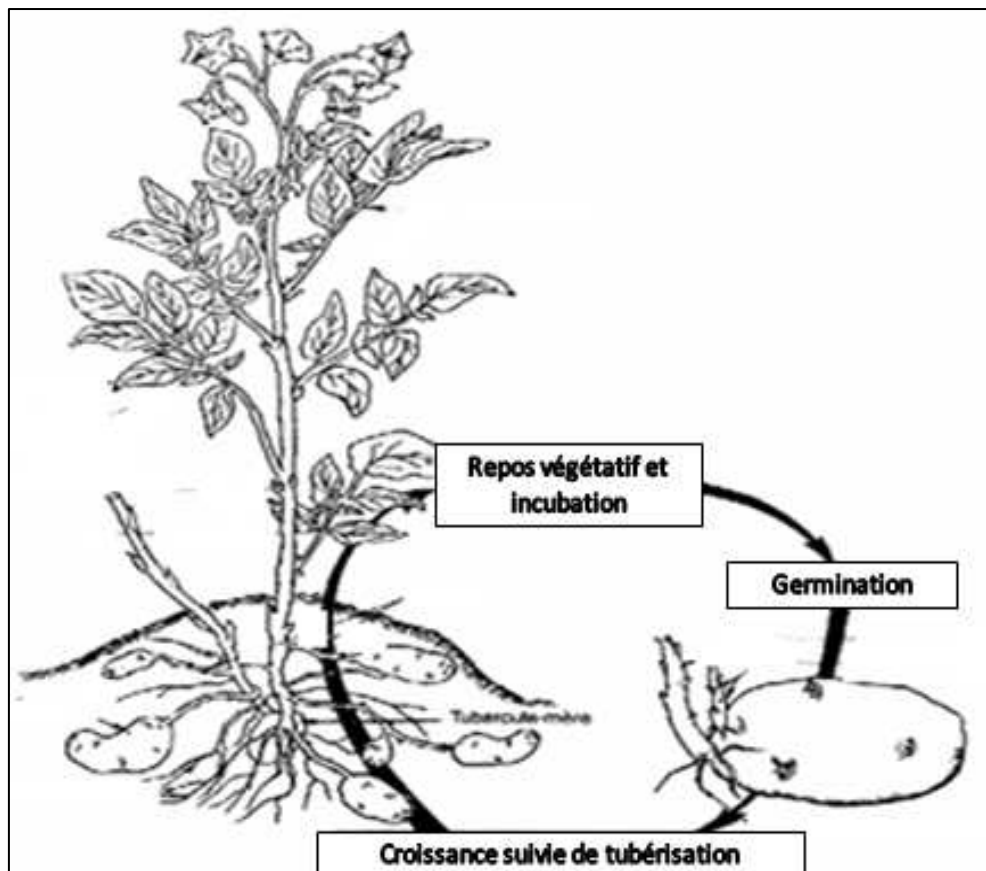


Figure 2 Cycle végétatif de la pomme de terre (Soltner, 2005).

1.1.4 Conditions de développement de la pomme de terre

La pomme de terre s'accommode à tous les types de sols, à l'exception des sols salés et alcalins. Elle préfère les sols profonds, fertiles et meubles. Elle s'adapte aussi bien aux régions tropicales qu'aux régions plus froides et elle réussit le mieux sous les climats tempérés humides et brumeux (Bamouh, 2003).

La température représente donc un facteur climatique très important pour le développement et la croissance de la pomme de terre. Cette croissance est ralentie à moins de 10°C, ses parties foliacées gèlent à moins de 1°C. La température optimale pour la végétation semble se situer entre 15,5 et 21°C (Clarys, 2005).

C'est une plante très exigeante en azote, phosphore et potassium. D'ailleurs, une bonne alimentation en potassium améliore la qualité des tubercules et réduit leur sensibilité aux agressions que subissent les racines. L'acide phosphorique est un facteur de précocité qui favorise le développement racinaire. L'azote favorise le développement, du feuillage, la formation et le grossissement des tubercules (Rousselle et *al.*, 1996).

1.1.5 Importance économique

1.1.5.1 Dans le monde

Dans les pays développés, la consommation de pomme de terre augmente considérablement et représente plus de la moitié de la récolte mondiale. Comme elle est facile à cultiver et que sa teneur énergétique est élevée, c'est une culture commerciale précieuse pour des millions d'agriculteurs (FAO, 2008).

Bova (2012) a signalé qu'entre 2009 et 2010, une stabilité des surfaces cultivées de 0,25 % et, un recul du niveau de production évalué à 2,3 %.

Il apparaît clairement à partir de la (Figure 3), qu'en 2010, 9 pays ont eu une production dépassant les 7 millions de tonnes. La France avec 6,58 millions de tonnes s'est positionnée comme le 11ème pays producteur dans le monde (2 rangs en moins par rapport à 2009), derrière la Chine, l'Inde, la Russie, l'Ukraine, les États-Unis, l'Allemagne et la Pologne notamment. Par rapport à 2009, seules la Chine, l'Inde, la Biélorussie et le Bangladesh ont connu une bonne dynamique de leur production (Bova, 2012).

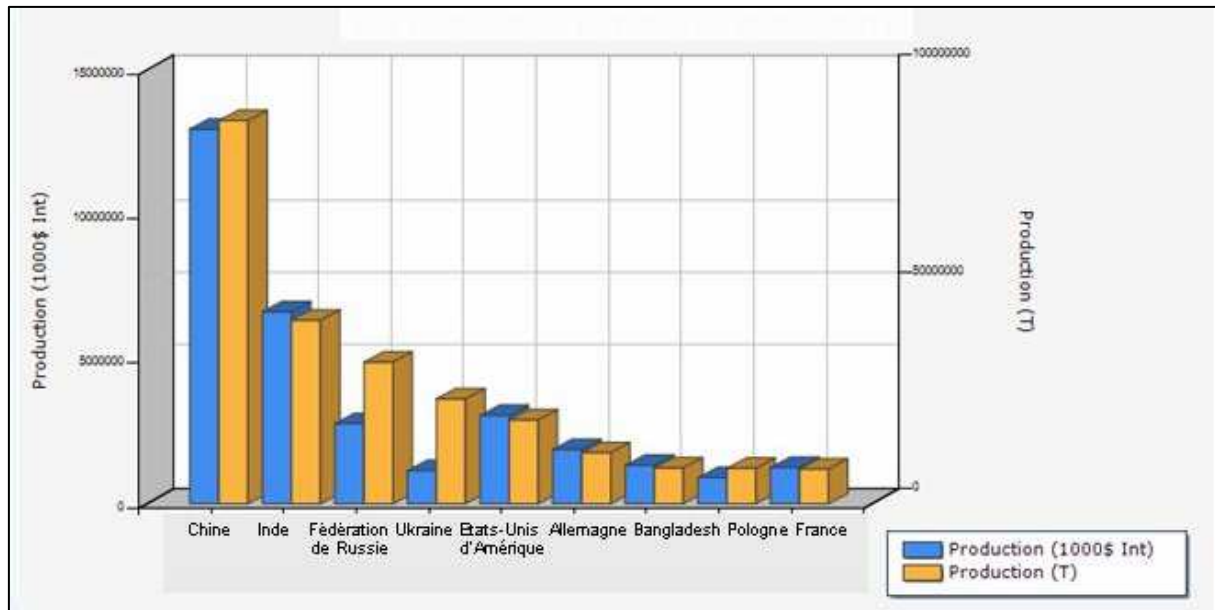


Figure 3 : Le top des productions de pomme de terre dans le monde (FAO Stat, 2011)

D'autre part, plus de 7,5 millions de tonnes de pomme de terre ont été récoltées en 1992 en Afrique contre 11,7 millions de tonnes en 2002. Soit une progression de 52 % en dix ans.

Peu de producteurs dont l'Afrique du Sud, l'Egypte, le Maroc, l'Algérie et le Malawi totalisent plus des trois quarts de la récolte. Mais le nombre de pays pratiquant la culture de la pomme de terre ne cesse d'augmenter. Ils sont maintenant 34 à en cultiver, en quantité plus ou moins importante (Kouamé, 2003).

1.1.5.2 En Algérie

La production de pomme de terre constitue l'un des succès les plus notables de l'agriculture algérienne au cours des 20 dernières années. Elle a été estimée à plus d'un milliard de dollars en 2006. L'importance de la production est due à la position géographique du pays qui lui permet une bonne acclimatation (Omari, 2008).

D'après les statistiques de la FAO, la culture de pomme de terre en Algérie vient en premier devant les céréales, la pastèque et l'oignon (Figure 4) (FAO stat, 2012).

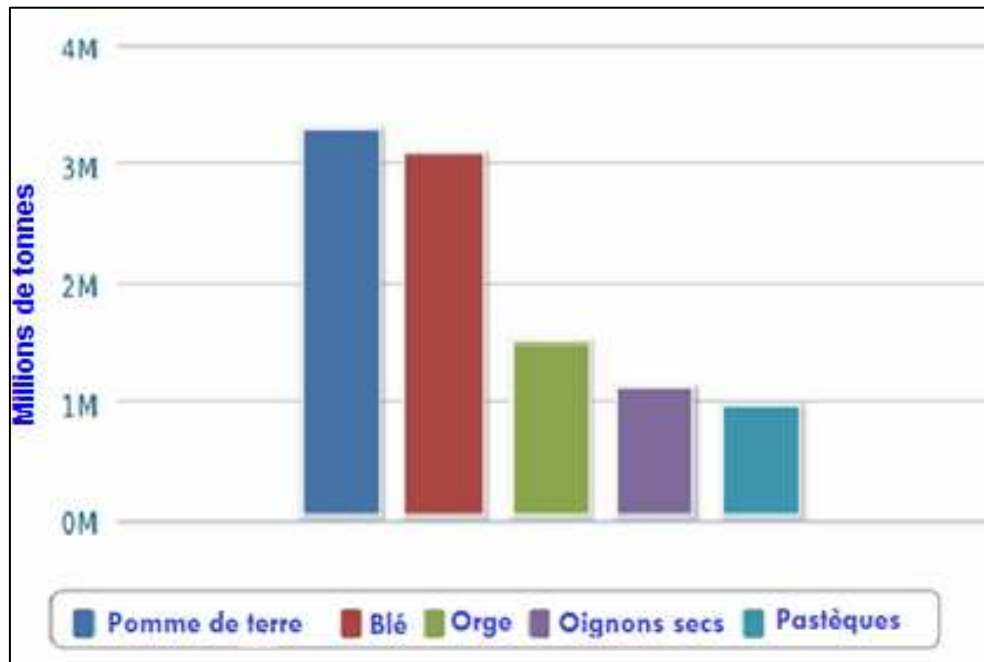


Figure 4 : Classement des principales cultures en Algérie en 2010 (FAO stat, 2012)

Elle est classée deuxième en matière de superficies propres à la culture de la pomme de terre après l'Égypte et dernière, c'est-à-dire quatrième après le Maroc, la Tunisie et l'Égypte par rapport au rendement de sa production, mais également se distingue par son exportation insignifiante qui la classe également dernière en la matière par rapport à ces trois pays du Maghreb. (Lefki, 2008).

Cependant, la filière pomme de terre demeure fragilisée par une dépendance accrue au marché extérieur de la semence à l'amont et par un dysfonctionnement de la mise en marché de sa production en aval (Omari, 2008). D'après le même auteur, trois types de récoltes résultent des différentes productions nationales selon les saisons, à savoir :

Une récolte d'arrière saison en plein essor ces dernières années, dûe à une amélioration de la maîtrise technique et l'extension vers de nouvelles aires de culture à travers le territoire national (notamment au sud), une récolte de saison en pleine performance et qui a permis d'orienter cette production vers le marché local au cours de l'année et la culture primeur qui mérite une attention particulière des responsables vu la croissance enregistrée ces dernières années dans les superficies mobilisées pour cette tranche de culture dont le rôle est d'établir la soudure entre les saisons et par conséquent la régulation du marché national de pomme de terre.

1.1.5.2.1 Evolution des superficies de pomme de terre en Algérie

L'évolution de la structure des superficies affectées à la culture de la pomme de terre en Algérie depuis les années 1990 à ce jour, démontre qu'il y a une croissance soutenue des superficies occupées par la tranche arrière-saison (plantation juillet- août) qui est passée de 25000 ha /an de la période 1991-2000 pour dépasser les 35000 ha au cours des deux dernières campagnes 2006 et 2007 jusqu'à atteindre 51039 ha en 2011 (Omari, 2008; DRDPA, 2012).

Une stabilité des superficies affectées à la tranche saison (plantation de janvier à mars) avec 50 000 ha/an tout au long de la période s'étalant de 1991 à 2007 et atteignant 63850 ha en 2011 (Omari, 2008; DRDPA, 2012). Néanmoins, une baisse inquiétante d'environ 50 % des superficies occupées par la tranche primeur (Plantation octobre- novembre) est enregistrée pour la période 2000/2007 avec 4000 ha/an, par rapport à la moyenne des années 1990, soit près de 8 300 hectares (Omari, 2008) et depuis cette superficie a stagné en atteignant 4821 ha en 2011 (DRDPA, 2012).

1.1.5.2.2 Répartition de la culture

La pomme de terre est cultivée à travers tout le territoire national, y compris dans les oasis du sud du pays, avec l'apparition nouvelle 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 15 wilayate où elle occupe plus d'un millier d'hectares, on pourra alors distinguer dans les zones du littoral et du sub-littoral, 03 bassins de production (Chehat, 2008).

- A l'ouest, il est concerné par les wilayate Tlemcen, Mostaganem et Chlef
- Au centre, il s'agit des wilayate d'Ain Defla, Tipaza, Alger, Boumerdes, Bouira et Tizi-Ouzou
- A l'est, représenté par les wilayate de Skikda, Guelma, Setif, Mila et Batna

Les variétés les plus cultivées en Algérie sont la Spunta, Désirée, Kondor, Batina, Timate et Atlas (MADR, 2011).

Néanmoins, la semence Spunta est la plus demandée sur le marché national en raison de sa production abondante grâce à son couvert végétal intense, et malgré sa sensibilité à plusieurs maladies cryptogamiques telle que le mildiou. D'autres variétés de semences plus productives

et plus résistantes à certaines maladies parasitaires dont Condor, Bartina et Fabela, existent mais la majorité des agriculteurs préfèrent la variété Spunta, très prisée par le consommateur (Ouamar, 2013).

On notera que les importations en valeur de pommes de terre sont passées de 1,5 million USD à 46,4 millions USD et que les importations de pommes de terre de semence sont passées de 20,7 millions USD à 64,3 millions USD durant la même période, c'est-à-dire novembre 2012 (DRDPA, 2012).

En revanche, le déficit en semences est chronique car l'Algérie importe d'Europe environ 120 000 tonnes de semences de pomme de terre, qui couvrent généralement, une partie de la primeur et toute la culture de pomme de terre de saison. Pour les besoins de l'arrière saison en matière de semences, ils sont assurés par la production nationale dans leur totalité (Amrar, 2005).

En effet, la quantité de semences de pomme de terre importées est passée de 90 000 tonnes en 2009 à plus de 100 000 tonnes en 2010 et de 113 000 tonnes en 2011 à plus de 130 000 tonnes en 2012, 80% de cette quantité passe par le port de Mostaganem, et le reste est réparti entre les ports d'Oran, d'Alger et Ténès (Ouamar, 2013).

Un bilan détaillé de production et superficie de pomme de terre de consommation en Algérie a été élaboré par le DRDPA en 2012 selon les différentes régions et les types de cultures de pomme de terre en Algérie (Tableau 1). En effet, la production de pomme terre toutes tranches confondues a atteint 3725882 Tonnes répartis sur une superficie globale de 119710 ha avec la plus grande part pour la pomme de terre de saison qui couvre un maximum de besoins en terme de superficie ou en terme de consommation avec 53,33% en superficie et 57,2% en terme de production au niveau surtout des plaines intérieures, le sud, littoral et sublittoral et hauts plateaux.

Tableau1 : Bilan de la culture de pomme de Terre de consommation en Algérie durant la Campagne 2011/2012 (DRDPA, 2012).

Types de cultures Régions	Primeur		Saison		A / Saison		Total	
	Superficies (Ha)	Production (q)	Superficies (Ha)	Production (q)	Superficies (Ha)	Production (q)	Superficies (Ha)	Production (T)
Hauts Plateaux	/	/	13 637	3 545 225	4 799	1 102 426	18 436	65
Pleines Intérieures	/	/	22 320	7 697 502	21 131	6 174 659	43 451	1 387 216
Littoral et Sublittoral	4 821	1 050 012	14 498	4 647 141	5 924	1 215 153	25 243	691 230
Sud	/	/	13 395	5 456 393	19 185	6 370 320	32 580	1 182 671
Total	4 821	1 050 012	63 850	21 346 261	51 039	14 862 558	119 710	3 725 882
%	4,02	2,8	53,33	57,2	42,63	39,89		

1.1.6 Principaux problèmes phytosanitaires de la pomme de terre

La culture de pomme de terre peut être sujette à de nombreux bio- agresseurs, réduisant ainsi son rendement à la récolte (Tableau 2). Au niveau mondial, les pertes occasionnées par les maladies sont estimées à 32% alors que 10% sont enregistrées par les ravageurs. De même, durant le stockage ou la conservation, diverses maladies peuvent attaquer les tubercules de pomme de terre (Rousselle et *al.*, 1996).

Tableau 2 : Principales maladies et ravageurs limitant la culture de la pomme de terre (Leveillard. J. P, 2012 dans G.I.F.T, 2008).

Origine	Maladie	Agent causal
Maladies bactériennes	Flétrissement bactérien de la pomme de terre	<i>Ralstonia solanacearum</i>
	Jambe noire de la pomme de terre	<i>Pectobacterium spp.</i>
	Flétrissement bactérien de la pomme de terre	<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>Sepedonicus</i>
	Gale commune de la pomme de terre	<i>Streptomyces scabiei</i>
Maladies fongiques	Mildiou de la pomme de terre	<i>Phytophthora infestans</i>
	Alternariose	<i>Alternaria solani</i>
	Verticilliose	<i>Verticillium spp.</i>
	Gale argentée de la pomme de terre	<i>Helminthosporium solani</i>
	Gale poudreuse de la pomme de terre	<i>Spongospora subterranea</i>
	Dartrose	<i>Colletotrichum coccodes</i>
	Gale verruqueuse	<i>Synchytrium endobioticum</i>
	Flétrissement fusarien	<i>Fusarium spp.</i>
	Taches noires de la pomme de terre	<i>Alternaria alternata</i>
	Rhizoctone brun	<i>Rhizoctonia solani</i>
Nématodes parasites	Nématodes à kystes	<i>Globodera pallida</i> , <i>Globodera rostochiensis</i>
	Nématodes à galles	<i>Meloidogyne spp.</i>

Maladies virales	PVY genre <i>Potyvirus</i>	<i>Le virus Y de la pomme de terre</i>
	PVX genre <i>Potexvirus</i>	<i>Le virus X de la pomme de terre</i>
	PLRV genre <i>Luteovirus</i>	<i>Le virus de l'enroulement de la pomme de terre</i>
	PVS genre <i>Potyvirus</i>	<i>Le virus S de la pomme de terre</i>
	PVA genre <i>Potyvirus</i>	<i>Le virus A de la pomme de terre</i>
Insectes	doryphore de la pomme de terre	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>
	Teigne de la pomme de terre	<i>Phthorimea operculella</i>

1.2 Généralités sur la maladie

1.2.1 Introduction

Le rhizoctone brun est l'une des maladies transmissible par semences qui provoque des dommages variés à différents stades du cycle de végétation de la pomme de terre et dont l'agent responsable est un champignon du sol, *Rhizoctonia solani* (Malet, 2010).

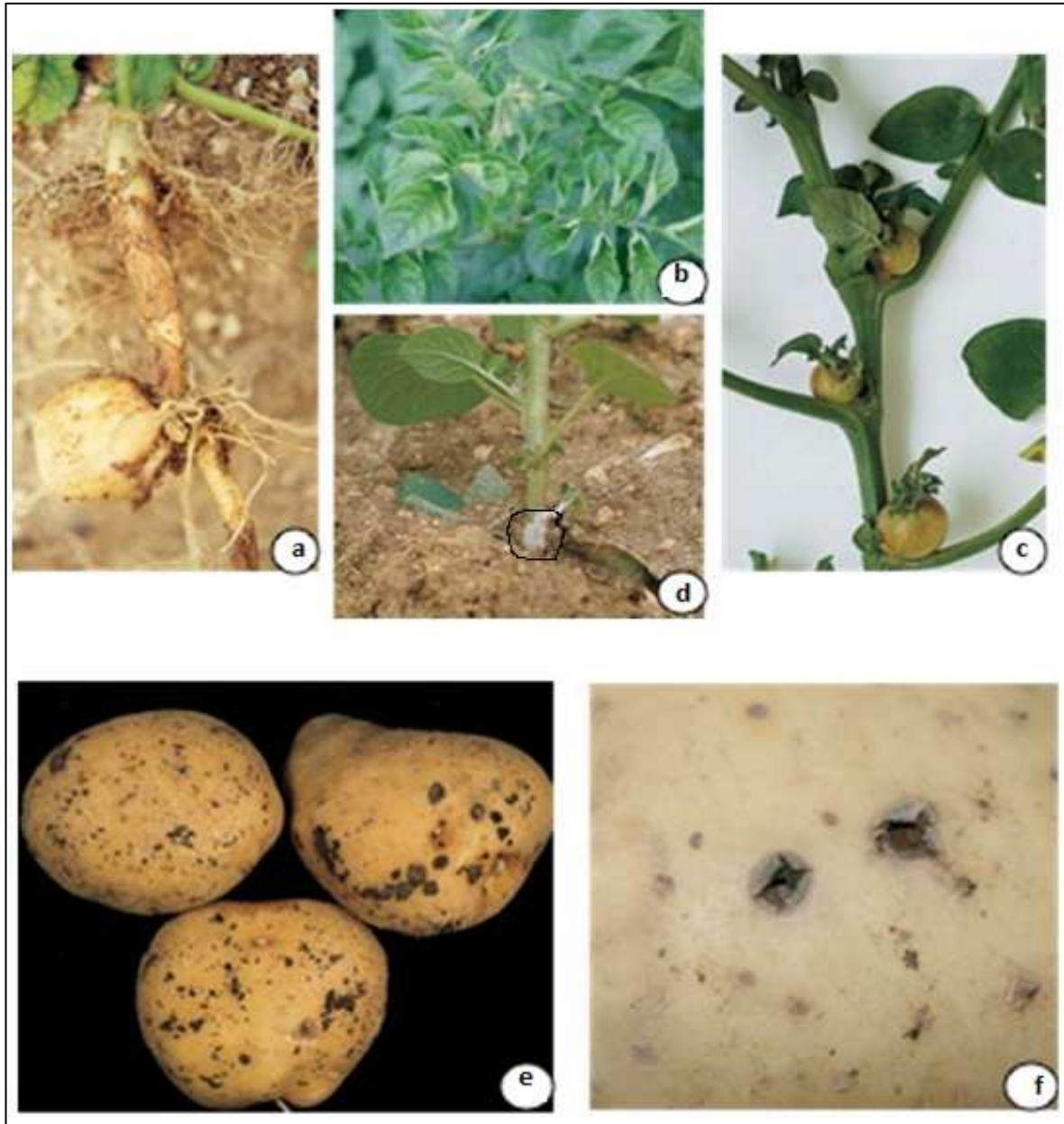
1.2.2 Symptomatologie

La plupart des agriculteurs ne prennent pas conscience de la culture malade jusqu'à la récolte. Les symptômes de cette maladie ne se produisent pas avant la fin de l'été. Le semis dans sa phase juvénile est le plus vulnérable à la maladie. Des flambées se produisent généralement dans les premiers mois d'été (Cubeta et Vilgalys, 1997).

Les symptômes du rhizoctone brun peuvent affecter deux phases essentielles de la culture de pomme de terre (Parmeter, 1970).

En début de végétation, l'attaque de *R. solani* se traduit par des levées irrégulières ou tardives des plantes alors qu'en cas d'attaque sévère, les plants ne lèvent pas. Par contre si l'attaque est plus tardive, la base des tiges est touchée, entraînant un enroulement (Figure 5b), jaunissement et bord violacé des feuilles à cause de la mauvaise circulation de la sève et l'apparition de petits tubercules regroupés à la base de la tige ou des tubercules aériens se développant à l'aisselle des feuilles (Figures 5a et 5c). Tandis qu'en période de forte humidité, un manchon de mycélium blanchâtre est observé à la base des tiges (Figure 5d) ce qui correspond à la phase de croissance active et de reproduction sexuée de l'agent phytopathogène (Parmenter, 1970).

Au stade de tubérisation, un ensemble de symptômes caractéristiques apparaissent sur les tubercules. On peut citer les déformations, entailles ou crevasses et altérations superficielles de la peau rappelant les symptômes de gale commune en liège ou desquamation donnant un aspect non commercialisable, mais la présence des sclérotés sur tubercules représente le symptôme le plus caractéristique en fin de cycle (Figure 5e). Bien que superficiels, ils persistent à la surface du tubercule, même après lavage ; ce sont des organes de conservation lorsque les conditions du sol ne sont plus favorables au développement de la maladie. Un autre symptôme est observé, il s'agit du trognon sec qui apparaît au niveau des lenticelles sans pour autant altérer la chair du tubercule (Figure 5f) (Ogoshi et Akira, 1987).



a : Nécroses brunes au bas de tiges ; *b* : Enroulement des feuilles ; *c* : Tubercules aériens ; *d* : Manchon blanchâtre ; *e* : Sclérotés sur tubercules ; *f* : Trognon sec

Figure 5. Symptômes du rhizoctone brun pomme de terre (G.I.F.T, 2008 dans B.Santé.V, 2012).

1.2.3 Importance et dégâts

Les dégâts causés par cette maladie, entraînent un refus à la vente et à l'exportation car les attaques sur les tubercules les rendent impropres à la commercialisation et peuvent empêcher la certification des plants de pomme de terre. Dans les pays d'Europe et d'Amérique à vocation de production de pomme de terre, tels que la Belgique, la Hollande, la France et le Canada, le rendement est directement touché, avec des pertes pouvant aller de 20 à 25 % (Wharton, 2011).

En Algérie, cette maladie est présente dans toutes les régions à vocation de pomme de terre: El oued, Ain Defla, Tlemcen, Mascara, Skikda, Guelma, Mostaganem et Boumerdes. Ses dégâts ont causé des dépérissements allant jusqu'à 20% en provoquant aussi une forte dépréciation de la qualité des tubercules notamment ceux plantés en sols sablonneux (Malet, 2010).

1.2.4 Cycle biologique

Le sol et les plantes contaminés représentent les principales sources d'inoculum de cette maladie (G.I.F.T, 2008 dans B.S.V, 2012). D'après Agrios (1997), le cycle de la maladie résumé dans la figure 6 se déroule comme suit :

Le mycélium ou les sclérotés passent l'hiver dans les débris végétaux, du sol ou dans la plante hôte où les jeunes hyphes ou/et rarement les basides fructifient apparaissent et produisent du mycélium et rarement des basidiospores. En effet, ce mycélium sécrète des enzymes nécessaires à sa prolifération au niveau de la plante hôte qu'il envahit provoquant des nécroses et des sclérotés dans et autour du tissu infecté qui conduit alors, à divers symptômes associés à la maladie tels que la pourriture de la tige, la fonte des semis, etc, et le cycle se répète

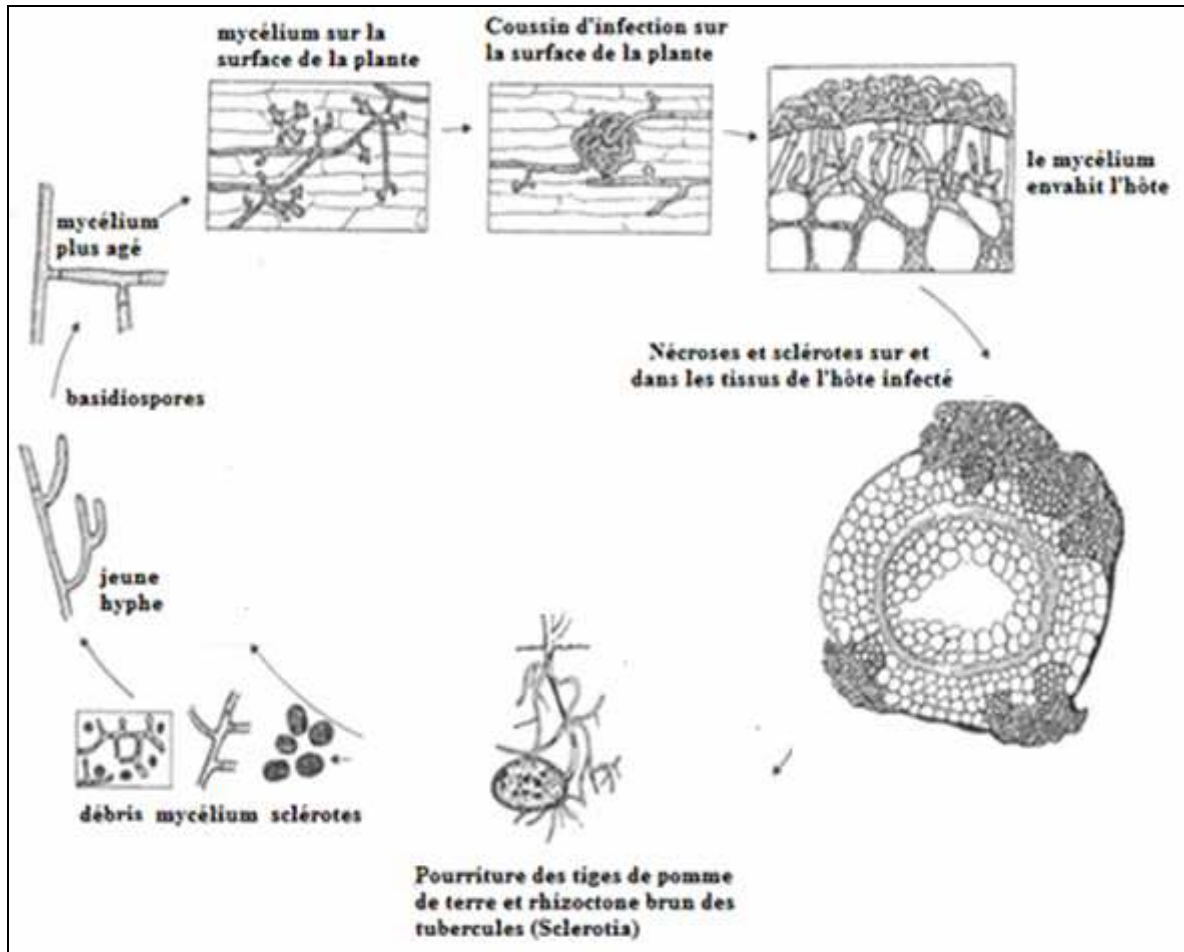


Figure 6. Cycle de vie de *Rhizoctonia solani* sur pomme de terre (Agrios, 1997).

1.2.5 Conditions de développement de la maladie

Le rhizoctone brun de la pomme de terre est favorisé par un climat frais et humide après plantation, ainsi qu'une plantation profonde, précoce, en sol froid, avec un plant non germé ou non réchauffé. Les rotations courtes et un long délai entre le défanage et la récolte sont des facteurs aggravants les attaques (Ogoshi et Akira, 1987).

Toussaint Ferreyrolle, (2012) a confirmé que les sols légers, sableux, secs et bien drainés sont aussi favorables au développement de la maladie en facilitant l'extension du mycélium en automne. Une fertilisation excessive en azote provoque aussi, une augmentation de la sévérité de la maladie. De même, un semis précoce à l'automne fournit à la maladie une période de développement à des températures favorables plus longues.

1.3 Généralités sur l'agent pathogène

1.3.1 Historique

Le nom « *Rhizoctonia* » fut forgé en 1815 par le mycologue suisse Augustin Pyramus de Candolle pour désigner des champignons pathogènes des plantes qui produisent à la fois des hyphes et des sclérotés. *Rhizoctonia* signifie tueur de racines. L'espèce originale de De Candolle, *Rhizoctonia crocorum* (téléomorphe *Helicobasidium purpureum*), est l'agent causal du rhizoctone violet de la carotte et d'autres légumes-racines (P.C.S.B.P.I, 2008).

Par la suite, différents auteurs ont rattaché plus d'une centaine d'espèces à ce genre, la plupart de ces pathogènes de plantes n'ayant cependant qu'une ressemblance superficielle avec l'espèce type (index Fungorum, 2004). Cet agent a été nommé suivant une chronologie temporelle *Moniliopsis aderholdii* (Ruhland, 1908 in index fungorum 2004), *Rhizoctonia grisea* (Matz, 1920 in index fungorum 2004) et *Moniliopsis solani* (Kühn et Moore, 1987 in index fungorum 2004).

D'autre part, Parmeter (1970) a affirmé que ce champignon phytopathogène a été découvert il y a plus de 100 ans et qu'en 1858, Julius Kuhn. l'a observé sur les tubercules de pommes de terre malades et qu'il a nommé *Rhizoctonia solani*.

1.3.2 Position taxonomique

Parmenter (1970) a affirmé que *Rhizoctonia solani* sur pomme de terre serait considéré comme un champignon basidiomycète si le stade téléomorphe est abondant mais n'est actuellement pas connu pour produire des spores Le rhizoctone brun n'est connu que par sa forme asexuée.

La classification de *Rhizoctonia solani* a été rapportée par Parmenter, (1970) comme suit :

- **Règne des** Champignons
- **Famille des** Basidiomycètes
- **Classe des** Agaricomycètes
- **Ordre des** Cantharellales
- **Famille des** *Ceratobasidiaceae*
- **Genre :** *Rhizoctonia*
- **Genre et Espèce :** *Rhizoctonia solani* Kuhn. (1858).

1.3.3 Morphologie

En culture, *Rhizoctonia solani* se présente comme colonie subaérienne de couleur blanchâtre au début mais devenant sombre en vieillissant (Figure 7a). Le mycélium est de couleur brunâtre à brun foncé, est constitué d'hyphes relativement épais. Il est caractérisé par un aspect réticulé dont les embranchements sont à angles droits (Figure 7b) (Thompson, 2007). Ses cellules au niveau des hyphes sont plurinucléées. Les hyphes sont de 4-15 μm de diamètre. Un septum près de chaque branche des hyphes et une légère constriction à la succursale sont des critères de diagnostic. *R..solani* est subdivisée en groupes d'anastomose (AG) basés sur la fusion des hyphes entre les souches (Wiese, 1987).

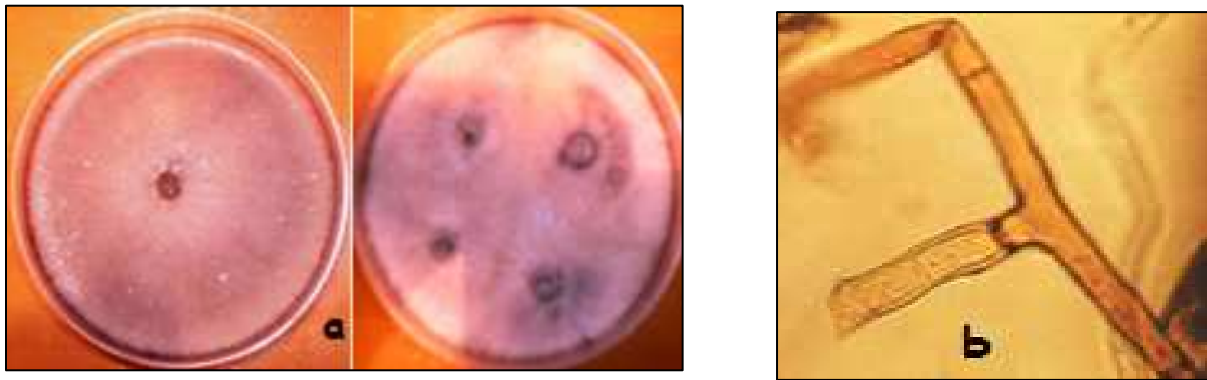


Figure 7. Aspect cultural (a) et morphologique (b) de *Rhizoctonia solani* (G : X500) (Thompson, 2007).

1.3.4 Biologie

Cubeta et Vilgalys (1997) ont suggéré que le pouvoir infectieux de cet agent phytopathogène est conditionné par les climats chauds et humides, la présence de la plante hôte, les pluies fréquentes, l'irrigation et la hausse de températures au printemps et en été. Sa prolifération, est étroitement liée à la réduction du drainage du sol à cause de son compactage.

Toussaint Ferreyrolle (2012) a confirmé qu'un précédent céréale à paille en absence de travail du sol permet au champignon de se conserver sur les résidus. De même, les sclérotés présentent une durée moyenne de survie dans le sol de 3 à 4 ans. Le labour peut également jouer un rôle négatif en remontant à la surface des résidus enfouis l'année précédente.

La dispersion de l'inoculum se fait grâce aux sclérotés qui se disséminent par le vent, l'eau, le mouvement du sol ou entre les plantes hôtes atteintes (Wharton, 2011). Par ailleurs, tout facteur de stress ou carence pour la plante, fragilisant cette dernière, favorise l'installation du champignon et son développement (Toussaint Ferreyrolle, 2012).

La germination est favorisée par les températures dépassant 13 à 15°C pour infecter des racines ou des plantes restantes sur le sol. Un sclérote peut germer et son mycélium peut atteindre une distance allant de 7 à 10 cm jusqu'à ce qu'il rencontre une plante hôte. (Wharton, 2011).

Les conditions optimales pour son développement sont des températures du sol variant de 15 à 18°C et une humidité élevée. Toutefois, lorsque la température dépasse ces valeurs, la pathogénicité de *Rhizoctonia solani* diminue. Néanmoins, en conditions idéales, il peut ne s'écouler que 3 à 4 jours entre l'infection et l'apparition des premiers symptômes (Thompson, 2007).

1.3.5 Spécificité parasitaire

Cet agent phytopathogène est présent également sur d'autres espèces cultivées comme le maïs, la betterave, la carotte, les crucifères et les céréales (G.I.F.T, 2008 dans B.S.V, 2012).

1.4 Lutte contre la maladie

Trois méthodes de lutte sont préconisées contre le rhizoctone brun de la pomme de terre :

1.4.1 Méthodes culturales

Il n'est pas possible de contrôler complètement *Rhizoctonia solani*, mais la gravité de l'agent pathogène peut être limitée. Des variétés modérément résistantes à ce pathogène, peuvent être utilisées, mais elles produisent des rendements plus faibles par rapport aux variétés standards. Minimiser le compactage du sol est aussi une autre façon de réduire le risque de l'agent pathogène parce que cela aide les infiltrations d'eau, le drainage et l'aération pour les plantes.

Il a été démontré, que l'intégration de l'avoine dans une rotation culturale avec des pommes de terre réduit les infections de *Rhizoctonia solani* (Uchilda, 2011).

L'évitement est l'un des principaux moyens qu'utilisent les agriculteurs afin d'éliminer l'agent pathogène de leurs parcelles. Les plantations de pomme de terre doivent être loin des zones humides et mal drainés et les agriculteurs doivent à tout prix éviter de planter des cultures

sensibles au *Rhizoctonia solani*. De même, le défanage assez précoce constitue un moyen pour limiter la contamination des tubercules à partir de la végétation touchée (Anderson, 1982).

Par contre, le broyage superficiel lors des labours, la récolte des tubercules, une fois leur peau épaissie de même qu'un enrichissement en potassium, a montré de bons résultats sur la diminution de l'inoculum de *R. solani* au niveau des parcelles de pomme de terre (Toussaint Ferreyrolle, 2012).

Les variétés les plus connues comme étant des variétés résistantes sont les cultivars *Eramosa* et *Shepody* (MAC dans AAFC, 2011).

En Algérie, les méthodes culturales ne sont pas prises en considération par les agriculteurs, malgré les programmes de vulgarisation et d'avertissement mis en place dans le cadre de l'encadrement phytosanitaire entrepris par les instituts techniques du ministère de l'agriculture. Vu l'enjeu économique qu'offre cette filière, les agriculteurs préfèrent la lutte chimique, (MADR,2013).

1.4.2 Lutte chimique

La lutte se réalise par traitement chimique de la semence, qui est aujourd'hui la méthode la plus efficace mais reste insuffisante dans le cas de contamination provenant d'un inoculum présent dans le sol (MAC dans AAFC, 2010).

D'après l'expérience canadienne en rhizoctone brun sur pomme de terre, le traitement de semence peut limiter le développement de la maladie transmissible par semence. Il se justifie dès que des sclérotés de rhizoctone sont présents, même en faible quantité, sur les tubercules de semences (MAC dans A.A.F, 2010).

Cette méthode aide à réduire les dommages causés au moment de la levée. Les fongicides à base de fludioxonil sont homologués à cette fin. Les fongicides contenant du mancozèbe ont une efficacité prouvée (MAC dans A.A.F, 2010).

L'application de l'azoxystrobine dans le sillon, a prouvé son efficacité à réduire de façon importante les dommages causés par la rhizoctonie à condition que ce traitement soit envisagé

dans les champs où la maladie a été observée de façon importante les années antérieures. Le suivi des champs pour évaluer l'importance de la maladie est donc la première étape afin d'établir les méthodes de lutte contre le rhizoctone brun (MAC dans A.A.F, 2010).

De même qu'il faut traiter la semence si le sol est fortement infesté par le rhizoctone. Toutefois, le traitement des semences ne donne pas toujours les résultats escomptés. Certains fongicides offrent une maîtrise limitée du rhizoctone brun sur les tubercules fils (MAC dans A.A.F, 2011).

En Algérie, des fongicides à base de fludioxonil ont été testés avec succès au cours de la campagne pomme de terre d'arrière saison 2007 sur la variété condor de classe A qui ont permis de constater l'absence totale des sclérotés du rhizoctone sur la parcelle plantée avec des semences traitées avec cette matière active. De nombreux agriculteurs de la région d'El Oued ayant utilisés cette matière active, ont obtenu au cours de cette même année d'excellents résultats. Ils sont de ce fait convaincus de la nécessité de traiter leurs semences (Malet, 2009).

1.4.3 Lutte biologique

La lutte biologique a augmenté récemment, alimentée par les préoccupations du consommateur quant à l'utilisation abusive des pesticides (Whipps, 2001).

La recherche effectuée en serre et sur le terrain a montré que le poudrage avec des champignons antagonistes de *Rhizoctonia* peut réduire sensiblement la présence du chancre des tiges et du rhizoctone brun. Cette pratique a réduit l'infection par *Rhizoctonia* et réduit la viabilité des sclérotés sur pomme de terre (Beagle-Ristaino et Papavizas, 1985).

Par ailleurs, des travaux ont été menés démontrant l'effet antagoniste de *Trichoderma harzianum* sur *Rhizoctonia solani*. En effet, en 2010, Demrich, Dane et Eken, ont pu démontrer clairement le mycoparasitisme de l'antagoniste envers *R.solani* sur des tubercules portant des sclérotés récoltés au niveau de parcelles turques. D'après Osman et al. (2011), l'étude menée au niveau de parcelles égyptiennes infectées par *Rhizoctonia solani* où des essais ont été menés avec l'utilisation de champignons antagonistes tels que *Gliocladium deliquescens*, *G.virens*, *Trichoderma harzianum*, *T.hamatum* et des espèces de cyanobactéries (*Nostoc entophyllum* et *N.muscorum*) ont démontré l'effet inhibiteur de la croissance de

R.solani. En effet, le *Trichoderma harzianum* a révélé de meilleures potentialités inhibitrices sur la croissance mycélienne comparée aux antagonistes étudiés.

De même, la revue Stratégie Phytosanitaire Québécoise en Agriculture (2013) a rapporté dans son 2ième numéro que des fongicides à base de *Bacillus subtilis* ont été homologués contre *R.solani*.

Cependant, en Algérie, aucun travail n'a été mené sur l'effet antagoniste de champignons ou bactéries ou autres vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* sur pomme de terre.

1.5 Généralités sur les *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin. Il possède une grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

En effet, les *Trichoderma spp.* se développent dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

Tous ces critères leur réfèrent une place importante dans le maillon des chaînes biologiques (Widden et Abitrol, 1980 ; Vining, 1990 ; Kubicek *et al.*, 2003).

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

1.5.1 Taxonomie

Les *Trichoderma* peuvent se présenter sous deux formes :

- **La forme parfaite** connue par le genre *Hypocrea* de la classe des Deuteromycètes et appartenant à l'ordre des Sphérialés et la famille des Hypocréacées (Roquebert, 1996).
- **La forme imparfaite** représentée par le genre *Trichoderma* appartenant à la classe des Adelomycètes, l'ordre des Hyphales et la famille des Mucédinacées (Roquebert, 1996).

En revanche, la biologie moléculaire a révélé que des espèces de *Trichoderma* génétiquement différentes présentent des similitudes morphologiques et leurs caractéristiques se chevauchent, ce qui explique que les seuls critères morphologiques ne suffisent plus pour une

classification incontestable des formes anamorphes de *Trichoderma* spp. (Cournut, 1984 ; Sugiyama, 1987; Gams et Bissett, 1998; Samuels et *al.*, 1994).

Ainsi, selon Bissett (1984), la taxonomie actuelle classe les *Trichoderma* spp. comme suit :

- **Embranchement** : Amastigomycota et/ou Eumycètes
- **Sous-embranchement** : Ascomycota
- **Classe** : Sordariomycètes
- **Sous-classe** : Sordariomycetidae
- **Ordre** : Hypocreales
- **Famille** : Hypocreaceae
- **Genre** : *Trichoderma*

Rifai, (1969) a déterminé quelques espèces de *Trichoderma* (*) (Figure 8).

C'est en 1991 que Bissett a proposé la notion de «sections» pour faire face au nombre important d'espèces nouvelles de *Trichoderma* spp.

En effet, en se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides, il regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (Figure 8) (Leuchtman, 1996 ; Landreau, 2001).

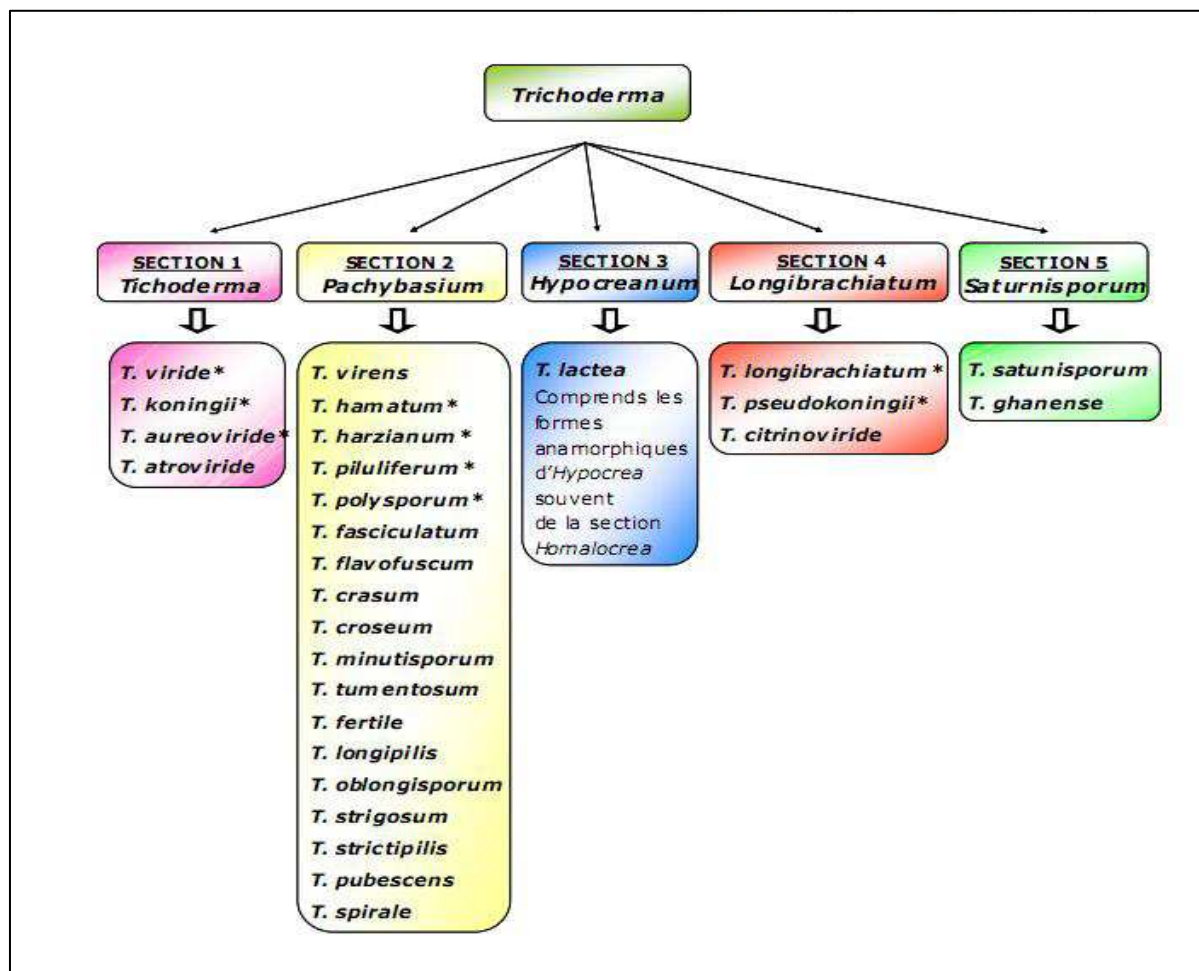
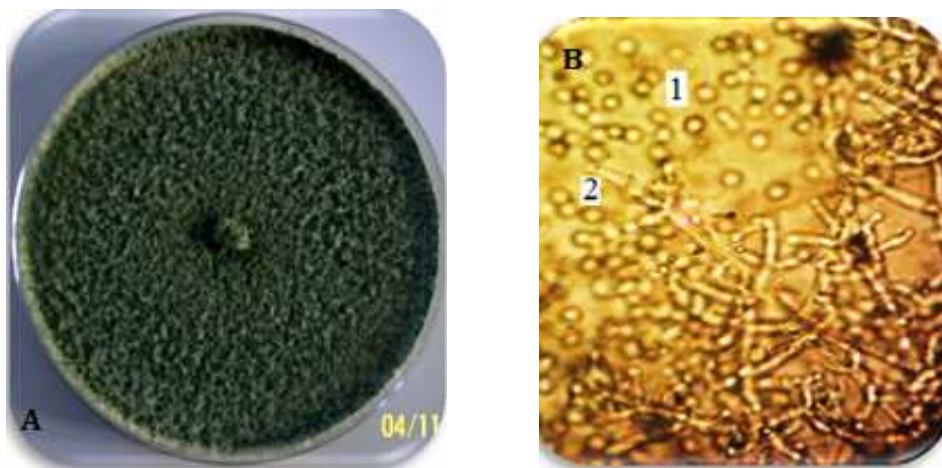


Figure 8. Sections systématiques de *Trichoderma* spp. (Bissett, 1991a ; 1991b)

1.5.2 Caractérisation culturelle et morphologique

Les cultures de *Trichoderma* spp. sont d'aspect floconneux, compactées en touffes. Elles sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides et sont caractérisées par une croissance rapide. Au microscope optique, le mycélium est composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles qui, à leur tour, portent les phialospores ou les conidies (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001, Kubicek et al., 2003).

Les conidies sont vertes, globuleuses et lisses de dimensions 2,8 - 3,2 x 2,5 - 2,8 μm pour *T. harzianum*, par contre, globuleuses et granuleuses de dimensions 3,5 - 4,5 x 2,5-3,2 μm pour *T. viride* (Botton et al., 1985). Les structures de résistance sont représentées par les chlamydospores globuleuses, hyalines, atteignant 14 μm de diamètre pour *T. viride* et 6 à 12 μm pour *T. harzianum* (Botton et al., 1985).



1. Conidies
2. Phialide

Figure 9. Aspect culturel (A) et morphologique (B) (Gr x 500) de *Trichoderma* sp. (Moumene et al., 2008)

1.5.3 Ecologie et biologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998).

En effet, les espèces de *Trichoderma* spp. sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la mycoflore (Widden et Abitrol, 1980 ; Kubicek et *al.*, 2003).

Les *Trichoderma* spp. se développent généralement sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998). Ils ont été également isolés à partir d'algues marines (*Rhodophyta* sp. et *Phaeophyta* sp.) prélevées de la côte atlantique et méditerranéenne (Genilloud et *al.*, 1994), ainsi qu'à partir de moules au Canada (Brewer et *al.*, 1993).

Leur présence dans le tractus digestif et la surface de plusieurs espèces marines reste insolite, puisque ces derniers biosynthétisent des substances aux fortes activités antifongiques et cytotoxiques (Pivkin, 2000).

La température optimale de leur croissance est comprise entre 20 et 28°C. Une bonne croissance est également observée entre 6 et 32°C. Quelques cas exceptionnels de croissance ont été observés à 37°C, mais aucune à 0°C. Le point thermique de mortalité dans le sol est de 49 à 55°C pendant 30 minutes. Pour le pH, il doit être compris entre 1.5 et 9. L'optimum est compris entre 4,5 et 5,5. Une longueur d'onde comprise entre 430 et 490 et/ou 320 et 380 nm favorise la sporulation. Les ions de cuivre permettent le développement des structures colorées. Une concentration élevée de sel dans le support inhibe la germination des conidies, mais pas la croissance du mycélium. Les conidies sont relativement résistantes aux rayonnements gamma (Subramanian, 1998).

Cependant, ces antagonistes résistent mal à la sécheresse des sols. En effet, les populations décroissent rapidement lorsque la teneur en eau dans le sol est en dessous de 10 à 20% de la capacité de rétention (Davet, 1983). D'autre part le développement de ce genre varie selon les quantités de carbone et d'azote présentes dans le sol. L'apport de matière organique dans ce dernier permet à ce genre et aux autres antagonistes d'exprimer parfaitement leurs capacités antagonistes (Alabouvette et *al.*, 1983).

1.5.4 Pouvoir antagoniste

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* spp. sont connues depuis longtemps, puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. Néanmoins, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des agents phytopathogènes n'a débuté qu'entre les deux Guerres mondiales (Caron, 2002).

Les modèles étudiés s'intéressaient essentiellement aux parasites du sol, mais déjà, en 1952, Wood signalait l'efficacité de *Trichoderma* spp. pour contrôler *Botrytis cinerea* sur la laitue. Cet antagoniste a la capacité d'attaquer les agents pathogènes à travers différents modes d'action. Il peut agir par :

- Antibiose qui résulte de la production de substances qui agissent comme des antibiotiques inhibant la croissance de l'agent phytopathogène,
- Compétition qui se manifeste par leur aptitude à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) que les champignons pathogène,
- Parasitisme qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène en s'enroulant autour de celui-ci, soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui injectant des enzymes qui le détruisent.

D'après Caron (2002), les *Trichoderma* possèdent plusieurs mécanismes d'attaque qui demeurent complexes. Ils peuvent employer 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. Ce genre est efficace lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des agents phytopathogènes.

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.

Une fois installés, les *Trichoderma* peuvent avoir un effet stimulant pour la plante en absence de champignons pathogènes, alors qu'en présence de ce dernier, ils deviennent inhibiteurs de croissance mycélienne en diminuant sensiblement l'incidence de la maladie par sa pulvérisation sur la partie aérienne. A ce moment, son action est curative (Caron, 2002).

D'après Besselat (1985) et Lanusse et al (1983), les *Trichoderma* sont antagonistes de nombreuses phytopathogènes comme *Alternaria* spp., *Armellaria mellea*, *Athelia rolfsii*, *Colletotrichum lini*, *Fusarium oxysporum*, *Gaeumannomyces graminis*, *Helminthosporium* sp, *Macrophomina phaseolus*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Verticillium albo-atrum* et *Verticillium dahliae*.

Domsch (1993) a révélé leur hyperparasitisme sur les sclérotés de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium cepivorum*, *Sclerotinia trifoliorum*, *Sclerotinia borealis*, *Claviceps purpurea*, *Rhizoctonia solani*. Il a affirmé qu'elles sont également des mycoparasites d'*Actinomucor elegans*, *Armellaria mellea*, *Athelia rolfsii*, *Cachliobolus sativus*, *Circinella muscae*, *Fusarium oxysporum*, *Gaeumannomyces graminis*, *Lentinus edodes*, *Mucor plumbeus*, *M.hiernalis*, *Phaeolus schweinitzii*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora citrophthora*, *Pythium* sp., *Phycomyces nitens*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizoctonia solani*, *Zygorrhynchus moelleri* et *Syncephalastrum rasemosus*.

1.5.5 Intérêts de l'utilisation des *Trichoderma* spp. dans l'agriculture biologique

Ce champignon a la capacité d'augmenter le taux de croissance de la plante et son développement (Besnard et Davet, 1993 ; Altomare et al., 1999 ; Mouria, 2007).

C'est aussi un excellent agent de bio-contrôle (Lepoivre et Semal, 1988) qui produit des métabolites secondaires chez les mycètes, dont le rôle est de :

- Retarder la germination des spores ;
- Protéger les spores en dormance contre des amibes ;
- Eliminer dans l'environnement les microorganismes concurrents de la germination (Demain and Fang, 2000).

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

Sandgren et al., (2005) ont identifié les métabolites des *Trichoderma* spp. comme des enzymes et des molécules bioactives. La production des xylanases et cellulases est variable d'une souche à l'autre (Kubicek et al., 2003), ainsi que les substances bioactives telles que les métabolites volatils (Vizcaino et al., 2005), les métabolites non volatils diffusibles (Blumenthal, 2004), les métabolites polypeptidiques, les ciclosporines et les peptaïbols (Landreau, 2001).

D'après Ridout et al.. (1986), l'activité enzymatique induite par les *Trichoderma* spp a aussi un effet sur les protéines des cellules des parois des agents phytopathogènes tels que *Rhizoctonia solani*.

En Tunisie, des études ont été menées sur l'effet des substances volatiles de *T. harzianum* qui inhibent le développement mycélien de *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis lycopersici* sur les plants de tomate (Benhamou et Chet, 1990 ; Hibar et al., 2005).

En Algérie, une étude récente portant sur le développement et l'extraction des métabolites secondaires de *Trichoderma viride* algérien et leurs effets biologiques actifs a permis de lister ces métabolites et leur effet (Moussaoui, 2010).

Ainsi, il existe aujourd'hui quelques souches de *Trichoderma* inscrites en tant que fongicides et des préparations correspondantes commercialisées en tant que préparations biofongicides pour lutter contre les maladies des plantes telles que le *Rhizoctonia solani* Kühn. ou le *Phytium ultimum* Trow. alors que d'autres sont commercialisées en tant que fertilisants ou agents de croissance et de germination en absence de tout agent phytopathogène (Lynch et al., 1991a ; 1991b).

Il est établi donc que ce genre est un agent de lutte biologique contre un large spectre phytopathogènes par le biais de son mycoparasitisme, son antibiose ou les deux en même temps (Lepoivre, 2003).

D'autres études ont été menées au Maghreb pour démontrer l'effet inhibiteur tant *in vitro* qu'*in vivo* des *Trichoderma* spp. sur des agents pathogènes redoutables tels que les *Fusarium*, les *Pythium* sur tomate, sur blé et sur fève (Benhamou et Chet, 1997 ; Yedidia et al., 1999 ; Hibar et al., 2005).

En Algérie, des travaux récents portant sur le bio-contrôle de certains phytopathogènes par l'utilisation des *Trichoderma* spp. algériens ont été menés, sur le mildiou de la pomme de terre, confirmant l'effet antagoniste ou biofongicide des isolats algériens antagonistes de *Trichoderma* spp. vis-à-vis des isolats de *Phytophthora infestans* (Hasni, 2011 ; Bencheikh, 2012 ; Zanoune, 2012), ainsi que l'activité antagoniste de trois espèces de *Trichoderma*, à savoir *T. harzianum*, *T. viride* et *T. longibrachaitum* vis-à-vis de *Botrytis fabae* et *Botrytis cinerea* sur fève (Bendahmane et al., 2012).

2 Matériel et méthodes

2.1 Introduction

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires de mycologie du siège de l'INPV d'El-Harrach et de la Station régionale de la protection des végétaux de Boufarik, située dans la wilaya de Blida.

Il vise l'étude du pouvoir antagoniste des isolats algériens du genre *Trichoderma* vis-à-vis des isolats algériens de *Rhizoctonia solani*, agent responsable du rhizoctone brun de la pomme de terre. Ce travail a nécessité l'utilisation d'un matériel biologique en se basant sur une méthodologie stricte et rigoureuse.

2.2 Matériel biologique

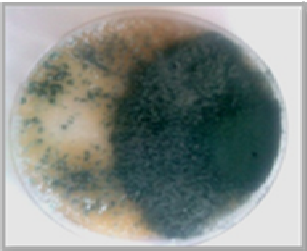

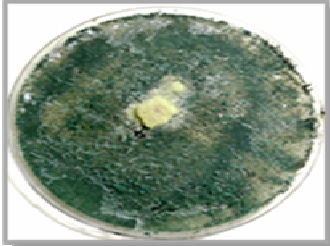
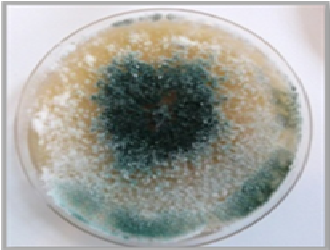

Le matériel biologique est représenté par le matériel fongique antagoniste et les tubercules de pomme de terre commercialisés au niveau de 2 marchés de légumes du nord algérien et produits dans la wilaya d'El-Oued, à partir desquels a été isolé le matériel fongique phytopathogène.

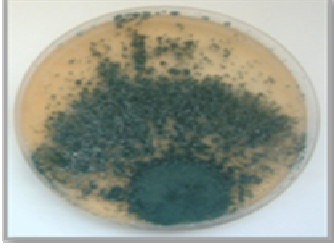





2.2.1 Matériel fongique antagoniste

Il est représenté par onze isolats algériens de *Trichoderma* spp. prélevés de la collection de S. Moumene (Moumene et al, 2012) et ayant fait l'objet de travaux sur l'activité antagoniste des *Trichoderma* spp. à l'égard de *Phytophthora infestans*, agent responsable du mildiou de la pomme de terre en Algérie (Tableau 3) (Moumene et al, 2013)

Les isolats antagonistes purifiés et conservés à l'abri des contaminations ont été produits en masse sur milieu Extrait de Malt Agar (composition voir annexe) et incubés à une température de 28°C pendant deux semaines (Djafer, 2011; Saadoune, 2011; Bencheikh, 2012; et Zanoume, 2012).

Tableau 3. Données sur les isolats algériens de *Trichoderma* spp utilisés (Moumene et al, 2013)

Lieu de prélèvement		Substrat	Date de prélèvement	Code de l'isolat	Aspect macroscopique
Wilaya	Commune				
Alger	Staoueli	Masse d'œufs de Méloïdogyne (culture de tomate)	2009	T1	
Mostaganem	Stidia	Sol de pomme de terre	3 mars 2011	T2	
Alger	Zéralda	Sol de pomme de terre	8 mars 2011	T3	
Tipaza	Fouka	Masses d'œufs des Meloidogyne (Culture maraîchère)	2009	T4	
Aïn Defla	Amra	Sol de pomme de terre	12 avril 2011	T5	

Béchar	Abadla	Sol de pomme de terre	2011	T6	
Tipaza	Bourkika	Sol de pomme de terre	5 avril 2011	T7	
Skikda	Collo	Masses d'œufs des Meloidogyne (Courgette)	2009	T8	
Mascara	Mascara	Tubercules de pomme de terre	2009	T9	
El -Oued	El-Oued	Masses d'œufs des Meloidogyne (Culture de tomate)	2008	T10	
Aïn Defla	El Abadia	Sol de pomme de terre	avril 2011	T11	

2.2.2 Matériel fongique phytopathogène

Durant le mois de janvier 2013, des sclérotés de *Rhizoctonia solani* ont été collectés à partir des tubercules de pomme de terre commercialisés au niveau de 2 marchés de légumes situés respectivement dans la région de Khemis El Khechna et Blida. Le prélèvement des tubercules a été réalisé entre le 15 et 30 janvier 2013 ce qui coïncide avec la commercialisation de cette pomme de terre dite pomme de terre Erramla qui est caractérisée par sa peau blanche et fine avec du sable y adhérent.

2.3 Méthodologie

Notre expérimentation comporte 6 étapes essentielles :

1. Isolement et purification
2. Identification des groupes d'isolats phytopathogènes
3. Caractérisation culturale des isolats phytopathogènes étudiés
4. Activité antagoniste *in vitro* des isolats algériens de *Trichoderma* spp. vis-à-vis des isolats de *Rhizoctonia solani* (isolats phytopathogènes et filtrats de leur culture)
 - 4.1 Sur la croissance mycélienne.
 - 4.2 Sur la production et la germination des sclérotés.
5. Evénements structuraux du mycoparasitisme.
6. Etude de la survie des isolats de *Rhizoctonia solani* préalablement confrontés aux antagonistes.
7. Analyse statistique.

2.3.1 Isolement et purification

Quatre échantillons de 5 kg de pomme de terre de consommation produite au niveau de la région d'El-Oued et commercialisés au centre algérien, ont été prélevés. Des sclérotés ont été collectés séparément et respectivement des 4 échantillons de pomme de terre. Ces derniers ont été soumis à une pré-stérilisation effectuée à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 10 minutes et un rinçage dans trois bains d'eau distillée stérile suivi d'un séchage pour être déposés dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA (composition voir annexe) et incubés à une température de 25°C pendant 3 jours (Rapilly, 1968).

Plusieurs repiquages ont été effectués pour purifier les isolats à étudier. Cela consiste à prélever des explants de *Rhizoctonia solani* et de les repiquer sur milieu PDA. L'incubation s'est faite à une température de 25°C pendant 3 jours.

2.3.2 Identification des groupes d'isolats phytopathogènes

Un test de confrontation directe entre les différents isolats pathogènes âgés de 3 jours a été réalisé. Il consiste, d'après Anguiz et Martin, (1989) à définir le classement des groupes des isolats obtenus dans notre étude (Figure 10).

En effet, les explants de chaque isolat sont déposés à une distance de 5 cm l'un de l'autre dans une même boîte de Pétri contenant le milieu PDA, selon différentes combinaisons (Anguiz et Martin, 1989). Le témoin était constitué de deux explants du même isolat phytopathogène déposés à équidistance l'un de l'autre sur le même milieu et mis à incuber à 25°C pendant 15 jours. 4 répétitions ont été prises en considération pour chaque combinaison.

La lecture repose sur l'apparition ou l'absence d'un trait d'interconnexion où les deux colonies confrontées confluent. Ainsi, la présence du trait confirme la distinction entre les isolats phytopathogènes étudiés (Anguiz et Martin, 1989).

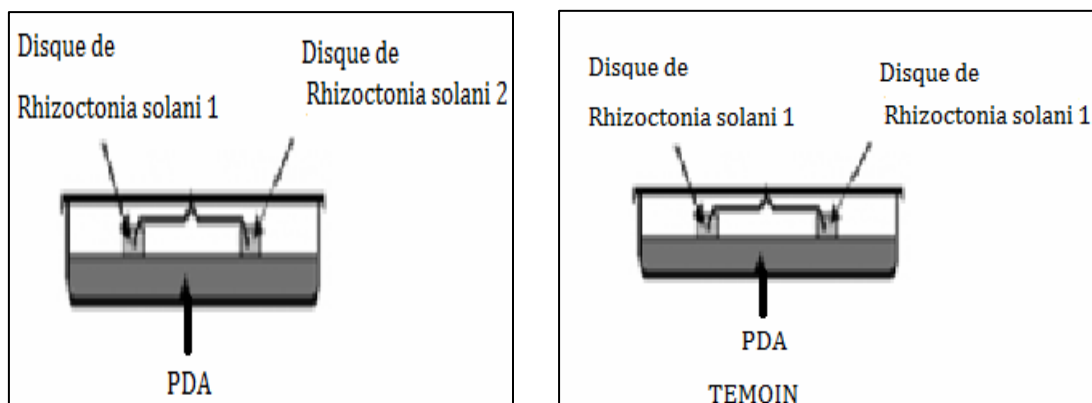


Figure 10. Test de confrontation directe entre les isolats de *Rhizoctonia solani* et le témoin

2.3.3 Caractérisation des isolats phytopathogènes

Les isolats de *Rhizoctonia solani* ainsi obtenus ont été soumis à plusieurs tests nécessaires pour leur caractérisation et leur identification, à savoir l'aspect cultural de chaque isolat, la détermination de la croissance mycélienne à différentes températures et dans différents milieux de culture, ainsi que la fréquence de production de sclérotés après un mois d'incubation pour chaque paramètre étudié.

Pour l'aspect cultural, des disques de 5 mm de diamètre ont été prélevés à partir des cultures purifiées de chaque isolat de *Rhizoctonia solani* âgés de 3 jours à l'aide d'une pipette pasteur de 5mm de diamètre, puis déposés au centre des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA et mis à incuber à 22°C à l'obscurité. 4 répétitions ont été prises en considération (Bouneghou, 2010). Il a porté sur la pigmentation et l'aspect macroscopique du thalle de chaque culture d'isolat (Bouneghou, 2010).

Quand au test des températures, comme le décrivent Anguiz et Martin, (1989) et Rashad et al, (2012), il consiste à placer des disques de 5 mm de diamètres prélevés à partir des cultures purifiées des 4 isolats de *Rhizoctonia solani* âgés de 3 jours, puis déposés au centre des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA et mis à incuber à différentes températures, 15, 25 et 30°C, à l'obscurité. 4 répétitions ont été prises en considération pour chaque isolat.

En effet, la croissance mycélienne a été estimée quotidiennement en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de culture, durant 6 jours afin de déterminer la température idéale pour la croissance mycélienne des *Rhizoctonia* étudiés. Elle a été mesurée durant 3 jours.

Par ailleurs, comme l'a décrit Bouneghou (2011) sur d'autres champignons du sol, la vitesse de croissance mycélienne a été étudiée sur 3 milieux de culture retenus pour ce test, reconnus comme étant idéals pour la croissance des champignons du sol : Sabouraud, PDA et Extrait de Malt Agar.

En effet, des explants purifiés des *Rhizoctonia solani* de 5 mm de diamètres sont déposés au centre des boîtes de Pétri contenant respectivement du milieu PDA, Extrait de Malt Agar et Sabouraud et mis à incuber à 25°C, à l'obscurité pendant 6 jours. 5 répétitions ont été prises en considération pour chaque milieu et la croissance mycélienne a été calculée durant 6 jours suivant la méthode précédemment citée.

La production des sclérotés par les isolats de *Rhizoctonia solani* a été aussi déterminée à différentes températures et sur les 3 milieux de culture étudiés, après un mois, selon l'échelle arbitraire dite «échelle de la fréquence et de l'abondance des sclérotés», établie de 1 à 5 et rapportée par la revue A.A, (2001).

- L'indice 1 représente 10% à 30% de présence de sclérotés,
- L'indice 2 représente de 30% à 65% de présence de sclérotés,
- L'indice 3 représente de 65 à 80% de présence de sclérotés,
- L'indice 4 représente un pourcentage de présence de sclérotés de 80 à 85%,
- L'indice 5 représente une présence de sclérotés compris entre 85 et 100%.

2.3.4 Activité antagoniste des isolats algériens de *Trichoderma* spp.

2.3.4.1 Introduction

L'activité antagoniste *in vitro* a été étudiée selon les isolats antagonistes par la technique de confrontation directe et selon leurs filtrats de cultures. Pour les 2 techniques, les taux d'inhibition de la croissance mycélienne, de la production et de la germination des sclérotés des isolats de *Rhizoctonia solani* ont été calculés.

2.3.4.2 Technique de confrontation directe

Cette technique est réalisée selon la méthode de Patel et Brown (1969). Elle consiste à placer dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA deux disques mycéliens de 5 mm de diamètre, l'un correspondant à *Trichoderma* spp. et l'autre à *Rhizoctonia solani*. Ces derniers sont placés suivant un axe diamétral à 3cm et à équidistance du centre de la boîte (Figure 11). Pour chaque isolat phytopathogène et antagoniste, 5 répétitions ont été prises en considération. Pour le témoin, l'explant du phytopathogène a été déposé au centre de la boîte. L'incubation est réalisée à 25°C et à l'obscurité pendant trois jours.

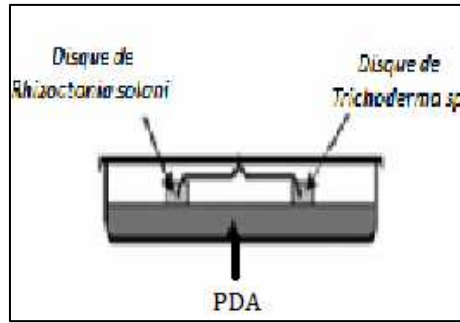


Figure11. Technique de confrontation directe de *Rhizoctonia solani* et de *Trichoderma* spp.

2.3.4.3 Technique de contact direct aux filtrats des cultures

2.3.4.3.1 Préparation des filtrats de cultures des isolats antagonistes

Deux types de filtrats sont utilisés : Un filtrat du milieu des isolats antagonistes et un filtrat de culture pure d'antagoniste. Ainsi, des disques mycéliens purs des isolats de *Trichoderma* spp. ont été repiqués séparément dans un milieu PDA liquide pendant 15 jours en agitation permanente à 25°C à l'abri de la lumière. Les filtrats des milieux des isolats des *Trichoderma* spp. ont été récupérés par filtration sur papier Wattman N°1 de 90 mm de diamètre, puis centrifugés à 10 000 rpm, selon la méthode modifiée d'Anith (1997), pour le filtrat de culture. le surnageant a été récupéré, puis filtré grâce à un filtre à seringue Wattman de 0,45 µm de porosité. Ainsi, un volume de 4 ml de chaque filtrat de milieu des isolats antagonistes a été versé dans les boîtes de Pétri, puis le milieu PDA en surfusion a été coulé. Une légère agitation a été suivie pour une bonne homogénéisation. Les explants des 4 isolats de *Rhizoctonia solani* étudiés ont été mis dans les boîtes de Pétri ainsi préparées. Pour les témoins, les isolats phytopathogènes ont été repiqués sur milieu PDA. L'incubation a été réalisée à l'obscurité à 25°C où 3 répétitions ont été prises en considération.

2.3.4.4 Inhibition de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été déterminée quotidiennement durant 3 jours par la mesure de 2 diamètres perpendiculaires de la colonie de l'agent phytopathogène et celle des isolats témoins (Rapilly, 1968 ; Prescott, 1995 ; Madigan et al., 1997).

Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani* ont été calculés selon la formule ci-dessous décrite par Sy (1976) et Whipps (1997) :

$$IC (\%) = \frac{DT - DPA}{DT} \times 100$$

DT : croissance diamétrale du témoin

DPA : croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste.

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

2.3.4.5 Inhibition de la production des sclérotés

Le dénombrement des sclérotés produits pour chaque isolat de *R.solani* et pour chaque technique s'est fait après 15 jours d'incubation selon l'échelle de la fréquence d'abondance des sclérotés établie et citée précédemment (page 36) (Alto Agri, 2001).

2.3.4.6 Inhibition de la germination des sclérotés

Cette étude a nécessité la collecte des sclérotés à partir des cultures des isolats de *Rhizoctonia solani* incubées à 25°C et âgées d'un mois et leur pré-stérilisation dans une solution à l'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 5 minutes suivie par plusieurs rinçages à l'eau distillée stérile puis séchage.

Deux méthodes ont été retenues pour cette étude : La technique de contact avec les cultures des isolats antagonistes, d'une part et celle du contact direct avec les filtrats de leur culture, d'autre part.

La première technique consiste en la mise en contact des sclérotés collectés et stérilisés avec les cultures des isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. âgées de 72 heures. Ce contact a duré 48 heures, à 25°C et à l'obscurité avec 5 répétitions pour chaque isolat de *R.solani*. Pour les témoins, les sclérotés ont été placés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA dans les mêmes conditions d'incubation précédentes (Demirci et al, 2009).

La seconde consiste à mettre en contact direct les sclérotés collectés et stérilisés des isolats étudiés de *Rhizoctonia solani* avec le milieu PDA renfermant le filtrat de culture des isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. préalablement préparé.

Les sclérotés des isolats de *Rhizoctonia solani* à étudier ont été placés dans les boîtes de Pétri ainsi préparées. Pour les témoins, les sclérotés ont été déposés sur milieu PDA. L'incubation a été réalisée à l'obscurité à 25°C où avec 4 répétitions.

La lecture de la germination des sclérotés a été faite au bout de 72 heures et a porté sur la reprise ou l'inhibition de leur croissance mycélienne.

Les taux d'inhibition de la germination des sclérotés ont été déterminés pour chaque isolat phytopathogène confronté aux isolats antagonistes selon la formule décrite par Sy, (1976) et Whipps (1997):

$$IC (\%) = \frac{DT - DPA}{DT} \times 100$$

DT : croissance diamétrale du témoin qui est un sclérote sur milieu PDA

DPA : croissance diamétrale mycélienne du pathogène, c'est-à-dire sclérote de *R. solani* en présence de l'antagoniste.

IC (%) : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne des sclérotés de *R. solani*

2.4 Evénements structuraux du mycoparasitisme

Le comportement mycoparasitaire des antagonistes fongiques a été mis en évidence grâce à la technique décrite par Camporota (1985).

Ainsi, les isolats de *Rhizoctonia solani* après confrontation directe aux isolats de *Trichoderma* spp. ou/et mis en contact direct avec les filtrats de leurs milieux ont fait l'objet d'observations microscopiques dans le but de connaître les conséquences du mycoparasitisme sur les modifications morphologiques des isolats de *Rhizoctonia solani*.

Cette étude a nécessité des préparations microscopiques qui consistent à prélever dans la zone de contact entre les deux isolats confrontés un fragment mycélien de l'agent phytopathogène et à le mettre entre lame et lamelle en présence d'une goutte d'eau distillée stérile pour des observations à l'aide du microscope optique aux grossissements (X125) et (X500).

2.5 Etude de la survie de *Rhizoctonia solani*

Pour confirmer l'effet fongistatique ou fongicide des isolats antagonistes et de leurs filtrats de cultures, notre étude s'est basée sur la technique modifiée de Mahanta et *al.* (2007) qui repose sur la reprise ou non de la croissance mycélienne des isolats de *Rhizoctonia solani* préalablement inhibés par confrontation directe aux isolats antagonistes du genre *Trichoderma* et par contact direct avec les filtrats des cultures de ces *Trichoderma* spp.

Pour cela, les isolats de *Rhizoctonia solani* ayant subi une inhibition de leur croissance mycélienne suite à l'antagonisme des isolats de *Trichoderma* spp. ont été transplantés par repiquage sur milieu PDA, à raison de 4 explants de 5 mm de diamètre par boîte de Pétri (Figure 12). L'incubation des boîtes s'est faite à 25°C et à l'obscurité.

La reprise ou l'inhibition de la croissance mycélienne ont été suivies pendant 7 jours (Hibar et al, 2005).

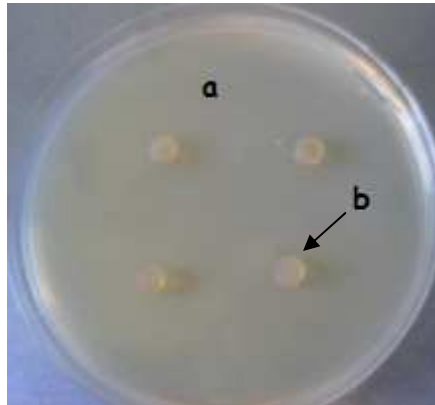


Figure12. Technique d'étude de la survie *in vitro* de *Rhizoctonia solani*

a: PDA **b:** Explants de *Rhizoctonia solani* préalablement inhibés par les isolats de *Trichoderma* spp

2.6 Analyse statistique

La caractérisation des isolats de *Rhizoctonia solani* s'est basée sur la croissance mycélienne et la production des sclérotés à différentes températures et dans différents milieux de culture. Les répétitions ont été résumées par le calcul de la moyenne dans l'Excel.

L'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. s'est basée sur la détermination des taux d'inhibition de la croissance mycélienne, la production des sclérotés et de leur germination après leur confrontation directe aux isolats phytopathogènes. Les répétitions ont été résumées par le calcul de la moyenne dans l'Excel, puis le calcul du pourcentage d'inhibition selon les formules précitées.

Afin de vérifier une éventuelle efficacité des antagonistes fongiques testés pour la comparaison entre les souches de *Trichoderma* spp. et les isolats phytopathogènes de

Rhizoctonia solani, le logiciel SYSTAT, version.12, considérées significatives à P inférieure ou égale à 0,05 (Philippeau, 1989, a été utilisé.

Les corrélations existantes entre les différents traitements, ainsi que les isolats fongiques testés ont été mises en évidence par une analyse en composantes principales (ACP). L'interprétation de l'ACP a été faite à partir de l'examen du cercle de corrélation et de la position du statut des variables sur les axes factoriels (Philippeau, 1989).

3 Résultats et discussion

3.1 Résultats

3.1.1 Isolement et purification

L'isolement effectué à partir de sclérotés prélevés des tubercules de pomme de terre issus de 4 sites de vente différents (marchés de légumes) suivi par leur purification a révélé, plusieurs isolats de *Rhizoctonia solani*.

3.1.2 Identification des groupes d'isolats phytopathogènes

Les confrontations directes effectuées entre les différents isolats de *R.solani* selon plusieurs combinaisons de confrontations directes ont révélé l'existence de 04 groupes de *Rhizoctonia solani* només R1, R2, R3 et R4 distincts grâce à la présence d'une zone franche de séparation par rapport au témoin (figure 13).

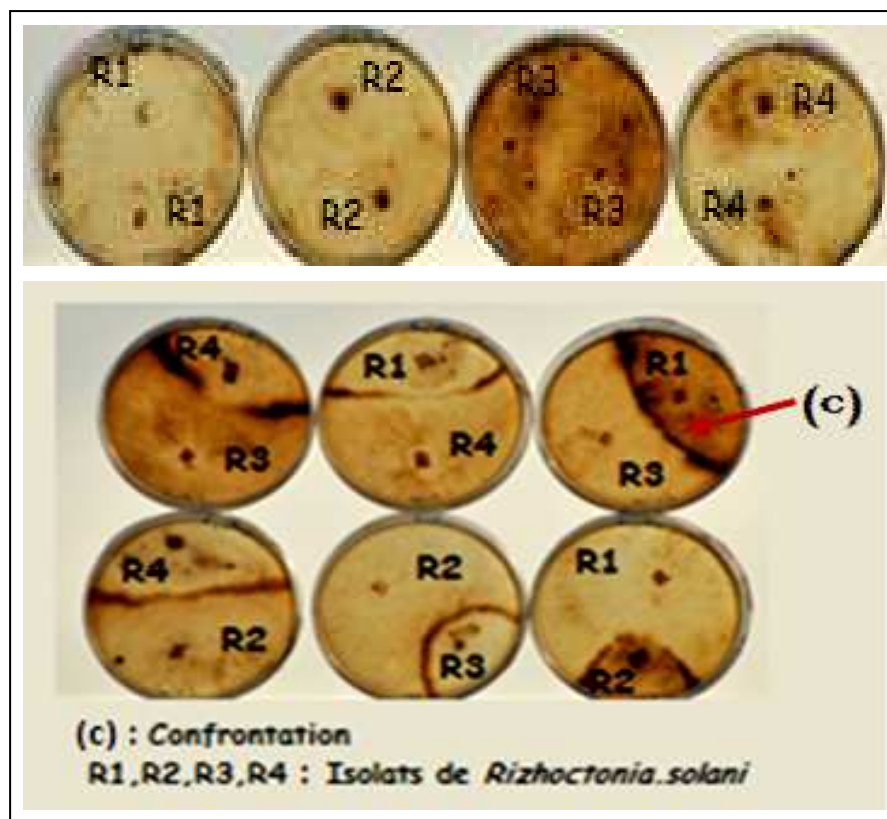


Figure 13. Confrontation directe des isolats de *Rhizoctonia solani*

3.1.3 Caractérisation des isolats de *Rhizoctonia solani*

La caractérisation culturelle des 04 isolats a été basée sur la couleur, la texture du thalle et la croissance mycélienne à différentes températures et sur différents milieux ainsi que la production des organes de conservation pour ces paramètres.

La description culturelle de l'isolat R1 a révélé une colonie à croissance radiale, subaérienne de couleur brun claire et translucide. R2 a présenté une culture étoilée, cotonneuse et de couleur blanchâtre. La colonie de R3 est à croissance radiale, d'aspect rasant et de couleur jaunâtre translucide. La culture de R4 a présenté un aspect cotonneux et arachnoïde (Figure 14).

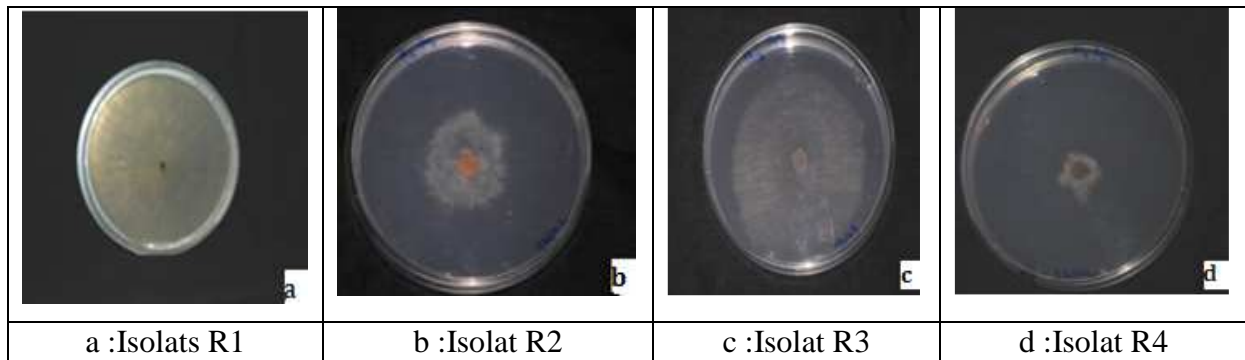


Figure 14. Variabilité culturelle des isolats de *Rhizoctonia solani*

L'analyse de la variance de la croissance mycélienne a montré une différence hautement significative entre les isolats, l'ensemble des températures et des milieux considérés pour notre étude (Tableau 4).

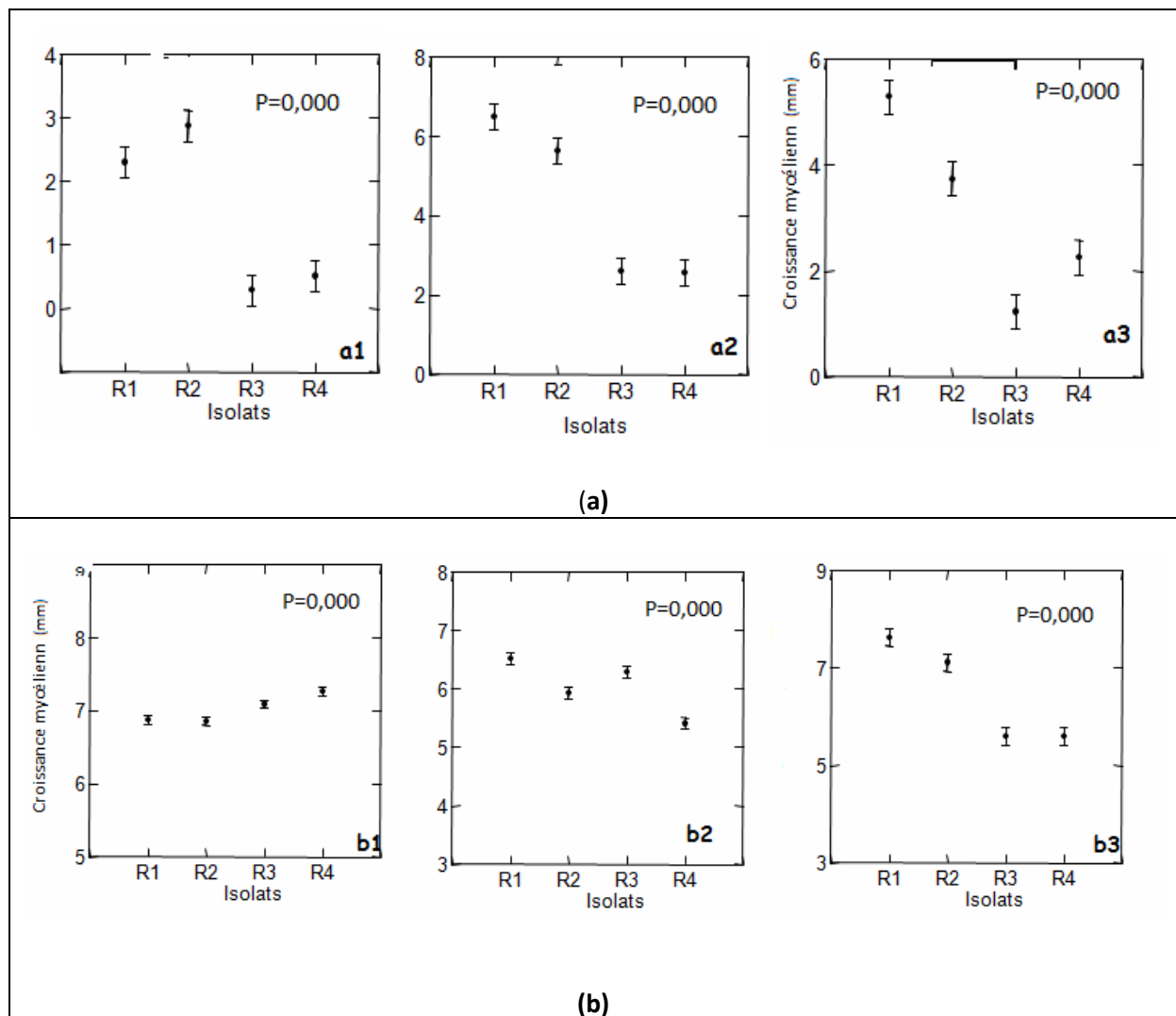
Tableau 4. Analyse de la variance de la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani* selon les températures et les milieux de cultures.

Facteurs	Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Températures	15°C	49.948	3	16.649	27.873	0.000
	25°C	124.250	3	41.417	39.083	0.000
	30°C	94.349	3	31.450	30.100	0.000
Milieux	Malt	2.795	3	0.932	11.356	0.000
	Sabouraud	17.534	3	5.845	22.745	0.000
	PDA	79.879	3	26.626	33.318	0.000

En mode GLM, une variabilité de la croissance mycélienne a été enregistrée pour les isolats de *Rhizoctonia solani* selon les températures et les milieux de culture (Figure 15).

25°C est la température optimale de croissance comprise entre 28 et 68 mm pour l'ensemble des isolats. La plus faible correspond aux isolats R3 et R4 (Figure 15a2).

D'autre part, le milieu PDA est le plus approprié pour la croissance mycélienne des isolats phytopathogènes étudiés. R1 a montré la plus importante croissance avoisinant 77mm, alors que les isolats R3 et R4 ont montré la plus faible croissance de 57mm (Figure 15b3).



-a1, a2, a3 : Selon les températures 15, 25, 30°C
 -b1, b2, b3 : Selon les milieux Malt, Sabouraud, PDA

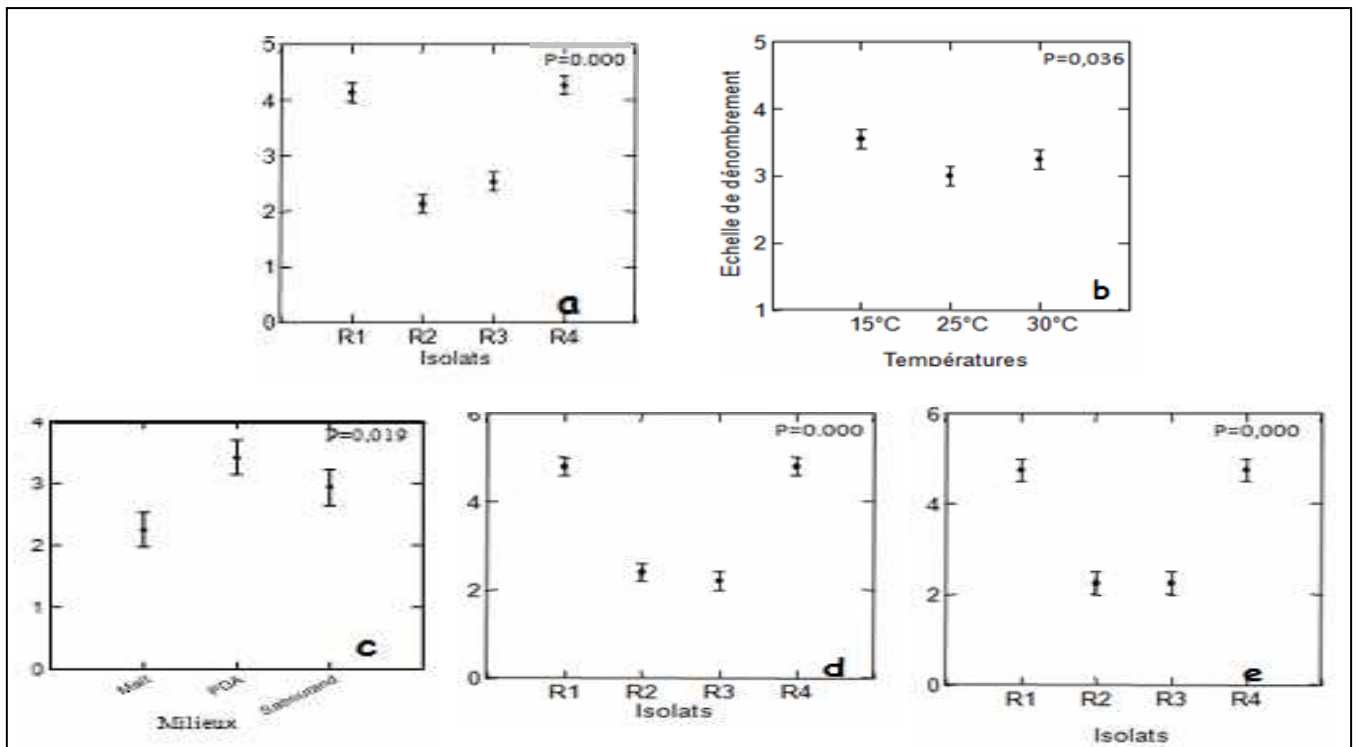
Figure 15. Analyse de la variance en GLM de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani*.

- L'analyse de la variance de la production des sclérotés a montré une différence hautement significative entre les isolats de *R.solani* et significative entre les températures et les milieux de culture.

Tableau 5. Analyse de la variance de la fréquence de production des sclérotés selon les isolats de *Rhizoctonia solani*, les températures et les milieux.

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Isolats	53.600	3	17.867	41.766	0.000
Températures	3.033	2	1.517	3.545	0.036
Milieux	11,199	2	5,600	4,341	0.019

Les isolats R1 et R4 ont montré la plus importante production de sclérotés (Figure 16a). 15°C est la température idéale (Figure 16b) et le milieu PDA est le plus approprié pour la production des sclérotés (Figure 16c). Les isolats R1 et R4 ont révélé la plus importante production de sclérotés avoisinant 90% à 15°C et pour le milieu PDA (Figure 16d, 16e).



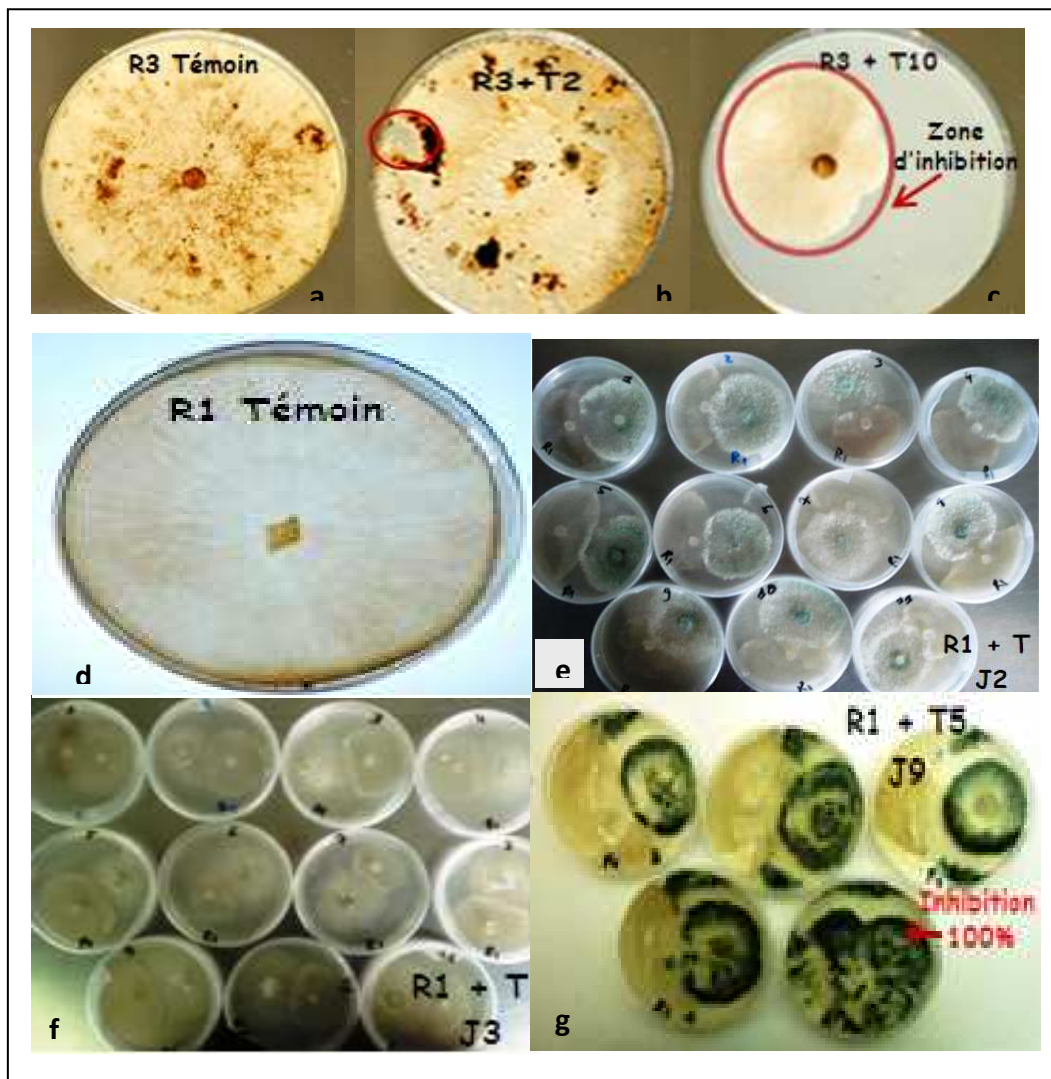
- a : Selon les isolats
- b : Selon les températures
- c : Selon les milieux
- d : des isolats selon la température 15°C.
- e : des isolats selon le milieu PDA.

Figure 16 Analyse de la variance en GLM de la fréquence de production de sclérotés des isolats de *R.solani*

3.1.4 Activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*.

3.1.4.1 Inhibition de la croissance mycélienne

Une variabilité dans l'inhibition de la croissance mycélienne a été remarquable pour les 4 isolats de *R.solani* confrontés directement aux isolats de *Trichoderma* spp. ou / et mis en contact direct avec les filtrats de leur cultures. Les taux d'inhibition enregistrés selon la méthode de confrontation directe n'ont atteint les 100% qu'après 10 à 15 jours d'incubation.



a : Isolat R3 témoin

b : Isolat R3 au contact filtrat T2

c : Isolat R3 au contact filtrat T10

d : Isolat R1témoin

e : Isolat R1 confronté aux antagonistes au 2^{ème} jour

f : Isolat R1 confronté aux antagonistes au 3^{ème} jour

g : Isolat R1 confronté aux antagonistes au 9^{ème} jour

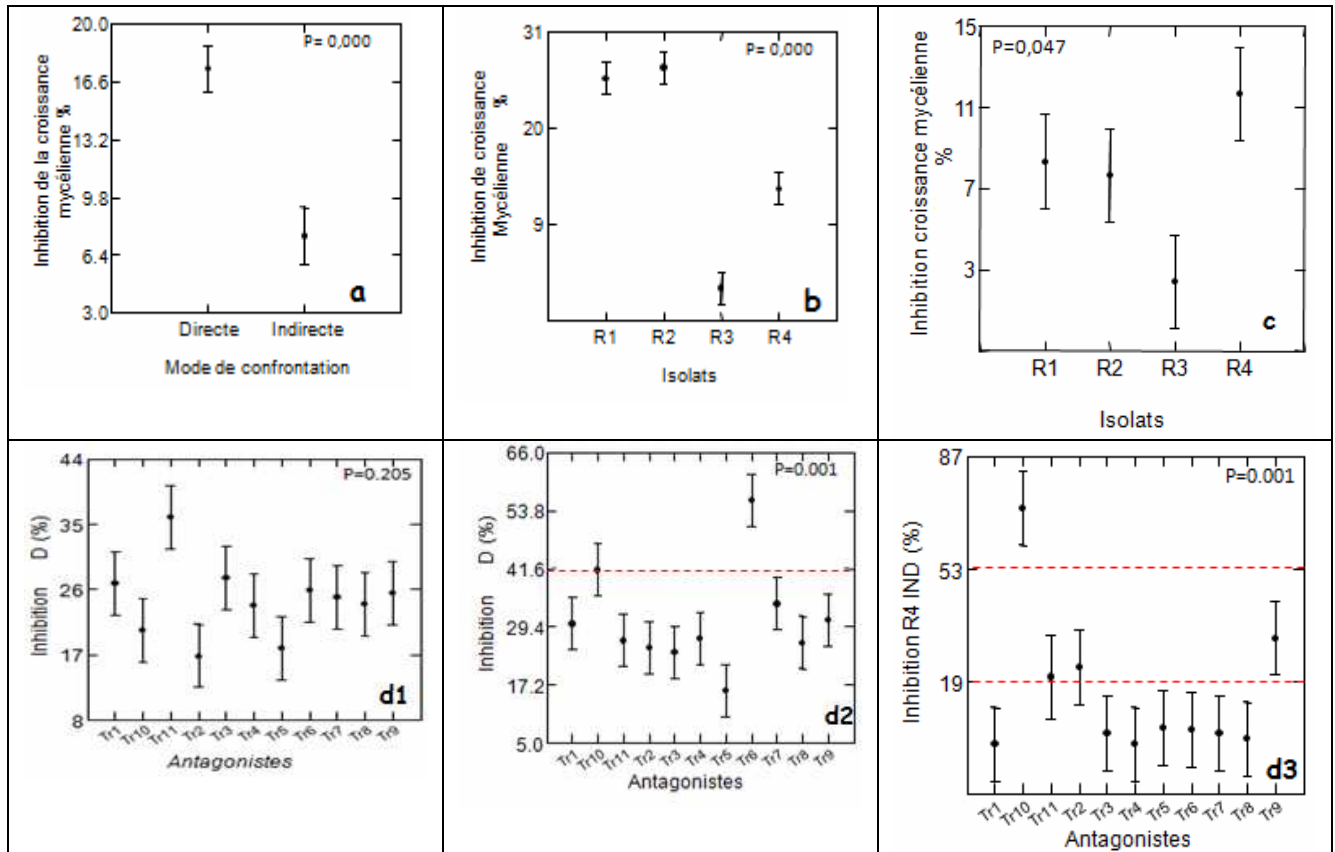
Figure 17. Inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani* selon leur contact direct aux filtrats des milieux et la confrontation directe avec les isolats de *Trichoderma* spp.

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne a montré une différence hautement significative entre les méthodes d'étude et les isolats de *R.solani* selon la confrontation directe. De même, une différence significative a été relevée entre les isolats de *R.solani* selon les filtrats de milieux des isolats antagonistes (Tableau 6)

Tableau 6 : Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne selon les 4 isolats de *Rhizoctonia solani* et selon les méthodes d'étude.

Facteurs	Somme des carrés	d.d.	Carrés moyens	F-ratio	P
Méthodes d'étude	7969.488	1	7969.488	20.860	0.000
Isolats de <i>R.solani</i> (directe)	46480,398	3	15493,466	45,663	0.000
Isolats de <i>R.solani</i> (Filtrats)	1453.129	3	484.376	2.729	0.047

En GLM, l'inhibition de la croissance mycélienne a été plus importante en confrontation directe qu'avec les filtrats des milieux de cultures des antagonistes (Figure 18a) mais les taux d'inhibition enregistrés restent toujours faibles n'atteignant pas 50% (Figure 18a, 18b et 18c). Cependant, les isolats R1 et R2 ont montré les plus importants taux d'inhibition (Figure 18c) En effet, l'isolat antagonistes T11 a révélé le plus important pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne de R1 et R2 mais l'inhibition de R2 était plus importante dépassant les 50% (Figure 18d1,18d2). Toutefois, concernant les filtrats des milieux de cultures des antagonistes, c'est l'isolat T10 qui a montré une inhibition importante de la croissance mycélienne de l'isolat R4 dépassant les 60% (Figure 18d3).



- a :** Selon les modes les methodes de confrontation directe et filtrats de cultures.
- b :** Selon les isolats de *R.solani* (confrontation directe).
- c :** Selon les isolats de *R solani* (filtrats de cultures).
- d 1, d2 :** Selon les antagonistes (confrontation directe).
- d 3 :** Selon les filtrats de cultures des antagonistes.

Figure 18. Analyse de la variance en GLM des taux d’inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *Rhizoctonia solani*.

- L’étude des corrélations a été réalisée selon deux axes. L’axe1 de l’AFC représenté par la catégorie de données présentant de fortes contributions de 44,02% d’informations alors que l’axe 2 totalise une contribution de 25,31%.

Une analyse en composante principale de l’inhibition de la croissance mycélienne a été effectuée sur les onze isolats antagonistes du genre *Trichoderma*, les quatre isolats de *Rhizoctonia solani* et les deux méthodes d’étude : confrontation directe et méthode de contact direct avec les filtrats des milieux de culture des antagonistes.

En effet, les calculs de la distance euclidienne ont fait ressortir 3 groupes (Figure 19b). Chaque groupe renferme les pourcentages d’inhibition par rapport aux antagonistes et aux modes de confrontation. Le groupe 1 correspond à l’antagonisme par confrontation directe des

isolats de *Trichoderma* T10 et T2 qui est fortement corrélé avec R3. Le groupe 2 concerne les traitements en confrontation directe de T1, T11, T4, T9, T7, T5, T3 et T6 qui sont corrélés positivement avec les isolats R1 et R2 et T8 en mode de contact direct aux filtrats des milieux qui est corrélé positivement avec l'isolat R4 alors que, le 3^{ème} groupe est sans aucune corrélation avec les isolats de *R.solani* (Figure 19b).

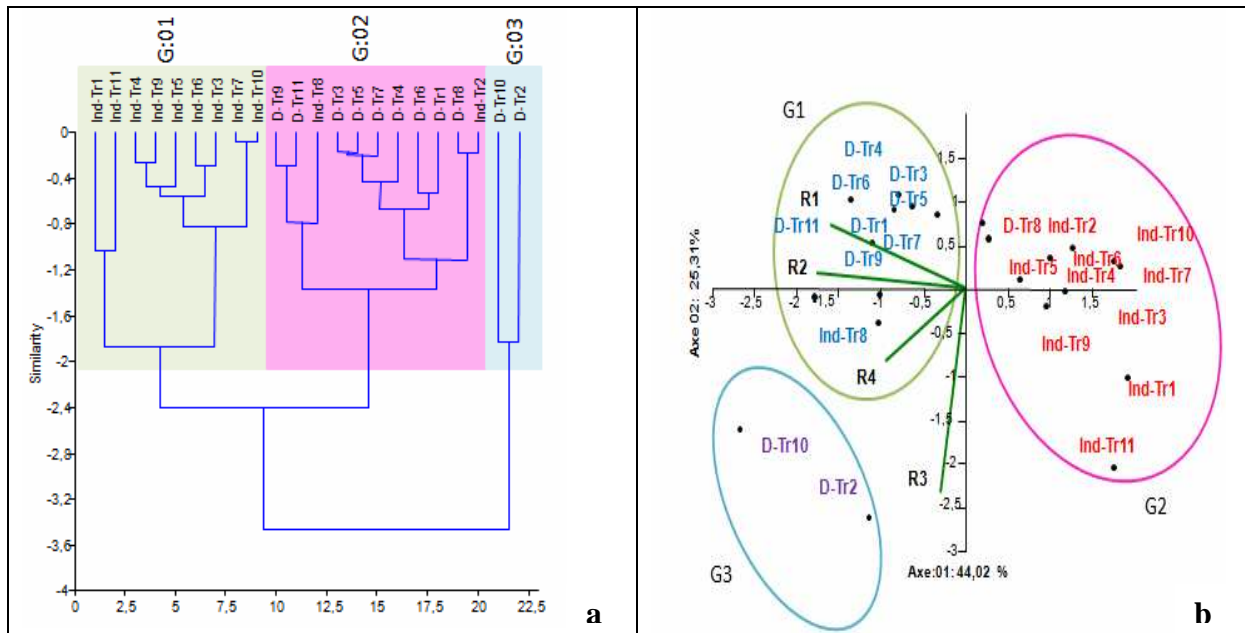


Figure19. Classification hiérarchique des isolats antagonistes(a) et Analyse en composante principale (ACP) de l'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani* (b) selon les deux méthodes d'étude.

3.1.4.2 Inhibition de la production des sclérotés

La production de sclérotés selon le mode de confrontation directe s'est avérée nulle.

Au bout de 3 à 4 jours d'incubation, les sclérotés ont été envahis et détruits par les isolats de *Trichoderma* spp.

En ce qui concerne le contact direct aux filtrats des cultures, la production de sclérotés a été variable selon les isolats phytopathogènes et les filtrats des milieux de cultures des isolats antagonistes.

En effet, l'analyse de la variance de la production des sclérotés par les isolats de *R.solani* a montré une différence hautement significative pour cette méthode (Tableau 7).

Tableau 7. Analyse de la variance de la production de sclérotes selon les isolats de *Rhizoctonia solani* selon le contact direct des filtrats des isolats de *Trichoderma* spp.

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Isolats	63.632	3	21.211	12.007	0.000

Le plus important taux de production a été enregistré pour l'isolat R1 où l'échelle de dénombrement avoisinait 3 et par degré moindre respectivement R4, R2 et R3. Ainsi, l'inhibition de la production de sclérotes a été plus importante pour R2 et R3 où les taux enregistrés ont dépassé légèrement l'échelle 1 (Figure 20).

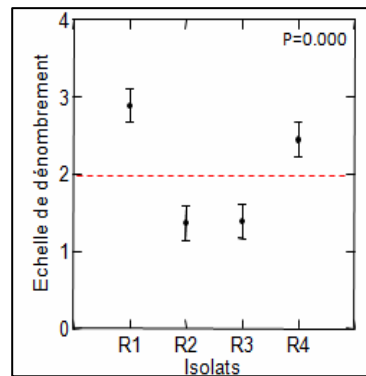


Figure 20. Analyse de la variance en GLM de la production de sclérotes par les isolats de *Rhizoctonia solani* après contact direct aux filtrats des isolats de *Trichoderma* spp.

Par ailleurs, l'analyse de la variance des taux de production des sclérotes a montré une différence hautement significative entre les filtrats des cultures des isolats antagonistes vis-à-vis des isolats de *R.solani* (Tableau 8).

Tableau 8. Analyse de la variance de la production de sclérotes selon les isolats de *Rhizoctonia solani* et selon les isolats antagonistes après contact direct avec les filtrats de des antagonistes.

Isolats	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
R1	46.222	11	4.202	6.577	0.000
R2	37.639	11	3.422	4.927	0.001
R3	34.556	11	3.141	12.566	0.000
R4	64.222	11	5.838	5.255	0.000

Aussi, le plus important pouvoir inhibiteurs de la production des sclérotés a été enregistré pour les isolats antagonistes TR2, TR4, TR10, TR3 et TR5 respectivement vis-à-vis de R1, R2, R3 et R4 (Figure 21).

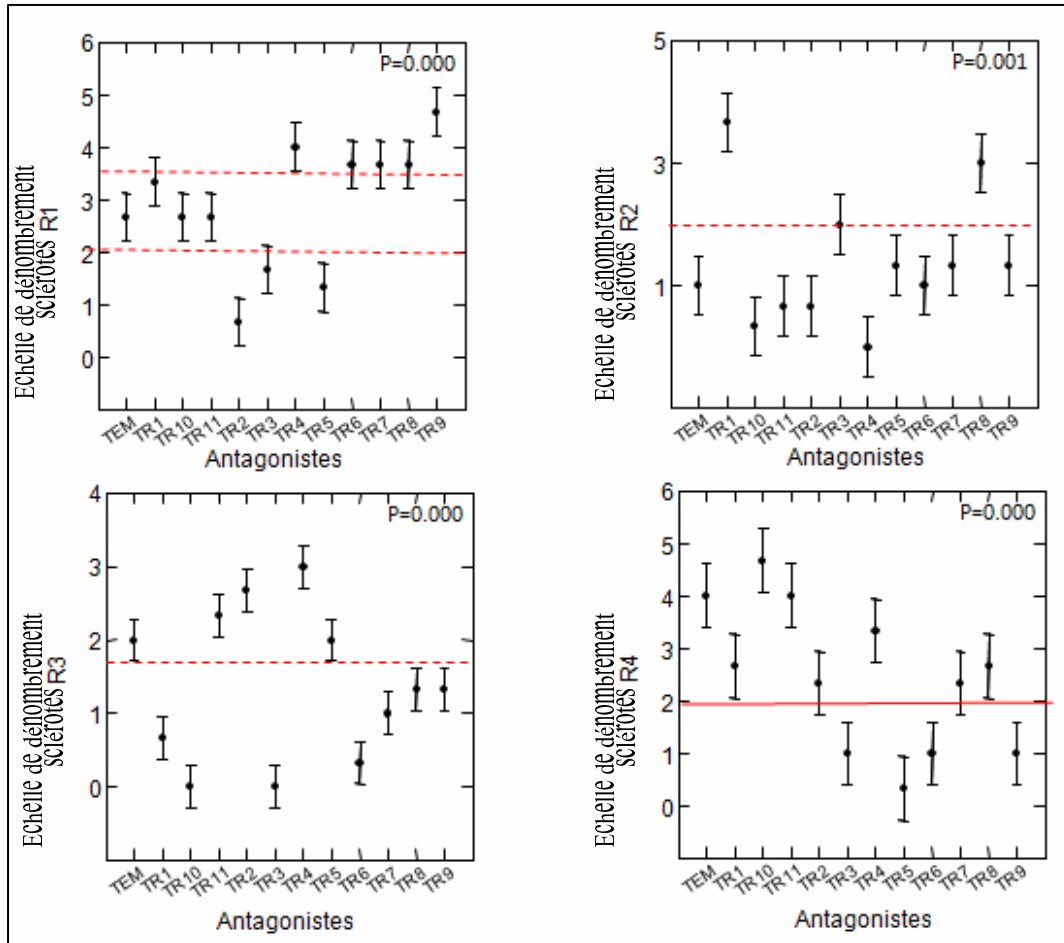


Figure 21 Analyse de la variance en GLM de la production de sclérotés par les isolats de *Rhizoctonia solani* les filtrats des isolats antagonistes.

3.1.4.3 Inhibition de la germination

La germination des sclérotés issus des 4 isolats de *R.solani* confrontés directement aux isolats de *Trichoderma* spp. était nulle. En effet après seulement 3 à 4 jours d'incubation, les sclérotés ont été envahis par les *Trichoderma* à 100%, détruisant tous les isolats phytopathogènes. Aussi, leur repiquage sur milieu PDA n'a pas permis leur mise en évidence mais juste des cultures pures d'isolats antagonistes (Figure 22)

Confrontés aux filtrats des isolats antagonistes, la germination des sclérotés a été fortement inhibée avoisinant les 90% d'inhibition.

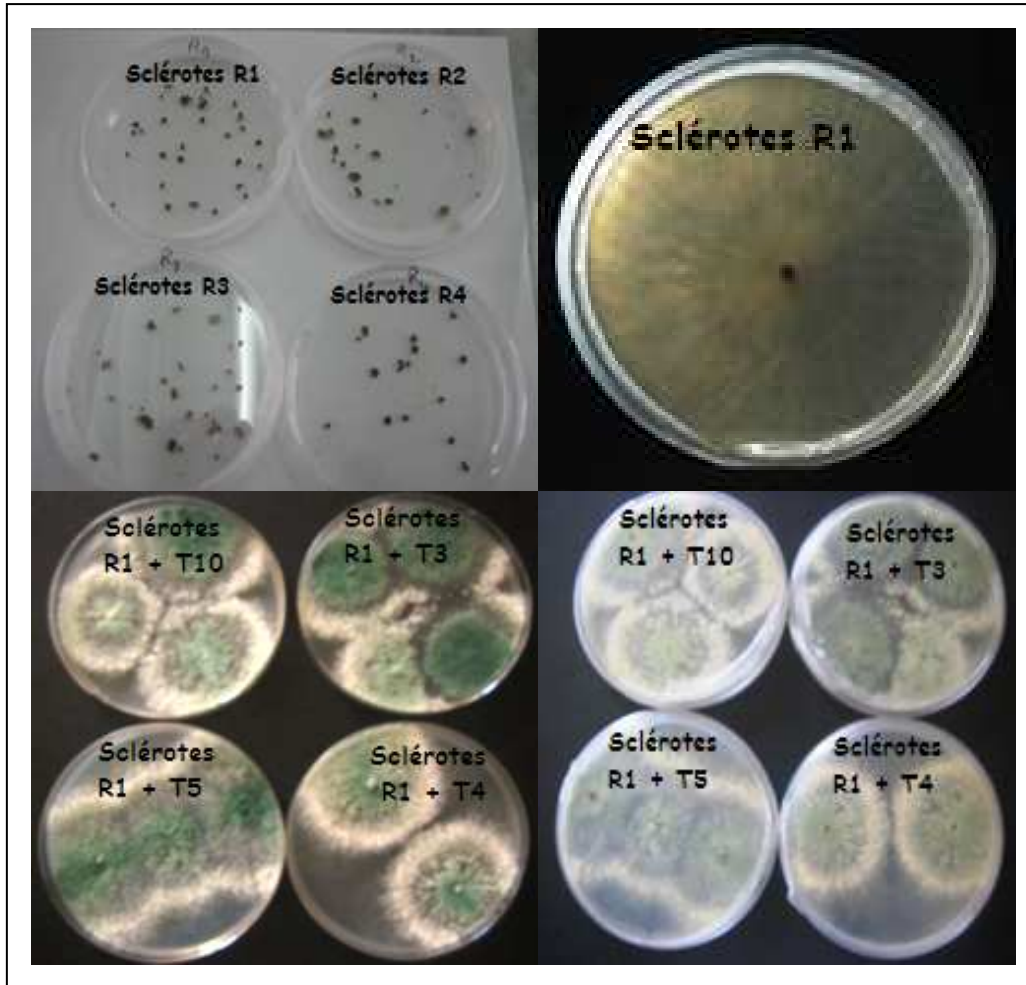


Figure 22. Confrontation directe des sclérotés issus des isolats de *R.solani* aux isolats de *Trichoderma* spp.

Cependant, l'analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des sclérotés ont montré des différences non significatives entre les isolats de *R.solani* selon les filtrats des cultures des isolats antagonistes (Tableau 18).

Tableau 9. Analyse de la variance des taux d'inhibition de la germination des sclérotés de *R.solani* après contact direct avec les filtrats des isolats de *Trichoderma* spp.

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Isolats	2003,318	3	667,773	0,904	0.441

En effet, l'inhibition était très importante atteignant et/ou dépassant les 90% pour l'ensemble des isolats phytopathogènes (Figure 23)

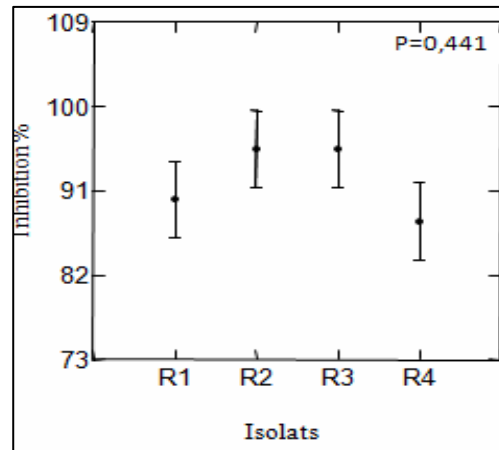


Figure 23. Analyse de la variance en GLM des taux de l'inhibition de la germination des sclérotés de *R.solani* selon les filtrats de cultures des isolats antagonistes.

3.1.5 Événements structuraux du mycoparasitisme

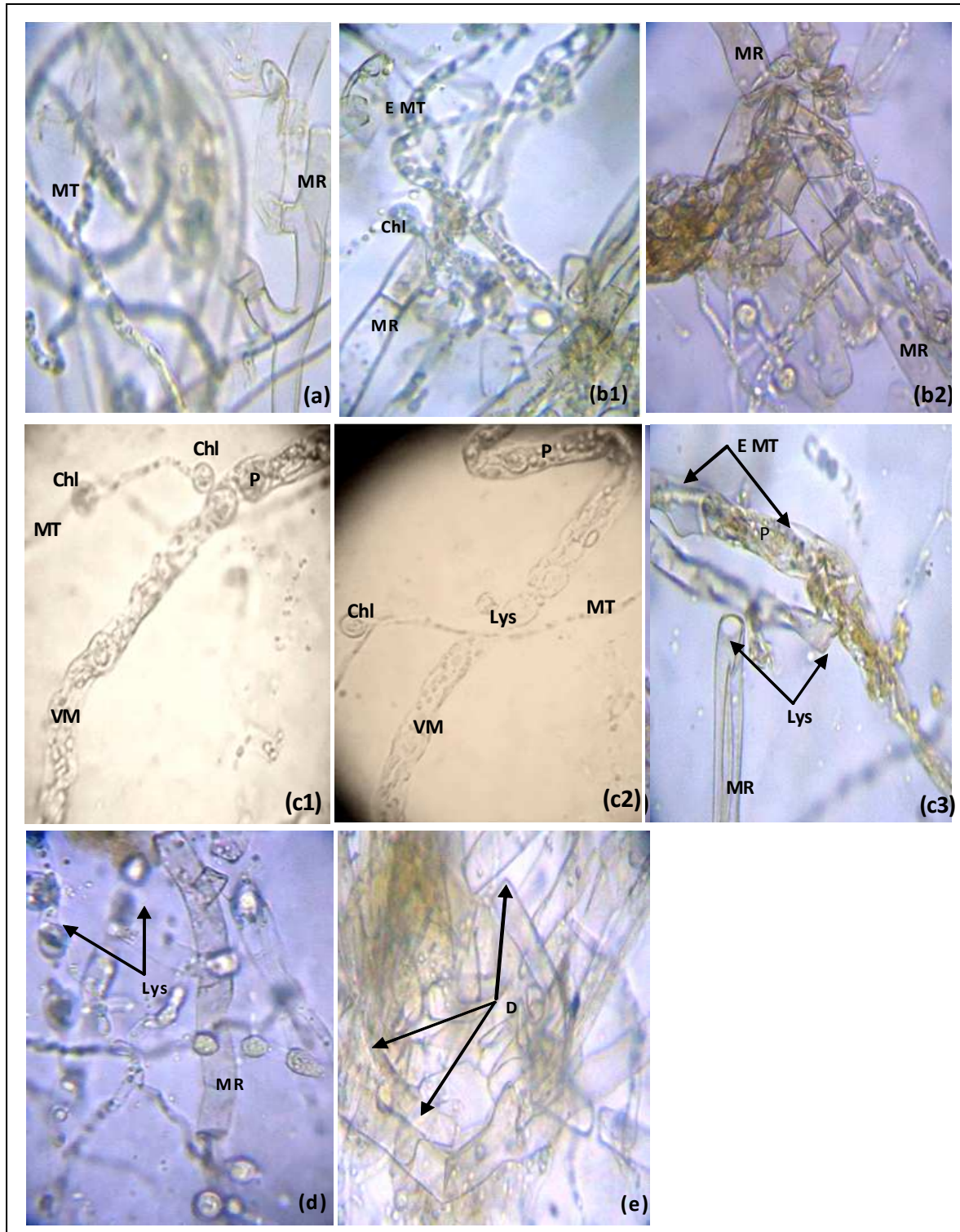
Des modifications structurales ont affecté la morphologie des isolats de *R.solani* (Figure 24) sous l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp.

Les isolats antagonistes ont produit intensivement des chlamydospores, leur mycélium était très riches en vésicules (Figures 24a, 24b1, 24c1, 24c2) ce qui confirme leur importante activité de synthèse.

Certaines chlamydospores ont présenté un apex en début de germination qui se fixe au mycélium des isolats de *R.solani* (Figure 24 b1) et développent des mycéliums très actifs, pour y produire un grand nombre de chlamydospores et des hyphes à l'intérieur de l'agent phytopathogène (Figures 24c1, 24c2, 24c3), créant une pression importante responsable de la lyse et de l'éclatement des membranes mycéliennes de ce dernier. Ce qui se traduit par un mycélium fragmenté (Figures 24c2, 24c3, 24d, 24e). L'activité enzymatique antagoniste entraîne la digestion du contenu mycélien suite à l'enroulement du mycélium des *Trichoderma* spp. autour de celui de l'agent pathogène (Figures 24b1, 24b2, 24c3) qui par diffusion de substances devient vide et hyalin (Figures 24a, 24c3, 24e).

Au début de l'antagonisme, la croissance mycélienne des *Trichoderma* et celle des *Rhizoctonia solani* étaient très proches avec toutefois une légère inhibition. Mais, au bout de 7 à 10 jours, la désintégration du mycélium de l'agent phytopathogène provoque son inhibition totale.

Dans ce contexte, l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. vis-à-vis des isolats phytopathogènes de *R.solani* étudiés est traduite par antibiose.



MT : Mycélium de *Trichoderma*, MR : Mycélium de *Rhizoctonia solani* , VM : Vacuolisation du mycélium, Chl : Chlamydospores de *Trichoderma*, P : Pénétration de l'antagoniste, Lys : Lyse du mycélium, EMT : Enroulement du mycélium de *Trichoderma*, D : Digestion du contenu du mycélium de *Rhizoctonia*

Figure 24 . Evènements mycoparasitaires des antagonistes du genre *Trichoderma* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani*

3.1.6 Survie des isolats de *R.solani*

Il est à noter, que pour la méthode de confrontation directe des isolats de *R.solani* aux isolats antagonistes a confirmé l'inhibition de la croissance mycélienne et la production des sclérotés confirmant la non survie des isolats phytopathogènes étudiés.

Quand aux isolats préalablement inhibés par les filtrats des milieux, ils ont repris leur croissance ainsi que la production des sclérotés sur milieu PDA.

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne a montré une différence significative entre les isolats de *R.solani* (Tableau 9)

Tableau 10. Analyse de la variance des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani* préalablement inhibés par les filtrats des milieux.

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Isolats phytopathogènes	10248.556	13	788.350	3.133	0.012

La figure 25 résume la survie des isolats de *R.solani* sous l'effet des filtrats des milieux des isolats antagonistes. On peut déduire l'absence de survie de l'isolat R3. L'effet inhibiteur important de T1, T2, T3, T4, T6, T7 et T9 pour R1, celui de T1, T2, T3, T8, T9 et T11 pour R2, et T1, T3, T4, T5, T6, T7 et T10 pour R4 (Figure 25).

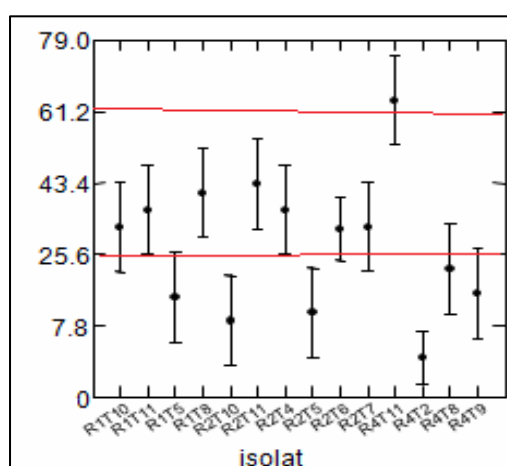


Figure 25. Analyse de la variance en GLM des taux d'inhibition de la croissance mycélienne des isolats de *R.solani* inhibés après confrontation aux filtrats du milieu des antagonistes

L'analyse de la variance des taux d'inhibition de la production des sclérotas a montré une différence significative entre les isolats de *R.solani* (Tableau 10).

Tableau 11. Analyse de la variance de la production de sclérotas des isolats pathogènes préalablement inhibés par les filtrats des antagonistes

Facteurs	Somme des carrés	d.d.l	Carrés moyens	F-ratio	P
Survie (dénombrement des sclérotas)	58,405	13	4,493	4,102	0,001

A partir de la production

des sclérotas produits par les isolats de *R.solani* préalablement inhibés par les filtrats des milieux des isolats antagonistes. On peut déduire l'absence de survie de l'isolat R3. L'effet inhibiteur important de T1, T2, T3, T4, T6, T7, T9, T10 et T11 pour R1, celui de T1, T2, T3, T8 et T9 pour R2, et T1, T3, T4, T5, T6, T7, T10 et T11 pour R4 (Figure 26).

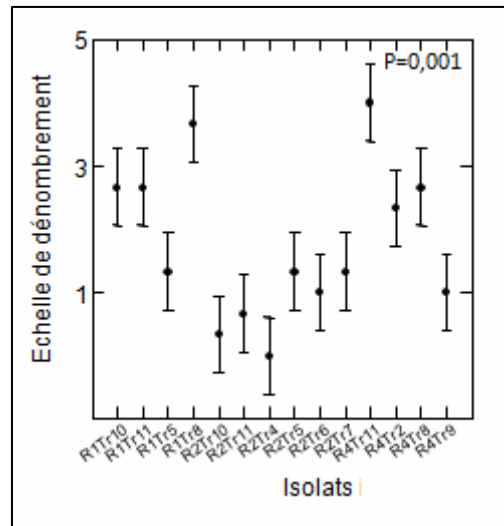


Figure 26. Analyse de la variance en GLM des taux d'inhibition de la production des sclérotas par les isolats de *R.solani* inhibés après confrontation aux filtrats du milieu des antagonistes

3.2 Discussion

Après isolements et purifications des isolats de *R.solani* obtenus à partir de sclérotés de pomme de terre, leur caractérisation a été basée sur leurs aspects culturels, la température idéale de croissance, le milieu nutritif idéal ainsi que leur différenciation en groupes.

Quatre groupes anastomosiques distincts ont été révélés, grâce à la présence d'une zone de confrontation franche et colorée à chaque combinaison, ce qui rejoint les travaux menés par Elbakali et al. (2003) qui ont pu isoler 13 groupes de *Rhizoctonia solani* en se basant sur le même procédé. De même, Raouf, Ahmad et Ashraf, (2007) ont à leur tour isolé 5 groupes anastomosiques à partir de sclérotés des tubercules de pomme de terre du Pakistan selon la même méthode d'étude utilisée dans notre expérimentation.

Par ailleurs, Bouneghou (2011) a pu caractériser les isolats fongiques telluriques de *Fusarium roseum* et *Alternaria alternata* en se basant sur la croissance mycélienne et la production de chlamydospores par rapport à 3 températures et 3 milieux de cultures afin de déterminer la température idéale ainsi que le milieu de culture le plus approprié au développement de chaque isolat étudié. Nous avons suivi les mêmes étapes d'étude pour nos isolats de *Rhizoctonia solani*. La croissance mycélienne optimale a été enregistrée à 25°C sur milieu malt. Ce qui coïncide avec les résultats de Bouneghou (2011). D'autre part, Goswami et al., (2011) ont affirmé également que la meilleure croissance mycélienne de *R.solani* a été obtenue sur milieu PDA entre 25 et 30°C et que les taux de production de sclérotés les plus élevés ont été obtenus dans le même intervalle de températures avec une cadence de production relativement lente. Ce qui rejoint nos résultats où la production maximale de sclérotés enregistrée a atteint 80%, également entre 25 et 30°C.

L'activité antagoniste *in vitro* des isolats algériens de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* a confirmé leur pouvoir inhibiteur sur la croissance mycélienne, la production et germination des sclérotés. Les taux d'inhibition enregistrés pour ces paramètres ont montré une variabilité liée d'une part aux isolats antagonistes et d'autres par aux isolats pathogènes ainsi qu'aux différentes techniques d'étude entreprises dans cette étude.

En effet, par rapport au test de confrontation directe, après 7 à 9 jours d'incubation, les onze isolats de *Trichoderma* spp. ont exercé un effet inhibiteur en recouvrant à presque 100% tout les isolats de *R.solani* étudiés, ce qui rejoint les résultats de Bendahmane et al., (2012).

Alors que pour le contact direct avec les filtrats du milieu, les taux d'inhibition enregistrés étaient faibles en comparaison avec ceux obtenus lors de la confrontation directe à savoir: 3, 8 et 12% respectivement pour R3, R1, R2 et R4.

Il est à noter que de nombreux travaux sur l'antagonisme du genre *Trichoderma* coïncident avec nos résultats.

En effet, les travaux menés par Osman et *al.*, (2011) concernant l'activité antagoniste de *Trichoderma harzianum*, *T.hamatum*, *Gliocladium virens* et *G.deliquescens* contre *Rhizoctonia solani* sur soja ont montré différents degrés d'inhibition de la croissance mycélienne du *Rhizoctonia solani* issues de plusieurs régions d'Egypte, *in vitro* par confrontation directe, à savoir : *T.harzianum* (63%), *G.virens* (55%), *T.hamatum* (49,8%), et *G.deliquescens* (46,4%).

De même, Bendahmane et *al.*, (2012) ont démontré également, l'activité inhibitrice de la croissance mycélienne de *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum* et *Trichoderma viride*, souches algériennes confrontées directement, *in vitro* à 2 isolats virulents de *Botrytis fabae* et *Botrytis cinerea* issus des régions de l'ouest algérien.

Ainsi, au terme de 7 jours de confrontation directe, les colonies de *Trichoderma harzianum* et *T.viride* ont chevauché et recouvert complètement les colonies des deux agents pathogènes confrontés et ont même sporulé sur ces derniers.

Des essais d'antagonisme direct *in vitro*, ont été réalisés aussi par Mpika et *al.*, (2009) par l'utilisation de souches de *T.harzianum*, *T.virens*, *T.asperellum* et *T.spirale* contre *Phytophthora palmivora* agent responsable de la pourriture brune des cabosses de cacaoyer ce qui a révélé une action inhibitrice sur la croissance mycélienne de 34% pour *T.harzianum*, 64,58% pour *T.asperellum*, 71,17% pour *T.spirale* et 79% pour *T.virens*. Les taux enregistrés dans notre expérimentation rejoignent approximativement ceux obtenus par l'antagonisme exercé par *T.harzianum* sur *P.palmivora*.

Nos résultats obtenus pour l'activité antagoniste des filtrats des isolats de *Trichoderma* spp. par rapport aux isolats phytopathogènes de *R.solani* étaient faibles s'échelonnant de 3% d'inhibition pour l'isolats R1 à 12% pour l'isolat R4. El-Katatny et *al.*, (2000) en utilisant des filtrats de culture de *Trichoderma harzianum* comme support d'antagonisme indirect vis-à-vis de souches pathogènes de *Sclerotium rolfsii* ont défini cette activité comme étant due aux métabolites diffusées dans le milieu de culture obtenu après centrifugation et ont été identifiées comme enzymes les Chitinases et B-1,3-Glucanase. D'autre part, Rini et Sulochana (2007) ont étudié l'effet de substances non volatiles produites par des souches sélectionnées de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* sur tomate. Des taux d'inhibition variables ont été mis en évidence par rapport aux filtrats de cultures de *T.harzianum*, *T.pseudokoningii* et *T.viride* vis à vis de *R.solani* et *F.oxysporum*. Il

étaient très faibles, de 0 à 28% pour les substances non volatiles de *T.longibrachium*, *T.virens* et *T.pseudokoningii*, ce qui coïncide avec nos résultats.

Dans le même contexte, le filtrat de culture de *Trichoderma harzianum* n'a pu être capable de protéger les plantes de lentille infectées par *Fusarium oxysporum f sp lentis* à 80% qu'au bout de 20 jours mais au bout de 60 jours, le pathogène a pris le dessus sur les filtrats de *T.harzianum* à 100% entraînant ainsi une mortalité totale des plants de lentille infectés par le *Fusarium oxysporum f sp lentis* (Essalmani et Lahlou, 2003).

De même, Berber et al., (2009) ont démontré *in vitro* une variabilité dans l'inhibition de la croissance mycélienne de *Bipolaris maydis*, *B.sorghicola*, *B.sorokiniana* et *B.tetramera* provoqué par *T.harzianum* et *viride*. L'effet des métabolites diffusibles a été constaté pour les quatre souches. Néanmoins, leur activité était très faible (10%) sur l'inhibition de la croissance mycélienne de *Bipolaris tetramera* par 2 souches de *T.harzianum*.

Il est à noter que sous l'effet antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp, le mycoparasitisme de nos isolats antagonistes, a mis en exergue des modifications structurales sur la morphologie des isolats de *R.solani* étudiés. Toutefois, il est à signaler qu'au début de l'antagonisme, la croissance mycélienne de *Rhizoctonia solani* s'est faite d'une manière régulière, et les *Trichoderma* spp. ont présenté une vitesse de croissance mycélienne similaire à celle de *Rhizoctonia solani* avec une légère inhibition.

Cependant, au bout de 7 à 10 jours, des modifications structurales ont été observées sur la morphologie des isolats phytopathogènes, traduite par un éclatement ; une fragmentation ou lyse des membranes mycéliennes des isolats de *R.solani* suivie d'une digestion de leur contenu suite à l'enroulement du mycélium de *Trichoderma* spp. autour de celui de l'agent pathogène et la production de sclérotes a été complètement inhibée. Ainsi, l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. était de 100% au bout de 10 jours. Ce qui coïncident avec les travaux menés par Benhamou et Chet (1996) ; Daami-Remadi (2001) ; Daami-Remadi et El Mahdjoub (2001) qui ont observé après 6 jours de croissance, un envahissement du mycélium de *Fusarium oxysporum f sp. radicis-lycopercisi* par *T.harzianum* en sporulant sur elles. Les mêmes constatations ont été faites par Benhamou et Chet, (1997) après 4 jours de confrontation directe de *T.harzianum* et *Pythium ultimum*. D'après Comporota, (1985), cette interpénétration est favorisée par la sécrétion des enzymes (B1-3 glucanase et la chitinase) conduisant à la lyse du mycélium de l'agent phytopathogènes. D'autre part Poinar et Buckley (2007) ont confirmé le pouvoir mycoparasitaire de deux espèces de *Trichoderma* spp. par le test de confrontation directe qui a révélé la présence de mécanismes liés à la concurrence, l'antibiose, le mycoparasitisme et l'hyperparasitisme.

En revanche, Elad et al. (1983) ont eux aussi décrit l'action mycoparasitaire de *T.harzianum* et *T.hamatum* sur *R.solani* et *S.rolfsii*. *Trichoderma harzianum* qui s'attaque à son hôte en enroulant son mycélium autour des hyphes de l'hôte et en pénétrant dans les cellules de l'hôte tout en consommant le contenu cytoplasmique de ce dernier.

Par ailleurs, des observations microscopiques réalisées par Hibar et al. (2005) au niveau de la zone de contact entre *T.harzianum* et *F.oxysporum f sp radicis lycopersici*, ont montré une modification profonde au niveau du mycélium du pathogène marquée par une lyse importante, une transformation en cordons des filaments mycéliens et un enroulement du mycélium de l'antagoniste autour du pathogène. Ce même isolat a été testé par Daami-Remadi (2001) sur *F.solani var ceorulum*, *F.roseum var sambucinum* et *F.graminearum*, responsables des pourritures sèches sur pomme de terre envers lesquels ils induisent également une lyse importante du mycélium du pathogène. Il en est de même avec *T.liignorum* qui était capable de s'enrouler sur le mycélium du *Rhizoctonia solani* causant ainsi une dissolution du cytoplasme du pathogène (Howell, 2003).

Le test de survie a concerné les isolats R1, R2, R4 ayant subi une inhibition prononcée de la croissance mycélienne lors de leur contact direct aux filtrats des milieux des isolats (T2, T4, T5, T7, T8, T9, T10 et T11) de *Trichoderma* spp., Cependant, le taux d'inhibition a avoisiné 62% pour l'isolat R4, entre 25,6 et 61,2% pour R1 et R2 et entre 0 et 25% pour R2 et R4 préalablement confrontés à T2, T5, T8, T9 et T10. Ce qui confirme les travaux menés par Kebe et al., (2009) qui ont révélé une variabilité de l'inhibition *in vitro* de la croissance mycélienne des isolats de *Phytophthora palmivora* par les isolats antagonistes de *Trichoderma* spp. pour le test de survie variant de 50 à 90% pour certains isolats de *Trichoderma* spp. et de 10 à 30% pour d'autres. Alors que d'autres isolats ont confirmé leurs effets fongicides prononcés avec un pourcentage de survie de nul.

D'autre part, d'autres travaux récents ont affirmé obtenu des résultats qui ont affirmant la non survie de trois isolats algériens de *P.infestans* après leur confrontation directe aux mêmes isolats antagonistes algériens de *Trichoderma* spp. utilisés dans notre étude (Saadoune, 2011 ; Bencheikh, 2012 et Zanoune, 2012).

Conclusion

Ce présent travail s'inscrit dans l'axe de recherche de nouvelles méthodes de lutte biologique alternatives aux fongicides synthétiques utilisés dans le bio-contrôle de *Rhizoctonia solani* agent responsable du rhizoctone brun de la pomme de terre.

Au terme de cette expérimentation, il est important de rappeler les principaux résultats obtenus :

Après isolement et purification des isolats de *Rhizoctonia solani*, la confrontation directe entre eux a mis en évidence quatre groupes anastomosiques (R1, R2, R3 et R4).

La caractérisation culturale des 04 isolats de *R.solani* s'est basée sur la couleur, la texture du thalle et la croissance mycélienne à différentes températures et sur différents milieux ainsi que la production des sclérotés. 25°C est la température optimale et, le milieu PDA est le plus approprié pour leur croissance mycélienne. La plus importante croissance a été enregistrée chez R1. 15°C est la température idéale et le milieu PDA reste le plus approprié pour la production des sclérotés. Les isolats R1 et R4 ont révélé la plus importante production de sclérotés avoisinant 90%.

Une variabilité dans l'inhibition de la croissance mycélienne a été remarquable pour les 4 isolats de *R.solani* confrontés directement aux isolats de *Trichoderma* spp. ou / et mis en contact direct avec les filtrats de leur cultures durant quatre jours d'incubation. L'inhibition de la croissance mycélienne a été plus importante en confrontation directe qu'avec les filtrats des milieux de cultures des antagonistes, mais les taux d'inhibition enregistrés restent toujours faibles n'atteignant pas 50%. Cependant, ceux enregistrés selon la méthode de confrontation directe ont atteint les 100% après 10 à 15 jours d'incubation. Il est à noter que c'est l'isolat antagoniste T11 qui a révélé le plus important pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne de R1 et R2 mais, l'inhibition de R2 demeure la plus importante dépassant les 50%. Toutefois, concernant les filtrats des milieux de cultures des antagonistes, c'est l'isolat T10 qui a montré la plus importante inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat R4 dépassant les 60%.

La production de sclérotés selon le mode de confrontation directe s'est avérée nulle.

Au bout de 3 à 4 jours d'incubation, les sclérotés ont été envahis et détruits par les isolats de *Trichoderma* spp. En ce qui concerne le contact direct aux filtrats des cultures, la production de sclérotés a été variable selon les isolats phytopathogènes et les filtrats des milieux de cultures des isolats antagonistes.

Ainsi, le plus important pouvoir inhibiteur de la production des sclérotés a été enregistré pour les isolats antagonistes T2, T4, T10, T3 et T5 respectivement vis-à-vis de R1, R2, R3 et R4.

En effet, la germination des sclérotés des 4 isolats de *R.solani* confrontés directement aux isolats de *Trichoderma* spp. était nulle. Après 3 à 4 jours d'incubation, les sclérotés ont été envahis par les *Trichoderma* détruisant tous les isolats phytopathogènes.

Confrontés aux filtrats des isolats antagonistes, la germination des sclérotés a été fortement inhibée avoisinant les 90%.

Des modifications structurales ont affecté la morphologie des isolats de *R.solani* sous l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. Une lyse ainsi que la digestion de contenu cytoplasmique du mycélium de l'agent phytopathogène étaient responsables de l'inhibition totale de sa croissance mycélienne et de la production de ses sclérotés.

Au début de l'antagonisme, la croissance mycélienne des *Trichoderma* et celle des *Rhizoctonia solani* étaient très proches avec toutefois une légère inhibition. Mais, au bout de 7 à 10 jours, la désintégration du mycélium de l'agent phytopathogène a provoqué son inhibition totale.

Dans ce contexte, l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. vis-à-vis des isolats phytopathogènes de *R.solani* étudiés est traduite par l'antibiose et leur pouvoir hautement mycoparasitaire.

La méthode de confrontation directe des isolats de *R.solani* aux isolats antagonistes a révélé l'inhibition totale de la croissance mycélienne et de la production des sclérotés confirmant la non survie des isolats phytopathogènes étudiés.

Quand aux isolats préalablement inhibés par les filtrats des milieux, une reprise de croissance ainsi que la production des sclérotés ont été relevés sur milieu PDA.

La non survie des isolats de *R.solani* a été soulignée avec les filtrats des milieux des isolats antagonistes T1 et T3.

En se basant sur l'effet inhibiteur *in vitro* des isolats Algériens de *Trichoderma* spp. sur la production de sclérotés et leur germination, les isolats antagonistes étudiés peuvent être recommandés dans la gestion du rhizoctone brun de la pomme de terre dans la région d'El oued.

Il en ressort de notre étude que l'application des *Trichoderma* spp. en agriculture est une approche prometteuse qui permet de réduire l'utilisation des fongicides. Par ricochet, elle contribue à promouvoir une agriculture biologique soucieuse de préserver la biodiversité et l'environnement.

En revanche, ce travail ne constitue qu'une première étape dans la recherche des agents antagonistes. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront confirmer les performances mises en évidence.

Ainsi, à partir de ce modeste travail plusieurs voies s'ouvrent à la recherche, notamment :

- Caractériser les groupes anastomosiques des isolats de *R.solani* par PCR ;
- Mener une enquête rigoureuse sur cette maladie dans la région d'El Oued ;
- Réaliser une étude épidémiologique pour connaître la source d'inoculum en vue de le réduire ;
- Tester les isolats antagonistes les plus efficaces in vivo et, en plein champ dans la région d'El Oued ;
- Caractériser et identifier les isolats antagonistes les plus performants par PCR ;
- Etudier leur profil enzymatique ;
- Analyser les filtrats de culture des isolats antagonistes ;
- Etudier leur toxicité, leur rémanence et leur persistance ;
- Produire en masse et les formuler ;
- Les utiliser dans le bio-contrôle d'autres champignons phytopathogènes ;
- Rechercher d'autres antagonistes efficaces pour lutter contre le rhizoctone brun.

Références bibliographiques

1. A.A, 2001 – La culture de la pomme de terre. Revue Alto Agri. 32p.
2. Agrios G.N., 1997 - Plant Pathology 5^{ème} edition, 952p.
3. Alabouvette C., Couteaudier Y. et Louvet J., 1983 – Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, pp 7-16. XXIV. Colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
4. Altomare C., Yadav J., Verma J.P. et Tiwari K.N., 1999 - Plant Growth Promoting Activities of Fungi and their Effect on Chickpea Plant Growth in Science Alert. Asian Journal of Biological Sciences, 4: 291-299p.
5. Amrar, 2005 – Age physiologique et influence des conditions de stockage sous froid en longue durée dans le développement de la culture de la pomme de terre d'arrière saison et de primeur. Macir 2. Algérie, 11 – 14p.
6. Anderson N., 1982 – La génétique et pathologie de *Rhizoctonia solani*. Annual Review of Phytopathology. Vol. 20: 329-347p.
7. Anguiz et Martin, 1989 – Anastomosis groups, pathogenicity, and other characteristics of *Rhizoctonia solani* isolated from potatoes in Peru. Plant Disease 73:199-201p.
8. Anith K.N., 1997 - Molecular basis of antifungal activity of a fluorescent pseudomonad. Ph.D. thesis, Indian. Agricultural Research Institute, New Delhi, 79 p.
12. Arvy M.P. et Gallouin F., 2007 - Légumes d'hier et d'aujourd'hui. Ed. Belin Paris, p. 403-418.
13. Bamouh A., 2003 - Fiche technique, l'abricotier, le prunier, le poirier et le pommier, Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA, Transfère de technologie en agriculture, n° 107 Arboriculture., Ministère de l'agriculture et de développement rural, Maroc., 4 P.
14. Beagle-Ristaino J. et Papavizas G.C., 1985 – Biological control of *Rhizoctonia* stem canker and black scurf of potato. Phytopathology, vol. 75: 560 – 564p.
15. Bencheikh K, 2012 - Antagonisme in vitro de *Trichoderma* sp. à l'égard de *Phytophthora infestans* Mont. Bary agent causal du mildiou de la pomme de terre. 60p. Université Saad Dahleb Blida.
16. Bendahmane B.S., Mahiout D., Benzohra I.E. et Benkada M.Y, 2012 - Antagonism of three Species against *Botrytis fabae* and *B.cinerea*, the causal agents of Chocolate spot of

- Faba Bean (*Vicia fabae* L) in Algeria in World Applied Sciences journal 17 (3): 278-283p.
17. Benhamou N. et Chet L., 1997 – Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, p. 2095–2099.
 18. Besnard O. et Davet P., 1993 - Mise en évidence de souches de *Trichoderma* spp. à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. *Biophytech. Agronomie*, 13, 413-421p.
 19. Besselat B., 1985 - Résultats obtenus par le service de la protection des végétaux dans le cadre de la lutte contre la pourriture grise de la vigne avec utilisation du *Trichoderma*. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures, pp 51-58. INRA Paris.
 20. Bissett J., 1991b - A revision of the genus *Trichoderma*. III. Sect. *Pachybasium*. *Can J Bot.* 1991; 69:2373–2417p.
 21. Bissett J., 1991a - A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can J Bot.* 1991; 69:2357–2372p.
 22. Bissett, J., 1984 - A revision of the genus *Trichoderma* L. Section Longibrachiatum Sect. *Nov. Can. J. Bot.*, , 62 : 924-931p.
 23. 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) : 214-228p.
 24. Bock B., 2012 - Tela Botanica. Base de Données Nomenclaturales de la Flore de France. V4 BDNFF. <http://www.tela-botanica.org/page:eflore>
 25. Botton B., Breton A., Serve M., Guy Ph., Larpen T.J. et Veau P., 1985 – Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle ? collection biotechnologie Ed. Masson, Paris. 364p.
 26. Bouneghou S.B., 2010 - L'effet inhibiteur de *Pythium* sp. sur la croissance mycélienne de *Fusarium rosseum* et d'*Alternaria alternata*. 103p. Univ. Mentouri, Constantine
 27. Bova F., 2012 - La pomme de terre. Bilan de campagne 2010/11. Franceagrimer, établissement national des produits de l'agriculture et de la mer p 1 – 2.
 28. Brewer D., Greenwell M. et Taylor A., 1993 - Studies of *Trichoderma* sp. isolates from *Mytilus eludis* collected on the shores of cape Breton and Prince Edward islands. *Proc. N. S. Inst. Sci.*, 1993, 40 (1) : 29-40 p.
 29. Camporota, 1985 - Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp vis à vis de *Rhizoctinia solani*, pp. 613-620. *Agronomie* volume 5, N°7.

30. Caron J.L., Laverdière, P.Q., Thibodeau P.O. et Bélanger R.R., 2002 - Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contre cinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au Québec. *Phytoprotection*, vol. 83, n° 2, 2002, p. 73-87
31. Ceresini P., 2011 – *Rhizoctonia solani*. N.C. state univ.
32. Chehat F., 2008 – la filière de la pomme de terre Algérienne, une situation précaire. Journée d'étude sur la filière de la pomme de terre, situation actuelle et perspectives. INA d'El Harrach Algérie. Le 18 juin 2008, 11p.
33. Clarys L., 2005 – La pomme de terre de contre saison dans le sud est Malgach. Inter aide, programme agricole MANAKARA, 3p.
34. CNIS, 2008 – Statistiques des importations. Conseil National Interprofessionnel des Semences. 3p.
35. Cournut B., 1984 - Le genre *Trichoderma*, *Hyphomycetes*. Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie : Aix Marseille 2. 77p.
36. Cubeta M.A. et Vilgalys R., 1997 - Population biology of the *Rhizoctonia solani* complex. *Phytopathology* 87:480-484 p.
37. Davet P., 1983 – Introduction et conservation de *Trichoderma* dans le sol. Les antagonistes microbiens, mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes, pp. 159-168. ACTA, INRA- ENSAM- Montpellier (FR).
38. Demain AL et Fang A, 2000 - The natural functions of secondary metabolites. Depart.of Biology, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA. 13p.
39. Demirci, E., Eken C. et Dane E. 2009 - Biological control of *Rhizoctonia solani* on potato by *Verticillium biguttatum*. *African. J. Biotech.* 8(11):2503-2507p.
40. Demirci E., Dane E. et Eken C., 2010 - In vitro antagonistic activity of fungi isolated from *Sclerotia* on potato tubers against *Rhizoctonia solani* Tubitak Turk. J. Biol 35.457-462p.
41. Djafer A., 2011- Impact de l'utilisation des isolats algériens de *Trichoderma* sp. Sur la culture de la pomme de terre *Solanum tuberosum* L. en Algérie. Th. Master, Univ. Saad Dahleb Blida 74p.
42. Domsch, K.H., Gams, W. et Anderson, T.H., 1993 - Compendium of soil fungi. Vol. I & II, reprint IHW - Verlag. Eching, Germany, 859, 405 p.
43. DRDPA, 2012 - Statistique de la pomme de terre de consommation. Direction de la régulation et de la production agricole. 12p.
44. DRDPA, 2013 - Statistique de la pomme de terre de consommation. Direction de la régulation et de la production agricole. 14p.

45. Esposito E. et Silva M., 1998 - Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. Rev Microbiol n° 24 (2):89-98p.
46. Esslmani H. et Lahlou H., 2003 - Induction par *Trichoderma harzianum*, de la résistance des plantes de lentille contre *Fusarium oxysporum* f.sp.*lentis*. Actes Inst. Agro. Vet, vol.24 (1et 2) :51-58p.
47. FAO, 2008 – FAO stat, produit par pays. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
48. FAO, 2011 - FAO stat produit par pays. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
49. FAO, 2012 - FAO stat produit par pays. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
50. Fiers M., 2010 - Origine des altérations superficielles du tubercule de pomme de terre: de la microbiologie à l'environnement pédo-climatique. PhD thesis. 261p. Univ.de Bourgogne.
51. 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 p.
52. Genilloud O., Pelaez F., Gonzalez I., Dyez M.T., 1994 - Diversity of actinomycetes and fungi on seaweeds from the Iberian coasts. Microbiologia SEM 10:413-422p.
53. Haddad M., 2008 – Forum de la pomme de terre. Expo FILAHA. Revue de la journée nationale de la pomme de terre. 20p.
54. Hasni A., 2012 - Antagonisme *in vitro* du genre *Trichoderma* indigène à la rhizosphère de la pomme de terre *Solanum tuberosum* L. à l'égard de *Phytophthora infestans* M. de Barry, agent responsable du mildiou en Algérie. 89p. Th. Ing. Univ. S. Dahleb de Blida.
55. Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H. et El Mahdjoub M., 2005 – Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 9 (3) :163-171p.
56. Huamán Z., 1986 - Conservation of potato genetic resources at CIP. CIP Circular.14 (2):1-7p.
57. Jolivet E., 1969 – Physiologie de la tubérisation. Annale de physiologie végétale 11; 198 – 199p.
58. Kouamé Y.S., 2003 - L'Afrique sous le charme de la pomme de terre. Rfi service pro. 4p.
59. Kubicek CP, Bissett J, Druzhinina I, Kullnig-Gradinger CM. et Szakacs G., 2002 - Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma*: a case study on South East Asian isolates. Fungal Genet Biol. 2003; 38:310–319.

60. Kühn et Moore, 1987 in index fungorum 2004 - The genera of *Rhizoctonia*-like fungi: *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza* gen.nov., *Epulorhiza* gen.nov., *Moniliopsis*, and *Rhizoctonia*. *Mycotaxon* 29:91–99p.
61. 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. Thèse en Pharmacie, Université de Nantes, France, 201p.
62. Lanusse M., Lung-Escarmant B., Dubot B. et Taris B., 1983 - Etude *in-vitro* des propriétés antagonistes de 8 espèces de *Trichoderma* à l'égard de deux souches d'*Armillaria mellea*, pp. 179-192. XXIV colloque de la société Française de phytopathologie, n°34, Bordeaux (FR).
63. Lefki M.A., 2008 – Interview. Revue Expo Filaha. Année internationale de la pomme de terre ; p 8.
64. Lepoivre P., 2003 - Phytopathologie bases moléculaires et biologiques 427p.
65. Leuchtman A, Petrini O. et Samuels G., 1996 – Isozyme subgroups in *Trichoderma* section longibrachiatum. *Mycologia*, 88 (3), 384 – 394 p.
66. Leveillard. J. P, 2012 - Guide d'identification et fiches techniques, 2008 dans Bulletin de santé végétale. 14p.
67. Lynch, J.M., Lumsden, R.D., Atkey, P.T. et Ousley, M.A., 1991a - Prospects for control of *Pythium* damping-off of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium*, and *Enterobacter* spp. *Biology and Fertility of Soils*, 12, 95- 99p.
68. Lynch, J.M., Wilson, K.L., Ousley, M.A., Whipps, J.M., 1991b - Response of lettuce to *Trichoderma* treatment. *Letters in Applied Microbiology*, 12, 56- 61p.
69. Madec, P., 1966 - Croissance et tubérisation chez la pomme de terre. *Bulletin de la Société Française de Physiologie Végétale* 12 : 159-173p.
70. Madigan, M. T., Martinko, J. M. et Parker, J., 1997- *Biology of Microorganisms*, 8th ed. Prentice Hall Upper Saddle River Press, London, 986 pp.
71. MADR, 2011 – Service des statistiques des cultures. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
72. MADR, 2013- Bilan du service des statistiques des cultures. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. 21p.
73. 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 – 530p.

74. Malet M., 2009 - Notice technique sur les maladies transmises par la semence de pomme de terre. 5p. Revue Syngenta 2010.
75. Matz, 1920 in index fungorum 2004
76. Ministère de l'Agriculture Canadien, 2010 dans Agriculture et Agri Food du Canada - Profil de la culture de lentille. 22p.
77. Ministère de l'Agriculture Canadien, 2011 dans Agriculture et Agri Food du Canada - Profil de la culture de pomme de terre. 22p.
78. Moumene S., Bencheikh K., Zanoune S., Houmani Z. et Bouznad Z., 2013 - Antagonisme *in vitro* et *in vivo* de *Trichoderma* sp. à l'égard de *Phytophthora infestans* Mont. Bary agent causal du mildiou de la pomme de terre. 60p. Université Saad Dahleb Blida.
79. Moumene S., Nebih D. et Djazouli Z.E., 2008 – Recherche des champignons filamenteux associés aux nématodes de galles de la tomate en Algérie : projet DURAS/NEMATUS (2 DCG3-5) : acronyme : NEMATUS (Nématode Algérie Maroc Tunisie Sénégal). Approche intégrative de la gestion des nématodes phytoparasites en systèmes maraîchers méditerranéens et sahéliens. Fonds de solidarité prioritaire DURAS. Promotion du Développement durable dans les systèmes de Recherche Agricole du Sud. Ministère français des affaires étrangères (soutien du FSP forum de la recherche agricole GFAR). 5p.
80. Moumene S., Sadek D., Laidani M., Houmani Z. et Bouznad Z., 2012 - In vitro antifungal activity of a range of aqueous extracts of plants against *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Causal agent of late blight of the potato *Solanum tuberosum* L. in Algeria. International Symposium: « Crop Protection Management in Mediterranean Organic Agriculture » May 14 - 16, 2013. Sousse (Tunisia). 5p.
81. Mouria A., Ouezzani-Touhami A. et Douira A. 2007 – Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. Revue Phytoprotection, Vol.88, n°3. Éd. Société de protection des plantes du Québec (SPPQ). p. 103-110.
82. Moussaoui M., 2010 - Développement et extraction des métabolites secondaires de *Trichoderma viride* et leurs effets biologiquement actifs. 64p. Univ. Mentouri Constantine.

83. Ogoshi A., 1987 – Ecologie de groupe de pathogénécité anastomose interspécifique des souches de *Rhizoctonia solani* Khun. Ann. Rev. Phytopathol. 25:125-143p.
84. Omari C., 2008 – La filière pomme de terre en Algérie. Revue Filaha Ed. Magvet issn n°1111- 4762 20p :8-10.
85. Osman H, Vauthrin S, Mikes V, Milat M L, Panabieres F, Marais A, Brunie S, Maume B, Ponchet M and Blein J P., 2001 - Mediation of elicitor activity on tobacco is assumed by elicitor-sterol complexes. Molecular Biology of the Cell, 12:2825-2834 p.
86. Osman, M.E.H., El-Sheekh M.M., Metwally M.A., Ismail A.E.A. et Ismail M.M., 2011 - Antagonistic activity of some fungi and cyanobacteria species against *Rhizoctonia solani*. Int. J. Plant Pathol., 2: 101-114 p.
87. Ouamar A., 2013- Importation de semences de pomme de terre. Le chiffre d'affaire. Quotidien Algérien de l'économie et des finances, n° du 23/02/2013. 1p.
88. Papavizas G.C., 1985 - *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. Ann. Rev. Phytopathol., 1985, 23: 23-54 p.
89. Parmenter J.R., 1970 - *Rhizoctonia solani*, biologie et pathologie. 300p. Londres R.U. Univ. de Californie.
90. Patel J.J. et Brown M.E., 1969 – Interactions of Azofuocifer with rhizosphere and root-surface microflora. Plant Soil. 31: 273-281p.
91. Philippeau G., 1989 - Comment interpréter les résultats d'une analyse en composantes principales ? Institut technique des céréales et des fourrages (Fr) 63p.
92. Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A., 1995 – Microbiology. 2th, ed.deBoeck. QW4 931p. 2003F.
93. Prieto A., Leal J.A., Poveda A. Jimenez-Barbero J., Gomez-Miranda B., Domenech J., Ahrazem O., et Bernabé M., 1997 – Structure of complex cell wall polysaccharides isolated from *Trichoderma* et *Hypocrea* species. Carbohydr. Res. 304 : 281-291 p.
94. Rapilly F., 1968 – Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Ann. Epiphyt., 101 p.
95. Rashad Y.M., Abdel-Fattah G.M., Hafez E.E. et El-Haddad S.A., 2012 - Diversity among some Egyptian isolates of *Rhizoctonia solani* based on anastomosis grouping, molecular identification and virulence on common bean. African Journal of Microbiology Research Vol 6 (37), pp :6661-6667.

96. Ridout C.J., Colley-Smith J.R. et Lynch M., 1986 - Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein induced in *Trichoderma* spp. by cell walls of *Rhizoctonia solani*. Journal of general microbiology, 132p., 2345-2352
97. Rifai M.A., 1969 - A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. papers, 116:1-56p.
98. Roquebert M.F., 1996 – Interactions antagonistes de *Trichoderma* sp dans les systèmes telluriques: systématique compte-rendu de 4^{ème} rencontre en Toxicologie, Paris, 1996, 13-15p.
99. Rousselle P., Robert Y. et Crosnier J.C., 1996 - La pomme de terre: production, amélioration, ennemis et maladies, utilisations. Editions INRA Quae, 607 p.
100. Roze E., 1898 - Histoire de la Pomme de terre traitée aux points de vue historique, biologique, pathologique, cultural et utilitaire, Lausanne, J. Rothschild, 87p..
101. Ruhland, 1908 in index fungorum 2004.
102. S.P.Q.A., 2013 - Revue Stratégie Phytosanitaire Québécoise en Agriculture, N° 2. 49p.
103. Saadoun A., 2011 – Antagonisme des isolats algériens de *Phytophthora infestans* agent responsable du mildiou en Algérie. Th. Ing.univ. Said Dahleb de Blida, 60p.
104. Samuels G.J., Petrini O. et Manguin S. 1994 - Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. Mycologia 86: 421-435p..
105. Sandgren M., Stahlberg J. et Mitchinson C., 2005 - Structural and biochemical studies of GH family 12 cellulases: improved thermal stability, and ligand complexes. Prog. Biophys. Mol. Bio., 2005, 89: 246-291p.
106. Soltner D., 2005 – Les grandes productions végétales. 20^{ème} éd. Collection Science et Techniques Agricoles. 472 p.
107. Starstins, 1977
108. Subramanian C.V., 1998 - Hyphomycetes. Taxonomy and Biology. Londres : Academic Press Inc., 1983, pp. 340-347, 502 p.
109. Sugiyama J., 1987 - Pleomorphic fungi: the diversity and its taxonomic implications. Tokyo: Kodansha. Ed. Elsevier, pp 29 – 56, 325p.
110. Sy A.A., 1976 - Contribution a l'étude de *Pyricularia oryzae* cav. : morphologie, biologie et physiologie, recherche in vitro d'antagonistes dans une perspective de lutte biologique. Thèse Doctorat Ing. Toulouse : Univ. P.Sabatier. 236p.
111. Thompson J., 2007 - Identification and Management of Turfgrass Diseases. niversity of Missouri Extension. IPM1029. 3p.

112. Toussaint Ferreyrolle, 2012 - Céréales à paille. Rhizoctone : une maladie à prendre en compte cette année. ARVALIS - Institut du végétal 1p.
113. Uchilda, J.Y., 2011 - *Rhizoctonia Solani*. Knowledge Master. Web. 04 Oct. 2011. <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/r_solani.htm>.
114. Vining L.C., 1990 - Functions of secondary metabolites. Annu. Rev. Microbiol., 1990, 44 : 395-427p.
115. Vizcaino J.A., Sanz L., Cardoza R.E., Monte E. et 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., 2005, 244 : 139–148p.
116. Weidling, 1934 - Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology 24: 1153–1179p.
117. Wharton P.S., 2011 – Maladies des pommes de terre du Michigan. Michigan state univ. 40p.
118. Whipps J.M., 1992 - Status of biological disease control in horticulture. *Biocontl Sci Tech* 2:3-24 p.
119. Whipps, J. M., 1997 - Developments in the biological control of soil-borne plant pathogens. Adv. Botan. Res., 26, 1–134p.
120. Widden P. et Abitrol J.J., 1980 - Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce-forest soil. Mycologia, 1980, 72 : 775-784p.
121. Wiese M.V., 1987 – Compendium des maladies du blé. American phytopathological society. 124p.
122. Yedidia I., Benhamou N. et Chet I., 1999 - Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, p. 1061–1070.
123. Zanoune, 2012 Antagonisme *in vivo* des isolats Algériens de *Trichoderma* sp. à l'égard de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. agent responsable du mildiou de la pomme de terre en Algérie. 100p. Université Saad Dahleb. Blida

CHAPITRE 1
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

INTRODUCTION GENERALE

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Annexe

Composition du milieu PDA.

- 200g de pomme de terre.
- 20g d'Agar
- 20g de glucose
- 1000 ml d'eau distillé

Composition du milieu Extrait de Malt.

- 10g d'extrait de Malt
- 20g d'Agar
- 1000 ml d'eau distillée

Composition du milieu Sabouraud.

- 10g de peptone
- 20g de glucose
- 15g d'Agar
- 1000 ml d'eau distillée