



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat science

En Sciences Agronomiques

Option : Protection des végétaux

Réf. :

Préparée par :

FADLAOUI Soumaia

Thème : Etude des microorganismes antagonistes (*Trichoderma* ssp.) du fusariose (*Fusarium* spp.), principale maladie fongique des cucurbitacées dans la région de Biskra.

Jury :

Présidente :	BOUKHALFA Hassina Hafida.	Professeur Université de Biskra
Encadrant :	MEHAOUA Mohamed S.	Professeur Université de Biskra
Examineur :	BEN SALAH Mohamed K.	Directeur de recherche A CRSTRA
Examineur :	CHAFAA Smail	Professeur Université de Batna 02

Année universitaire : 2024 – 2025

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la volonté, le courage et la patience qui m'a permis de réussir durant ces longues années de la réalisation de ce travail.

Je tiens à exprimer mes gratitude envers **mes chers parents** qui se sacrifient chaque jour pour moi, afin de me voir réussir dans ma vie.

Au terme de ce travail, il serait indispensable de citer et de remercier les personnes qui ont contribué, de façons différentes, à sa réalisation, mais aussi celles que j'ai pu rencontrer même pour des échanges occasionnels durant ces années.

De ce fait ; je souhaite exprimer mes sincères gratitude et mes profond remerciements envers :

Mon encadreur de thèse, le professeur **MEHAOUA Mohamed Seghir**, pour ses conseils précieux et son soutien scientifique et morale constants tout au long de cette recherche. Je tiens également à exprimer ma gratitude pour la confiance qu'il m'a témoignée lors de la prise de décisions cruciales visant à orienter les objectifs de la thèse.

Les membres du jury pour avoir consacré leur temps précieux à la lecture de ce travail, à l'évaluation de cette thèse et pour leurs commentaires constructifs :
Professeur **BOUKHALFA Hassina Hafida** de l'Université de Biskra, la
Présidente du jury.
Professeur A. **BENSALEH Mohamed K.** Du Centre de Recherche Scientifique et
Techniques sur les Régions Aride de Biskra, examinateur.
Professeur **CHAFAA Ismail** de l'Université de Batna 02, examinateur.

Le directeur de la station à l'Institut National de la RechercheAgronomique « INRA »de Constantine, **Mr. OFROUKH Omour**, ainsi que ses ingénieurs pour leur précieuse assistance et leur collaboration.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude pour m'avoir permis de découvrir une personneexceptionnelle de notre époque, à la fois sur le plan scientifique et humanitaire, **Dr. HARRAT Wahiba** chercheuse à INRA de Constantine. Elle a joué un rôle essentiel dans l'avancement de mes recherches sur ce sujet, et aucun témoignage de gratitude ne saurait être à la hauteur de son implication. En effet, elle a collaboré étroitement avec moi tout au long de la réalisation de cette thèse, en partageant son temps et son expertise. C'est grâce à elle que j'ai saisi la véritable essence de l'authenticité professionnelle.

Mme. BOUDCHICHA Rima, Le Chef du Laboratoire de Biologie Moléculaire du Centre de Recherche en Biotechnologie de Constantine « CRBT », ainsi qu'à son équipe d'ingénieurs, pour leur assistance technique et leur disponibilité.

Mr. MOUSSAOUI Walid, le Directeur de l'entreprise Eurl Fertilis, spécialisée dans la commercialisation et la distribution de produits agricoles, pour son soutien technique et ses recommandations concernant le sujet de cette thèse.

Mr. GACEM Samir, Directeur Régional du sud de Debbana-AGri en Algérie, pour son précieux soutien et ses conseils avisés, notamment lors de l'élaboration des questionnaires, en raison de sa vaste expertise dans le domaine et de sa profonde connaissance de la région et de ses acteurs agricoles.

Mr. MOUSSAOUI Riad, le Directeur du Laboratoire de Contrôle de Qualité et de Conformité à Biskra, ainsi qu'à son équipe de techniciens, pour m'avoir accordé l'accès à leur laboratoire au début de mon projet, et pour leur précieuse assistance et leur expertise.

Mr. BOUBAKER Nabil, ingénieur principale à l'Institut national de la protection des végétaux de Biskra « INPV », pour son soutien précieux au démarrage de ce projet. Sa disponibilité et sa patience ont été d'une grande aide en m'initiant aux fondements de l'identification et de l'isolement des champignons.

Mon amie, **Dr. KHEMKHOUM Samira**, pour son soutien inconditionnel à tous égards. Sans sa présence et son appui, je n'aurais pas pu atteindre ce jour. Je lui suis extrêmement reconnaissant.

Mon collègue, **Mr. MENACER Salim**, ingénieur principal et chef de département d'Etude et programmation à l'institut technique de développement de l'agriculture saharienne « ITDAS », pour ses précieux conseils et son soutien scientifique.

Mr. AYAD Riad, ingénieur agronome et vendeur des produits phytosanitaires et des semences, pour son aide et sa disponibilité.

Le directeur de l'ITDAS ainsi que l'ensemble de l'équipe du laboratoire pour leur soutien et leur collaboration.

Tous les enseignants et le personnel du département de l'agronomie et de la faculté de la science et science de la nature et de la vie.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à toutes et à tous.

FADLAOUISoumaia

Dédicace

Louange à Allah le tout puissant

Je dédie sincèrement cette fleur que je cueillis du jardin de ma vie d'étude aux joyaux de ma vie, source d'amour et symbole de compassion : Mon père et Ma mère.

A mes chers frères, qui m'ont aidé et encouragé avec dévouement : Mohamed,

Ali et à mes beaux-frères Alwardi, Belkhir et Mohamed.

A celles qui n'ont jamais été lasses de me soutenir et me pousser vers l'avant, fleurs de ma vie mes chères sœurs : Zarfa, Theldja, Hanane et mes belles-sœurs Zhor et Sabiha.

Un immense merci à ma petite sœur « Mima » et à mon petit frère « Youcef » pour avoir été mes compagnons fidèles tout au long de la réalisation de cette thèse, partageant avec moi joies et peines. Je vous suis reconnaissante d'avoir enduré mes changements d'humeur et d'avoir été là pour moi dans les moments les plus compliqués. Votre générosité dépasse toutes mes attentes, je vous en serai éternellement reconnaissant.

A ceux qui règnent sur mon cœur, mes clés de bonheur : Achraf, Aymen, Moatez,

Hiba, Ibtihel, Aya, Maryame, Amani, Fatima, Zahra, Dina, Douaa, Chaima et Ghallaia

À mes précieux amies, joyaux de mon cœur et tuteurs de mon âme : Samira, Sara, Safa, Samira, Rebiha, Djouhaer, Aicha, Fadhila, Kenza, et Halima, et mon merveilleux ami Radouane.

Soumaia

Liste des figures

Figure 1: Schéma récapitulatif des différentes parties enquêtées.....	14
Figure 2: Carte des zones de déroulement de l'enquête avec les agriculteurs.	15
Figure 3: Figure montre l'importance économique de la culture des cucurbitacées au niveau nationale et régionale (Cas de Biskra).....	19
Figure 4: Figure représente les principales analyses faites sur la culture des cucurbitacées à Biskra.	26
Figure 5: Figure représente les principales analyses faites sur la situation actuelle de l'infection des cucurbitacées par le <i>Fusarium</i>	29
Figure 6 : Défis de l'utilisation des fongicides biologiques contre le <i>Fusarium</i>	30
Figure 7: Symptômes de jaunissement, de flétrissement et de brunissement racinaire chez les plantes collectées.....	38
Figure 8: Zones d'échantillonnage des <i>Fusarium</i> spp. et des <i>Trichoderma</i> spp.	39
Figure 9: Le cortège des microflores fongiques isolées à partir des plantes des cucurbitacées	48
Figure 10: Nombre des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. par site d'échantillonnage	48
Figure 11: Aspect Morphologique et microscopique des isolats étudiés sur PDA après 07 jours.	51
Figure 12 : Analyse phylogénétique des espèces identifiées des <i>Fusarium</i>	56
Figure 13 : Analyse phylogénétique des espèces identifiées des <i>Trichoderma</i>	57
Figure 14 : Teste de pathogénicité des isolats de <i>Fusarium</i>	65
Figure 15: Teste de confrontation directe <i>Fusarium</i> / <i>Trichoderma</i>	67
Figure 16: Evaluation des performances pathogènes <i>Fusarium</i> spp. isolées..	73
Figure 17: Evaluation des performances antagonistes <i>Trichoderma</i> spp. isolées.....	74
Figure 18: Interactions entre les hyphes de <i>Trichoderma</i> et les isolats de <i>Fusarium</i> lors de confrontations directes	75

Liste des tableaux

Tableau 1: Caractérisation de la situation socio-économique des agriculteurs.	21
Tableau 2: Amorces utilisées dans cette étude pour identifier les <i>Fusarium</i> spp et les <i>Trichoderma</i> spp.	42
Tableau 3: Identification par BLASTIN des isolats de <i>Fusarium</i> et <i>Trichoderma</i> et ces numéros d'accessions.....	45
Tableau 4: Caractéristiques morphologiques et microscopiques des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.	54

Liste des Abréviations

ADN	: Acide désoxyribonucléique.
CDPA	: Croissance diamétrale du pathogène en présence de l'antagoniste.
CDT°	: Croissance diamétrale de témoin (pathogène uniquement).
CTAB	: Bromure de cétyltriméthylammonium.
D	: Diamètre de la zone de croissance mycélienne.
DSA	: Direction des Services Agricole.
d'NTP	: Mélange de désoxyadénosine triphosphate dATP, dCTP, dTTP et dGTP.
FAO	: Food and Agriculture Organization
ITS	: Espaceur interne transcrit.
LCF	: Longueur des coléoptiles en présence des isolats de <i>Fusarium</i> .
LCT°	: Longueur des coléoptiles de témoin en absence des isolats de <i>Fusarium</i> .
MADR	: Ministère de l'agriculture et du développement rural.
MEGA	: Logiciel Molecular Evolutionary Genetics Analysis.
NCBI	: National Center for Biotechnology Information.
PCR	: Réaction en chaîne par polymérase.
PDA	: La gélose dextrosée à la pomme de terre.
T	: Temps d'incubation.
TBE	: Tris-borate-EDTA.
TE	: Tampon de Tris additionné d'EDTA.
TEF-1	: Facteur d'élongation.
TG	: Taux de germination des grains sans <i>Fusarium</i> (témoin).
TGF	: Taux de germination des grains en présence des <i>Fusarium</i> .
UPGMA	: Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean).
UNCCD	: United Nations Convention to Combat Desertification.
VC	: Vitesse de croissance.

Table des matières

Table des matières	7
Introduction Générale.....	2
Chapitre I : Donnés générale sur la Fusariose des cucurbitacées.....	13
1. Introduction	13
2. Matériel et Méthodes.....	13
2.1. Enquête auprès de DSA et MADR	14
2.2. Enquête auprès des grainetiers.....	14
2.3. Enquête auprès des agriculteurs.....	15
3. Résultats	18
3.1. Importance économique de la culture des cucurbitacées dans la région de Biskra	18
3.2. Situation socio-économique des agriculteurs.....	20
3.3. Analyse de la culture de cucurbitacées à Biskra.....	22
3.4. Données générales sur les infections des cucurbitacées par le Fusariose.....	23
3.5. Défi de la transition des fongicides chimiques au alternatives biologique contre le Fusarium	25
4. Discussion	30
5. Conclusion.....	34
Chapitre II : Isolement et identification des agents pathogènes et antagonistes.	36
1. Introduction	36
2. Matériel et méthodes	37
2.2. Collecte de matériel biologiques.....	37
2.3. Isolement et purification des champignons pathogènes et antagonistes.....	38
2.4. Caractérisation morphologique des isolats pathogènes et antagonistes.....	39
2.6. Caractérisation moléculaire des champignons.....	41
2.7. Analyse phylogénétique.....	43
3. Résultats	46
3.1. Isolement de l'agent pathogène « <i>Fusarium spp.</i> »	46
3.2. Isolement de l'agent antagoniste « <i>Trichoderma spp.</i> »	46
3.3. Caractérisations morphologiques des isolats de <i>Fusarium spp.</i>	48
3.4. Caractérisations morphologiques des isolats de <i>Trichoderma spp.</i>	49
3.5. Identification moléculaire des isolats de <i>Fusariumspp.</i>	51
3.6. Identification moléculaire des isolats de <i>Trichodermaspp.</i>	51

3.7. Analyse phylogénétique des espèces de <i>Fusarium</i>	52
3.8. Analyse phylogénétique des espèces de <i>Trichoderma</i>	53
4. Discussion	57
5. Conclusion.....	60
Chapitre III : Pouvoir pathogène des <i>Fusarium</i> spp. et antagoniste des <i>Trichoderma</i> spp.....	62
1. Introduction	62
2. Matériel et Méthodes.....	63
2.1. Vitesse de croissance des isolats de <i>Fusarium</i> et de <i>Trichoderma</i> identifiées	63
2.2. Pouvoir pathogène des isolats de <i>Fusarium</i> identifiées.	63
2.3. Pouvoir antagoniste des isolats de <i>Trichoderma</i> identifiées.....	65
2.4. Analyse statistique	66
3. Résultats	67
3.1. Evaluation de la vitesse de croissance	67
3.2. Evaluation du pouvoir pathogène des isolats de <i>Fusarium</i> spp.	68
3.3. Evaluation du pouvoir antagoniste des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....	70
4. Discussion	77
5. Conclusion.....	80
Conclusion générale	82
Liste des références bibliographiques	88
Annexe 01 Chapitre 01 : Statistiques montrants l'importance économique de la culture des cucurbitacées au niveau nationale et régionale (Cas de Biskra)	109
Annexe 02 Chapitre 03 : Tableau analyse de la variance ANOVA à 95%	110
Annexe 03 Chapitre 03 : Evaluation du pouvoir pathogène es isolats de <i>Fusarium</i> spp. Par le teste de germination.	111
Annexe 04 Chapitre 03 : Evaluation du pouvoir antagoniste des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. Par le teste de confrontatio	112

**INTRODUCTION
GENERALE**



Introduction Générale

L'agriculture, qui a longtemps été la pierre angulaire de l'humanité, se trouve désormais à la croisée des opportunités et des responsabilités. Bien qu'elle joue un rôle central pour nourrir des milliards de personnes, elle est confrontée à de nombreux problèmes de durabilité qui nécessitent une attention urgente (Etienne, 1998). Le sol est le premier facteur de production, et son importance ne peut être sous-estimée. L'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) estime que 33 % des sols à l'échelle mondiale sont dégradés. Il faut souligner qu'un cm de sol met 150 ans pour se former, tandis que la dégradation peut survenir en seulement 10 minutes. Avec une population mondiale en constante augmentation, la pression sur les ressources agricoles s'intensifie. En 1960, on disposait de 0,33 hectare de terre agricole par personne ; aujourd'hui, ce chiffre est tombé à 0,16 hectare (FAO, 2017).

La dégradation des sols constitue un défi écologique mondial qui impacte directement les moyens de subsistance de millions de personnes, notamment les plus pauvres et vulnérables vivant dans des zones arides. Plus de 500 millions d'hectares de terres sont dégradés dans ces régions, ce qui compromet la capacité à augmenter la production alimentaire mondiale, essentielle pour répondre aux besoins d'une population croissante (Lal, 2001). Il est donc impératif de préserver la santé environnementale et la viabilité des zones d'activité économique. Cela nécessite des approches de gestion des sols qui prennent en compte toutes les composantes des ressources naturelles, notamment la terre, l'eau et la biomasse (UNCCD, 2017).

La durabilité des sols est un enjeu crucial pour l'agriculture moderne, notamment face aux défis posés par la monoculture et les pratiques agricoles intensives. Ces méthodes, qui visent à maximiser les rendements à court terme, compromettent la santé des sols et leur capacité à soutenir la production alimentaire à long terme (Garnett et al., 2013). La monoculture, en particulier, favorise l'accumulation de pathogènes du sol et la dégradation des écosystèmes, entraînant des conséquences néfastes sur la fertilité et la biodiversité du sol (López-Bellido et al., 2010).

Les systèmes de monoculture assurent un terrain fertile pour nombreuses maladies, telles que celles causées par les nématodes et les champignons du genre *Fusarium* et *Verticillium* ,...etc. (Pegg et Brady, 2002). Ces pathogènes, couplés aux effets de la

salinisation, posent un défi majeur pour la durabilité des systèmes agricoles contemporains (Miller et *al.*, 2008; Scherm et *al.*, 2014).

L'exemple le plus frappant dans les régions arides de l'Afrique du Nord est le Bayoud, fusariose vasculaire; c'est la plus grave maladie cryptogamique du palmier dattier dont l'extension provoque la disparition de millions de palmiers dattier au Maroc et en Algérie. Cette maladie est causée par le *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis* (F. o. albedinis) champignon du sol classé sur la liste "A2" de l'Organisation européenne et méditerranéenne pour la protection des plantes « OEPP » des organismes de quarantaines (OEPP/EPP. 1982), et sur la liste "A" des organismes nuisibles contre lesquels la surveillance et la lutte sont obligatoires en Algérie SN, 1995.

Le *Fusarium* est un genre de champignons ascomycètes décrit pour la première fois par Link (1809) sous le nom de *Fusisporium*. Les espèces de ce genre sont nombreux et peuvent être retrouvés dans les sol de toutes les zones climatiques à travers le monde en tant que pathogènes et saprobes (Summerell et *al.*, 2010; Summerell, 2019). Les espèces de ce genre peuvent provoquer directement des maladies non seulement chez les plantes, mais aussi chez les humains et les animaux domestiques (Leslie et Summerell, 2006). Les espèces de *Fusarium* provoquent une série de maladies qui affectent l'agriculture et l'horticulture dans toutes les parties du monde (Summerell, 2019) ; Notamment le flétrissement vasculaire, la brûlure de l'épi et des graines, la pourriture des tiges, la pourriture des racines et du collet et le chancre, certaines espèces pouvant provoquer simultanément des syndromes de maladies multiples ou se chevauchant en fonction de l'hôte et de l'environnement. (Summerell et Leslie, 2011).

Le genre *Fusarium* est un grand genre de forme fongique qui a plus de 200 ans. Tout au long de son histoire, le champignon a été connu pour ses pouvoirs pathogène sur les plantes et comptent parmi les pathogènes des végétaux les plus puissants au monde (Kristensen et *al.*, 2005 ; Azil et *al.*, 2021). L'examen de la liste des maladies des plantes maintenue par l'American Phytopathological Society (www.apsnet.org/online/common/search.asp) a mis en lumière que plus de 81 des 101 plantes d'importance économique répertoriées présentaient au moins une maladie liée au *Fusarium* (Wang et *al.*, 2011). Différentes espèces du genre *Fusarium* peuvent attaquer des plantes hôtes aussi diverses que le palmier dattier, le maïs, le blé, les bananes, les tomates, les mangues et en particulier les cucurbitacées (Summerell et Leslie, 2011).

Les cultures des Cucurbitacées jouent un rôle important économiquement, en particulier dans les régions sèches à travers le monde. Leur culture est répandue dans de nombreux pays dans le monde (Blancard et *al.*, 1991; Christenhusz et Byng, 2016), en Algérie elle est classée parmi les cultures maraichères stratégiques (Nouredine et *al.*, 2021). Elles montrent ces dernières années, une contribution significative de la production par rapport aux cultures maraichères, tant au niveau national qu'au niveau de la wilaya de Biskra. En 2021, les cucurbitacées représentaient 18,23% de la production totale de cultures maraichères en Algérie et 28,55% dans la wilaya de Biskra. Ces chiffres témoignent de l'importance croissante de ces cultures dans le secteur maraîcher, soulignant leur rôle essentiel dans l'économie agricole (DSA, 2021; MADR, 2021).

La région de Biskra (les Ziban) est située dans l'étage climatique saharien caractérisé par la faiblesse et l'irrégularité des précipitations, des fortes températures, une luminosité intense, et une forte évaporation (Chehma, 2011), cette région montre l'existence de plusieurs types de sols ; des sols gypseuses et salées au sud, des sols alluvionnaires argileux fertiles à l'Est, des sols peu évolués et peu fertiles au Nord et des sols argileux sodiques au Nord-Ouest (Boucetta, 2018). Les conditions climatiques de la région permettent de pratiquer les diverses cultures sous irrigation notamment les cucurbitacées (MERDADI, 2020). Les rendements des cucurbitacées par hectare à Biskra ont constamment dépassé ceux de l'ensemble de l'Algérie, atteignant 1965,64 quintaux/ha en 2014, contre 922 quintaux/ha au niveau national. Même avec une tendance à la baisse dans les dernières années, les rendements de Biskra en 2021 étaient encore supérieurs à la moyenne nationale (1095,15 quintaux/ha contre 1037 quintaux/ha). Ces chiffres montrent la contribution substantielle de Biskra à l'économie agricole nationale et son rôle crucial dans l'évolution positive de la production des cucurbitacées en Algérie (DSA, 2014; MADR, 2014 ; DSA, 2021; MADR, 2021). Malgré leur importance économiques et nutritionnelles ; Un large éventail d'agents pathogènes affecte la productivité des cucurbitacées, soit plus de 200 maladies (Blancard et *al.*, 1991; González et *al.*, 2020).

Les maladies peuvent être causées par des champignons, des bactéries et des virus. Les maladies peuvent être transmises par le sol, par les semences, par le vent ou par des insectes vecteurs. La teneur en eau des semences, la période de stockage, la température ambiante et le degré d'invasion influencent le développement des champignons transmis par les semences (Anjorin, et Mohammed., 2009). L'agent pathogène peut provoquer l'avortement et la pourriture des semences, la nécrose, la réduction ou l'élimination de la capacité de

germination ainsi que des dommages aux semis à des stades ultérieurs de la croissance de la plante, ce qui entraîne le développement de la maladie en tant qu'infection systémique ou locale (Parmar et Gohel, 2023).

Au cours des 20 dernières années, une aggravation préoccupante de certaines pathologies a été observée. En particulier, l'incidence et la gravité des pourritures affectant les racines et les tiges des cucurbitacées ont connu une hausse significative. De même, le flétrissement de ces plantes a pris une ampleur grandissante, devenant un facteur limitant majeur pour de nombreuses cultures intensives de cucurbitacées. Ces maladies peuvent entraîner la mort soudaine et la destruction complète des plants, donc ; entraînent de lourdes pertes en termes de rendement et de qualité. (Chehri et *al.*, 2011; Sharma et *al.*, 2016 ; Pfeufer, 2021; Gauthier et Munir, 2023). Les agents pathogènes les plus dommageables induisent ce type de symptômes, sont les espèces appartenant au genre *Fusarium* (Seo et Kim, 2017).

Ce genre de champignons pathogènes du sol profite particulièrement des conditions chaudes et humides pour se développer et provoquer des épidémies dévastatrices. Dans ces circonstances climatiques favorables, les cultures de cucurbitacées affectées par les *Fusarium* spp. peuvent subir des pertes de rendement considérables, allant jusqu'à la mortalité rapide de nombreux plants (Moumni et *al.*, 2020). De plus, les *Fusarium* sont capables de survivre même dans les environnements très froids de l'hiver, grâce à la protection offerte par ces cultures (Seo et Kim, 2017). Les plantes sont généralement infectées par le système racinaire, le champignon obstruant le système vasculaire et réduisant ou empêchant l'écoulement de l'eau des racines vers la plante supérieure, ce qui entraîne le flétrissement de la plante (Summerell et *al.*, 2010).

La facilité de diffusion des champignons du genre *Fusarium* constitue également un enjeu majeur pour la gestion des cultures et des sols. Ces pathogènes se propagent facilement par le biais de spores, de racines infectées et de matériel végétal contaminé. Les spores de *Fusarium* peuvent être transportées par le vent, l'eau et même par les outils agricoles, rendant leur contrôle particulièrement difficile (Burgess et *al.*, 1994). De plus, la résistance de certains de ces champignons aux conditions environnementales extrêmes leur permet de survivre dans des sols dégradés et de se répandre rapidement dans de nouvelles zones, aggravant non seulement les problèmes phytosanitaires dans les systèmes agricoles mais aussi les contaminations des sols qui seront non cultivable selon le degré de l'infection (Wang et *al.*, 2016).

Le seul facteur commun à tous les scénarios des maladies, indépendamment de l'espèce de *Fusarium* ou de la culture concernée, est que les options de contrôle sont généralement limitées et difficiles à mettre en œuvre (Salhi et *al.*, 2015; Debbi et *al.*, 2018; Abd Ali et *al.*, 2021; Engalycheva et *al.*, 2024;).

La plupart des pratiques de contrôle recommandées pour les maladies des plantes causées par le *Fusarium* dépendent soit de modifications des pratiques agronomiques (par exemple, le labour ou la réduction des résidus de l'hôte, la rotation vers un ou des hôtes autres que celle préférée par le pathogène spécifique , ou par le développement d'une résistance de l'hôte et la régulation du pH de sol) (Tuttle McGrath, 2004). Les mesures de lutte chimique ont échoué de manière spectaculaire contre les maladies à *Fusarium* et il existe très peu de fongicides actuellement disponibles qui pourraient être décrits comme des stratégies de lutte économiquement efficaces contre ces maladies. (Karthiga et *al.*, 2023).

D'un autre part l'utilisation des fongicides de synthèse reste une des méthodes les plus utilisées, néanmoins elle peut contribuer au développement de souches résistantes aux fongicides. Cependant, la pratique de la culture dans des environnements inadaptés a également augmenté la prévalence et la gravité de certaines maladies fongiques (Booth, 1971; Sharma et *al.*, 2016; Seo et Kim, 2017) .

Pour le flétrissement fusarien des cucurbitacées, aucun fongicide n'est disponible dans le commerce pour lutter efficacement contre la maladie, mais l'utilisation des variétés résistants est suggérée comme stratégie de lutte efficace et respectueuse de l'environnement (Freeman et *al.*, 2002). La production des cucurbitacées avec des plants greffés a été pratiquée pendant une longue période à partir de 1920, et actuellement c'est devenu une pratique courante (constituant environ 96% de la propagation totale des plantes) (Karthiga et *al.*, 2023). Également le recour à les cultiver pendant l'hiver pour prévenir le flétrissement fusarien causé par certaines sous espèces de *F. oxysporum* c'est une autre façon de minimiser les risques de ces maladies (Lee JungMyung et Oda, 2003; Kim et *al.*, 2005).

L'utilisation aveugle des fongicides à base de produits chimiques pour lutter contre les maladies fongiques et spécialement causées par les *Fusarium* spp. a soulevé de graves inquiétudes quant à la santé des écosystèmes (Gerhardson, 2002; Bernhardt et *al.*, 2017; Ambrico et *al.*, 2020). De plus, les agents pathogènes sont devenus insensibles à ces produits chimiques, ce qui nécessite une utilisation excessive de produits chimiques pour un contrôle adéquat. Les fongicides contribuent fortement à l'écotoxicité de l'eau douce, à l'écotoxicité

terrestre, à la toxicité humaine et à l'eutrophisation de l'eau douce pour les fruits et légumes.(Tsalidis, 2022).

Comme alternative aux fongicides conventionnels, de nombreuses espèces microbiennes sont utilisées comme agents de lutte biologique pour lutter contre les agents pathogènes des divers cultures (Smolińska et Kowalska, 2018). Parmi ces micro-organismes antagonistes aux champignons pathogènes transmis par le sol, les espèces du genre *Trichoderma*. Elles sont des champignons saprophytes cosmopolites se trouvent dans la plupart des sols, des bois en décomposition et de la matière organique (Zeilinger et *al.*, 2016; Adnan et *al.*, 2019).

Les champignons du genre *Trichoderma* appartient à un grand groupe de champignons filamenteux , ils sont des ascomycètes à spores vertes du sol que l'on trouve partout dans le monde (Barman et *al.*, 2021). *Trichoderma* spp. sont des champignons antagonistes, qui sont des colonisateurs omniprésents de matières cellulosiques et peuvent donc souvent être trouvés où du matériel végétal en décomposition est disponible (Kubicek et *al.*, 2008; WM, 2009) ainsi que dans la rhizosphère des plantes, son action bénéfique ne se limite pas à la lutte contre les agents pathogènes également ils peuvent induire aux plantes une résistance systémique contre les agents pathogènes (Yedidia et *al.*, 1999b; Harman, 2000; Shores et *al.*, 2010). Les *Trichoderma* spp. se caractérisent par une croissance rapide, principalement des conidies vert vif et une structure conidiophore ramifiée de façon répétitive (Gams et Bissett, 2002; Schuster et Schmoll, 2010).

les *Trichoderma* spp sont utilisés comme agents phytosanitaires naturels (Biofongicides) et qui sont largement utilisés en agriculture pour contrôler les agents pathogènes particulièrement du sol (Barman et *al.*, 2021; Guzmán-Guzmán et *al.*, 2023). Ils contrôle la pathogénicité par différents mécanismes, notamment : le mycoparasitisme, la sécrétion de métabolites secondaires, la sécrétion d'antibiotiques et la compétition pour les nutriments et l'espace (Asad, 2022; Atanasova et *al.*, 2013; Horbach et *al.*, 2011). Les espèces de *Trichoderma* sont connues depuis longtemps pour être des antagonistes actifs contre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Cochliobolus heterostrophus*, *Colletotrichum acutatum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii*, *Alternaria alter* (Asad et *al.*, 2015; Lamdan et *al.*, 2015; Asad, 2022).

Une interaction typique de *Trichoderma* avec le *Fusarium* implique l'attraction, l'attachement, l'enroulement et la lyse par des enzymes hydrolytiques ou des métabolites

secondaires (Mukherjee et *al.*, 2012; Sharma et Sharma, 2020). La fixation de *Trichoderma* sur le *Fusarium* s'accompagne de la formation de structures en forme de papilles appelées appressoria, qui s'enroulent autour des hyphes de l'hôte. L'attachement des preuves génétiques des deux partenaires (*Trichoderma* et *Fusarium*) n'est pas bien compris (Mukherjee et Kenerley, 2010; Druzhinina et *al.*, 2011). Les enzymes hydrolytiques, telles que les chitinases et les glucanases, et les antibiotiques sont les facteurs chimiques les plus importants produits par les *Trichoderma* spp. pour tuer les *Fusarium* pathogènes. Ce sont des enzymes cellulaires qui jouent un rôle majeur dans le mycoparasitisme ou le biocontrôle (Djonovic et *al.*, 2007). Outre les chitinases et les glucanases, les protéases sont induites pendant le mycoparasitisme et sont utiles pour le biocontrôle (Borkovich et Ebbole, 2010). Une autre classe d'enzymes appelées laccases est signalée dans les sclérotes de *Trichoderma virens* et est également impliquée dans le mycoparasitisme (Catalano et *al.*, 2011). Certaines espèces de *Trichoderma*, comme *T. pseudokoningii*, participent à la mort cellulaire programmée chez le *Fusarium* (Shi et *al.*, 2012). Un métabolite volatil appelé 6-pentyl-2H-pyran-2-one (6-PP) isolé de *Trichoderma atroviride* joue un rôle important dans les interactions entre *Trichoderma* et *Fusarium* (El-Hasan et *al.*, 2008; Vinale et *al.*, 2009). Dans une étude récente, l'interaction entre *Fusarium* et *Trichoderma* implique un parasitisme direct du *Fusarium* via la production d'exoenzymes et de composés organiques volatils de *T. harzianum* ; ces caractéristiques antifongiques sont induites et régulées à la hausse en présence de *F. oxysporum* (Zhang et *al.*, 2014). Sur la base de ces interactions, diverses études sont menées par des biologistes de la rhizosphère sur différentes cultures qui sont généralement très sensibles à la fusariose. Selon Druzhinina et *al.*, (2012), le genre *Trichoderma* est l'un des principaux champignons qui possède le plus grand nombre de protéases, qui sont impliquées dans le mycoparasitisme des champignons pathogènes. De ce fait les *Trichoderma* spp. produisent une résistance systémique chez les plantes par le biais du mycoparasitisme via diverses voies de signalisation qui sont activées par le contact des récepteurs avec les ligands dérivés de l'hôte.

Une identification précise des champignons est nécessaire pour toutes les recherches et applications mycologiques. Elle nous permet de prédire les propriétés bénéfiques ou pathogènes des souches fongiques individuelles, de surveiller leur distribution et d'établir des mesures de sécurité (Schoch et *al.*, 2012; Vu et *al.*, 2019). La précision de l'identification fongique est souvent entravée par le développement de la taxonomie sous-jacente (Lücking et *al.*, 2020). Chez les champignons, qui constituent l'un des groupes d'eucaryotes les plus diversifiés avec une diversité prédite de plusieurs millions d'espèces (Choi et Kim, 2017;

Hawksworth et Lücking, 2017). La délimitation des espèces est obstruée par les difficultés de définition des limites des organismes fongiques individuels ou des populations (Cai et Druzhinina, 2021).

Étant donné que la majorité des isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma* ne peuvent être identifiés au niveau de l'espèce par les seules méthodes morphologiques traditionnelles (erreurs d'identification de 33 à 50 %), qui sous-estiment considérablement la diversité des espèces (Schuster et Schmoll, 2010). Les outils moléculaires basés sur les séquences d'ADN sont de plus en plus utilisés pour permettre une détermination précise des espèces (Wang et al., 2011). Ces techniques ont permis un redémarrage virtuel de la taxonomie fongique basée sur le nouveau niveau de précision (Lücking et al., 2020), et un succès sans précédent en matière d'unification et de normalisation a été obtenu. Les techniques moléculaires ont également conduit à la découverte de la diversité fongique cachée (Taylor, 2011; May et al., 2019). La reconnaissance d'un plus grand nombre d'espèces est considérée comme une pratique utile, car elle conduit à un diagnostic précis et exact des agents pathogènes potentiels, à la prédiction des propriétés bénéfiques et à une meilleure compréhension globale de la diversité et de l'écologie fongiques (Bajpai et al., 2019; Hyde et al., 2019). La nécessité d'identifier les souches et de leur attribuer des noms est aussi forte, voire plus forte, pour le *Fusarium* que pour n'importe quel autre genre de champignon (Leslie et Summerell, 2006; Crous et al., 2021).

Les espèces de *Fusarium* présentent une grande variabilité génétique et pathogène. La structure de ce genre est basée sur des clades monophylétiques appelés complexes d'espèces (O'Donnell et al., 2012). À l'heure actuelle, le genre *Fusarium* comprend plus de 400 espèces phylogénétiques, réparties dans 23 sous complexes (O'Donnell et al., 2012; Geiser et al., 2021). Dans les études sur l'identification correcte des champignons du genre *Fusarium*, les marqueurs les plus informatifs sur le plan phylogénétique sont les séquences nucléotidiques du gène *TEF1- α* codant le facteur d'élongation de la traduction 1 alpha (Kristensen et al., 2005; O'Donnell et al., 2015), ainsi, les marqueurs basés sur l'ITS peuvent être utilisés avec succès comme marqueurs d'ADN supplémentaires dans l'analyse phylogénétique des espèces de *Fusarium* spp. (White et al., 1990; Wang et al., 2019 a; Engalycheva et al., 2024).

La première description d'un champignon nommé *Trichoderma* remonte à 1794 et, en 1865. (Schuster et Schmoll, 2010). Certaines espèces de *Trichoderma* présentent une morphologie et des caractéristiques culturelles similaires ne suffit pas à définir clairement et précisément les espèces appartenant au ce genre (Savitha et Sriram, 2015; Siddiquee, 2017)

C'est pourquoi les méthodes morphologiques doivent être utilisées conjointement avec les techniques moléculaires. L'identification et la classification précises, exactes et rapides des espèces du genre *Trichoderma* font toujours l'objet d'études intensives.(Gezgin et *al.*, 2023).De nouvelles espèces de *Trichoderma* isolées dans différentes régions géographiques sont en augmentation et de nouvelles séquences nucléotidiques de ces nouvelles espèces ont été obtenues (Gal-Hemed et *al.*, 2011; Oskiera et *al.*, 2015). L'espaceur transcrit interne du ribosome nucléaire (ITS) est la région génique la plus fiable utilisée pour l'identification des *Trichoderma* au niveau de l'espèce. Les différences entre des espèces étroitement apparentées peuvent être détectées à l'aide de cette région génique. Outre ce gène, le gène du facteur d'élongation de la traduction 1 (TEF-1) est également utilisé pour l'identification des espèces et il reflète les différences entre les espèces étroitement apparentées. Des études ont montré que la plupart des définitions au niveau de l'espèce sont faites de manière claire et précise en utilisant conjointement les régions des gènes ITS et TEF-1.(Kullnig-Gradinger et *al.*, 2002 ; Anees et *al.*, 2010).

L'objectif principal de cette thèse est de mettre en lumière la véracité des différentes espèces de *Fusarium* par les outils de biologie moléculaire et leur capacité pathogène sur les cultures de Cucurbitacées dans la région de Biskra en Algérie. Elle met en évidence également la potentialité d'autres espèces fongiques indigènes antagonistes, notamment *Trichoderma* spp. et leur efficacité potentielle dans la réduction des dégâts provoqués par le *Fusarium*, comme alternative aux fongicides chimiques largement utilisés dans notre région. Cette approche a des répercussions directes sur les agriculteurs et la sécurité alimentaire, tout en améliorant la résilience des cultures face aux maladies et en restaurant l'équilibre biologique des sols. Nous mettons également un point d'honneur à favoriser des pratiques agricoles respectueuses de l'environnement. Cette étude permet de contribuer à la préservation de la santé des écosystèmes tout en assurant la durabilité des sols et de l'agriculture

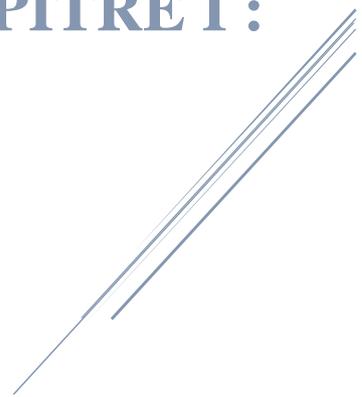
Pour aborder cette problématique, plusieurs questions de recherche se posent :

- Quel est l'importance économique de la culture des cucurbitacées dans la région de Biskra, ainsi leur situation phytosanitaire ?
- Quelle est la maladie fongique la plus dangereuse qui menace cette culture ?
- Quelles sont les caractéristiques de cette maladie causée par l'agent pathogène « le *Fusarium* » ainsi que ces symptômes et les principaux facteurs favorisant son développement ?

- Quelle sont les stratégies de lutte suivie par les agriculteurs de la région contre la maladie de la fusariose ?
- Quelles sont les espèces de *Fusarium* impliquées dans cette fusariose et comment peut-on les identifier précisément au niveau moléculaire ?
- Quelles espèces de *Trichoderma* spp. isolées de la région sont capables de lutter efficacement contre ces *Fusarium* spp?
- Par quels mécanismes les *Trichoderma* spp. exercent leur activité antagoniste contre les *Fusarium* spp.?

CHAPITRE I :

Donnés générales sur la Fusariose des cucurbitacées



Chapitre I : Données générales sur la Fusariose des cucurbitacées

1. Introduction

La région de Biskra s'est affirmée comme un véritable pôle agricole émerge ces dernières années, illustrant ainsi le succès de l'agriculture sous serre dans le sud de l'Algérie, avec une contribution de 37 % à la production nationale de légumes. Au cours des deux dernières décennies, on a observé une croissance constante, particulièrement marquée, de la superficie et de la production des serres. La culture des Cucurbitacées est l'une des cultures pratiquées les plus importantes. Biskra se positionne en première place en termes de production de cucurbitacées en Algérie. Ces données soulignent l'importance économique de cette culture à la fois au niveau national et régional, notamment dans la région de Biskra (DSA, 2021 et MADR, 2021).

En dépit de leur importance capitale, ces cultures font face à divers défis, tels que les maladies fongiques. Le présent chapitre est pour but principal de repérer les principales maladies fongiques auxquelles les cucurbitacées sont exposées dans la région de Biskra, leurs principales causes et les moyens d'intervention pour les combattre ; à travers la présentation et la discussion de l'ensemble des résultats obtenus à partir des enquêtes sur terrain auprès des agriculteurs pratiquants les cucurbitacées ainsi quelques importants grainetiers de la région.

2. Matériel et Méthodes

Afin d'acquérir un maximum d'information sur la culture des cucurbitacées en générale et ces maladies fongiques en particulier, nous avons mené des enquêtes par entretien et questionnaires en face à face avec différentes parties de la filière : Le personnel de la direction des services agricole (DSA) de la wilaya de Biskra, Le personnel de la ministère de l'agriculture (MADR) ,les grainetiers ou les vendeurs de produits phytosanitaires et les agriculteurs le principal acteur dans notre enquête.

La figure 01 illustre le schéma récapitulatif des différentes parties enquêtées.

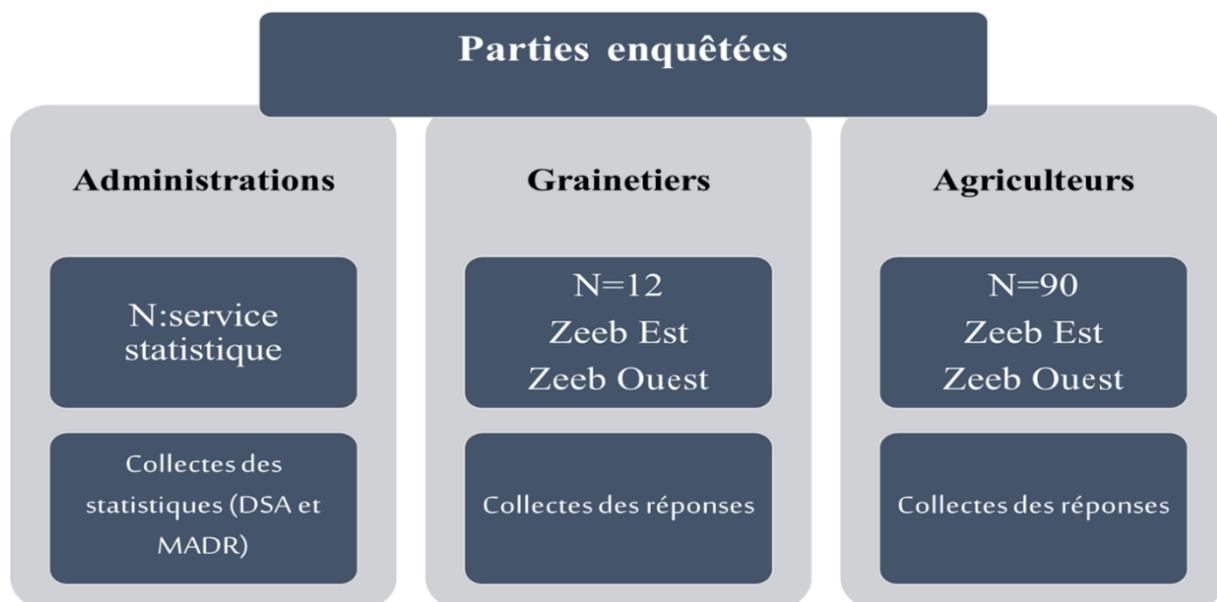


Figure 1: Schéma récapitulatif des différentes parties enquêtées.

2.1. Enquête auprès de DSA et MADR

Des visites programmées ont été menées durant l'année 2021, 2022 et 2023 aux seins de la direction des services agricoles (DSA) et le ministère de l'agriculture (MADR) pour des données statistiques concernant les superficies, les productions et les rendements de la culture des cucurbitacées.

2.2. Enquête auprès des grainetiers

Cette enquête a été nécessaire en raison du fait que les vendeurs de produits phytosanitaires ou les grainetiers nous semblaient les plus aptes à fournir des réponses fiables pour quelques contextes, tels que le contexte scientifique et technique comme le diagnostic des maladies et la connaissance des matières actives des fongicides utilisés.

Notre enquête avec cette catégorie des enquêtées, conduite en Juin et Juillet 2021, s'est faite auprès de 12 grainetiers potentiels distribués dans les deux Zeeb Ouest et Est et la ville de Biskra :

- Zeeb Ouest : Doucen (1), Laghrous (1), Lioua (1) et Bir Naam (1).
- Zeeb Est : Sidi Okba (1), Ain Naga (2), M'Ziraà (2) et Zeribet El Oued (1)
- Biskra ville : (2)

2.3. Enquête auprès des agriculteurs

Une enquête a été menée dans la wilaya de Biskra et la wilaya de Ouled Djellal durant la période de Janvier à Mars 2022. L'étude a utilisé des entretiens en face à face, à l'aide de l'outil « Questionnaire », pour recueillir des données auprès d'agriculteurs cultivant des cucurbitacées SOUS SERRE, notamment le concombre, la courgette, le melon et la pastèque.

2.3.1. Présentation de l'échantillon

L'échantillon enquêté était constitué de 90 agriculteurs représentant 90 exploitations choisit dans le Zeeb Ouest et le Zeeb Est ; sur un totales de 09 zones : 04 zones avec 35 enquêtés pour le premier et 05 zones avec 55 enquêtés pour le deuxième. La figure 02 montres les zones de déroulement de l'enquête.

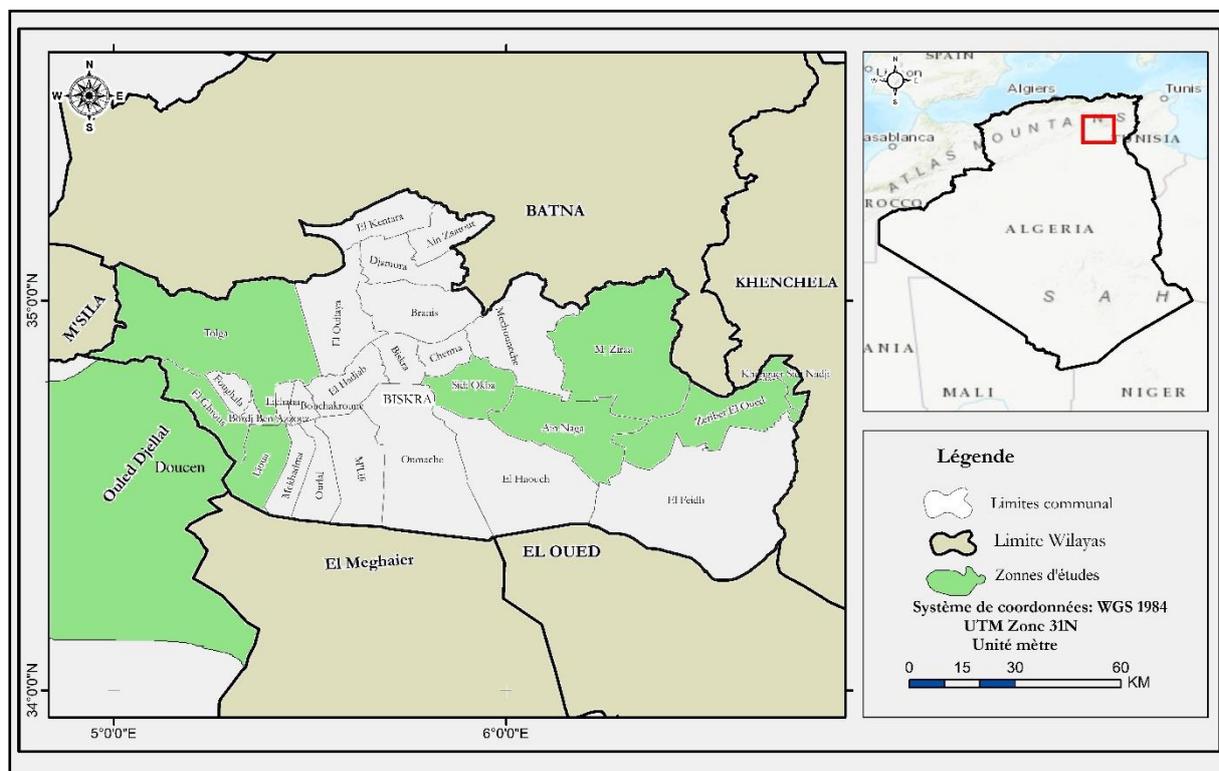


Figure 2: Carte des zones de déroulement de l'enquête avec les agriculteurs (Photo original, 2023).

2.3.2. L'outil « Questionnaire »

L'outil « Questionnaire » structuré sous forme des questions directe fermés et ouvertes qui visent à renseigner les diverses informations des itinéraire techniques des cucurbitacées dont les principales maladies fongiques précisément les maladies fongiques racinaires ces méthodes de lutte ainsi le recoure des agriculteurs aux autres moyennes de lutte alternative (Biologiques).

La première version du « Questionnaire » comportait 16 pages, qui ont été simplifiées à 9 pages, initialement préparées en français et ensuite traduites en arabe en utilisant une terminologie simple (parfois en utilisant le vocabulaire local) afin qu'elles puissent être remplies par les agriculteurs pratiquants les cucurbitacées. Au total, environ 95 questions ont été posées. Seules les données issues des réponses au questionnaire qui sont étroitement liées au sujet de cette étude et qui peuvent enrichir et/ou étayer les différents résultats analytiques qui nous permettent d'identifier enfin la maladie racinaire qui fera l'objet des prochains chapitres de cette thèse seront discutées.

Seules les questions importantes des questionnaires des grainetiers et des agriculteurs qui nous ont précisément conduits à l'objectif de cette enquête seront abordées dans cette thèse, résumées dans les 26 questions suivantes.

- Exploitant et Exploitation
 1. Age des agriculteurs enquêtés.
 2. Niveau d'instruction.
 3. Formation en agriculture.
 4. L'activité agricole principale.
 5. Expérience en maraichage.
 6. Superficie de l'exploitation (ha).
- Aperçu sur les cucurbitacées dans la région de Biskra.
 1. Espèces Cucurbitacées cultivées.
 2. Emplacement des cultures.
 3. Mode de plantation.
 4. Les plants repiqués.
 5. Fertilisation.
 6. Les principales maladies fongiques des cucurbitacées.

- Infection des cucurbitacées par le fusarium dans la région de Biskra.
 1. Les symptômes induits par le Fusarium.
 2. Sources d'infestation par le Fusarium.
 3. Les pertes de rendement dues aux infections par le Fusarium.
 4. Méthode de lutte contre le Fusarium.
 5. Les principaux matières actives des fongicides utilisé par les agriculteurs.
 6. Connaissance des agriculteurs par les matières actives.
 7. Type de lutte contre le Fusarium.
 8. La fréquence d'apparition de la maladie de la fusariose.
 9. L'efficacité des fongicides chimiques utilisés contre le fusarium sont moins en moins efficaces.
- Les fongicides biologiques, une alternative pour les fongicides chimiques.
 1. Conscience des agriculteurs par les effets néfastes des produits phytosanitaire chimique
 2. Connaissance des produits phytosanitaires biologiques.
 3. Commercialisation des fongicides biologiques contre le Fusarium.Si oui ;
A base de quoi :
 4. Efficacité des produits phytosanitaires biologiques par rapport aux produits chimiques.
 5. La demande sur les fongicides biologiques par les agriculteurs.

2.3.3. Déroulement de l'enquête

L'enquête a eu lieu pendant la saison agricole 2021/2022. Il fallait entre 1 et 3 heures pour compléter le questionnaire en fonction de la disponibilité des agriculteurs, ce qui limite le nombre des agriculteurs.

2.3.4. Codage, saisie des variables et analyses statistiques

Les 26 questions/réponses ont été codées en 48 variables entre qualitatives (nominales) et quantitatives (numériques et ordinales). Le traitement des données de cette enquête a été effectué grâce au logiciel SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) version 25.0 et la construction des graphiques descriptives a été réalisée à l'aide de l'Excel version 2019.

3. Résultats

3.1. Importance économique de la culture des cucurbitacées dans la région de Biskra

3.1.1. Evolution de la production des cucurbitacées au cours la période 2000-2021.

L'évolution de la production des cucurbitacées à Biskra et en Algérie entre 2000 et 2021 (Figure 3 et Annexe 1), révèle des tendances intéressantes et significatives, où la production des cucurbitacées à a connu des évolutions marquées par des fluctuations notables, avec des tendances à la hausse dans les deux cas. En 2000, la production des cucurbitacées à Biskra était de 502 130 quintaux, représentant une part significative de la production nationale qui s'élevait à 5 043 650 quintaux. Cependant, à Biskra, la production a diminué au cours des trois années suivantes, atteignant un minimum de 371 400 quintaux en 2003, tandis que la production nationale augmentait de manière constante pour atteindre 8 233 690 quintaux.

À partir de 2012, la production à Biskra a connu une forte reprise, atteignant 721 495 quintaux cette année-là, et continuant de croître pour atteindre 985 054 quintaux en 2015 et 1 427 531 quintaux en 2016. Cette période de croissance à Biskra a contribué à l'augmentation de la production nationale, qui a atteint 22 712 222 quintaux en 2015 et 22 872 113 quintaux en 2016. La tendance positive à Biskra s'est poursuivie de manière plus marquée à partir de 2017, avec une production atteignant 1 207 618 quintaux cette année-là, puis augmentant significativement en 2018 et 2019 avec respectivement 2 588 165 et 3 082 167 quintaux. En 2020, la production à Biskra a marqué le sommet de la période étudiée avec une production impressionnante de 3 298 699 quintaux, alors que la production nationale s'élevait à 29 064 976 quintaux.

En 2021, bien qu'une légère baisse soit observée à Biskra, la production restait élevée à 2 605 305 quintaux, surpassant la plupart des années précédentes. La production nationale a quant à elle enregistré une légère baisse à 26 636 150 quintaux.

La figure 03 (A -B) et l'annexe 01 représentent tous les détails cités ci-dessus.

3.1.2. Evolution des rendements des cucurbitacées au cours la période 2011 -2021.

Au cours de la période allant de 2011 à 2021, l'évolution des rendements par hectare des cucurbitacées en Algérie et dans la wilaya de Biskra révèle des tendances distinctes et significatives (Figure 03 (C -D) et Annexe 1).

En Algérie, les rendements des cucurbitacées par hectare ont connu une augmentation progressive, passant de 705 quintaux/ha en 2011 à 1037 quintaux/ha en 2021. Cette amélioration constante sur une décennie, bien que modeste, démontre une tendance générale à la hausse malgré quelques fluctuations annuelles, avec des pics notables en 2014 (922 quintaux/ha) et 2018 (1079 quintaux/ha). D'un autre côté l'importance des rendements des cucurbitacées de Biskra dans la production nationale est indéniable. Les rendements par hectare à Biskra ont constamment dépassé ceux de l'ensemble de l'Algérie, souvent par des marges substantielles. Par exemple, en 2018, Biskra affichait un rendement de 1894,02 quintaux/ha, comparé à 1079 quintaux/ha pour l'ensemble du pays. Cette performance exceptionnelle de Biskra contribue de manière significative à l'augmentation globale des rendements nationaux et souligne le rôle crucial de la région dans la production de cucurbitacées en Algérie.

En comparaison, les rendements à Biskra ont présenté des valeurs nettement plus élevées et une variabilité plus marquée. En 2011, Biskra enregistrait déjà un rendement de 1643,99 quintaux/ha, plus du double du rendement moyen national. Le rendement a atteint un sommet en 2014 avec 1965,64 quintaux/ha. Cependant, une tendance à la baisse est observée dans les dernières années de la période, culminant à 1095,15 quintaux/ha en 2021. Malgré cette baisse, les rendements de Biskra restent supérieurs à la moyenne nationale.

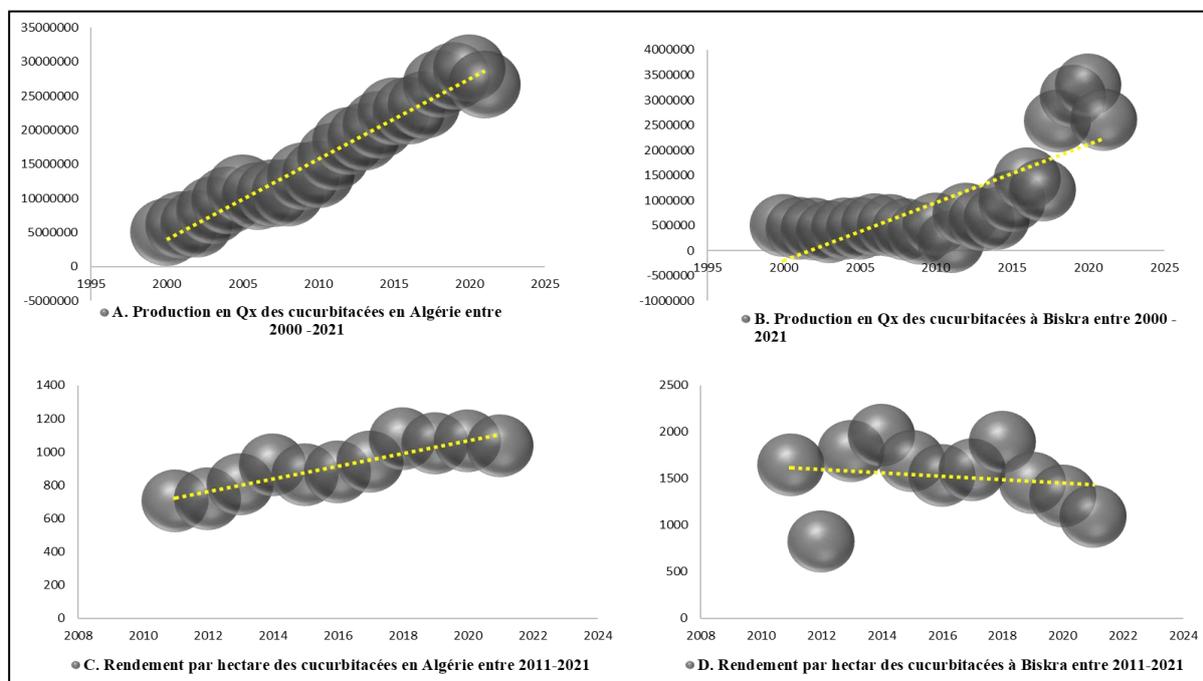


Figure 3: Figure montre l'importance économique de la culture des cucurbitacées au niveau nationale et régionale (Cas de Biskra) : A. Production en Qx des cucurbitacées en Algérie entre 2000 -2021, B. Production en Qx des cucurbitacées à Biskra entre 2000 -2021.

3.2. Situation socio-économique des agriculteurs

3.2.1. Age et niveau d'instruction des agriculteurs enquêtés

Les résultats obtenus et présentés sur le tableau 01 montrent que les pratiquants des cultures maraichères en générales et des cultures des cucurbitacées en particulier sont des hommes ce qui rend cette activité purement masculine. Pour l'ensemble des enquêtés, l'âge varie de 25 et 64 ans avec une moyenne de $42,23 \pm 10,75$ ans. La catégorie pratiquant ces cultures est considérée comme jeune, car plus de la moitié des agriculteurs enquêtés ont un âge entre 35 ans et 54 ans. Considérant le niveau scolaire, (11.8%) des enquêtés n'ont reçu aucune instruction (analphabètes) et (61.4 %) sont instruits, dont (20.6%) ont atteint le niveau primaire, (26.5 %) le niveau moyen, (19.6 %) le niveau secondaire, alors qu'un cinquième d'entre eux (21.6%) sont des universitaires.

3.2.2. Activité agricole principale

Concernant la principale activité agricole des agriculteurs enquêtés. La grande majorité des participants (98 %) déclarent que le maraîchage est leur activité agricole principale, tandis que seulement 2 % se consacrent à la phoeniciculture.

3.2.3. Expériences en maraîchage

En termes de leurs expériences en maraîchage, 6 % des participants ont moins de 5 ans d'expérience. Ceux ayant entre 6 et 10 ans d'expérience représentent 27 %, tandis que le groupe ayant entre 11 et 15 ans constitue 44 % des répondants. Les participants ayant entre 16 et 20 ans d'expérience représentent 23 %, et seulement 2 % ont plus de 20 ans d'expérience. La moyenne d'expérience en maraîchage est située autour de 12 ans, avec un intervalle d'expérience allant de moins de 5 ans à plus de 20 ans (Tableau 01).

3.2.4. Formation en Agriculture

Les résultats de l'enquête révèlent une disparité significative en matière de formation en agriculture parmi les agriculteurs interrogés. En effet, seules 12,7% des personnes interrogées ont déclaré avoir reçu une formation formelle en agriculture. Cette minorité représente les individus qui ont bénéficié d'un enseignement structuré et spécialisé dans les pratiques agricoles, ce qui pourrait leur conférer un avantage en termes de connaissances techniques et de compétences pratiques. En revanche, la majorité écrasante, soit 87,3% des répondants, n'a pas bénéficié d'une telle formation (Tableau 01).

3.2.5. Superficie de l'exploitation agricole

En ce qui concerne la superficie de l'exploitation agricole, 42,2 % des participants possèdent des grandes exploitations de plus de 10 hectares. Les moyennes exploitations, de 6 à 10 hectares, représentent 40,2 % des répondants. Les petites exploitations, de 1 à 5 hectares, comptent pour 15,7 % des enquêtés, tandis que les très petites exploitations, de moins de 1 hectare, ne représentent que 2 %. La moyenne des superficies des exploitations se situe autour de 8 hectares, avec un intervalle allant de moins de 1 hectare à plus de 10 hectares (Tableau 01).

Tableau 1: Caractérisation de la situation socio-économique des agriculteurs.

Caractéristiques	Pourcentage des enquêtés (%)	
Age	25-34	21,6
	35-44	32,4
	45-54	32,4
	55-64	13,7
Niveau d'instruction	Alphabète	11,8
	Primaire	20,6
	Moyen	26,5
	Secondaire	19,6
	Universitaire	21,6
Activité agricole principale	Phoeniculture	2
	Maraichage	98
Expérience en maraichage	<5 ans	6
	6-10 ans	27
	11-15 ans	44
	16-20 ans	23
	>20 ans	2
Formation en agriculture	Oui	12,7
	Non	87,3
Superficie de l'exploitation (ha)	>10 ha Grand exploitation	42,2
	6-10 ha Moyenne exploitation	40,2
	1-5 ha Petite exploitation	15,7
	<1 ha Très petite exploitation	2

3.3. Analyse de la culture de cucurbitacées à Biskra

Cette partie des résultats de l'enquête sur les cucurbitacées cultivées dans la région de Biskra révèlent plusieurs tendances et pratiques agricoles distinctes. Ce qui nous a permis d'analyser les principaux points qui nous amènent à notre objectif.

3.3.1. Espèces cultivées

En ce qui concerne les espèces de cucurbitacées cultivées, le melon domine largement avec un pourcentage de 47,1%, suivi par la pastèque à 21,9%. Le concombre et la courgette représentent respectivement 17,1% et 13,9% des cultures. Ces données indiquent une préférence marquée pour le melon parmi les agriculteurs de la région (Figure 04-A).

3.3.2. Emplacement des cultures

L'emplacement des cultures de cucurbitacées montre une prédominance des serres, avec 83,3% des cultures protégées sous serre. Seulement 3,9% des cultures se trouvent en plein champ, tandis que 12,7% utilisent les deux méthodes. Cette forte utilisation des serres pourrait être liée aux conditions climatiques de Biskra, offrant un contrôle plus précis sur les facteurs environnementaux (Figure 04-B).

3.3.3. Mode de plantation

En termes de mode de plantation, la majorité des agriculteurs (82,4%) préfère utiliser des plants non greffés, contre 14,7% qui optent pour les semis et seulement 2,9% utilisant des plants greffés. L'utilisation élevée des plants non greffés peut être le résultat de la cherté des plants greffés (Figure 04-C).

3.3.4. Type de fertilisation

Pour ce qui est du type de fertilisation, une combinaison des deux types (organique et minéral) est largement privilégiée, avec 96,1% des agriculteurs utilisant cette méthode. Seuls 2,9% utilisent exclusivement des fertilisants organiques et 1% des fertilisants minéraux seuls. Cette approche combinée pourrait offrir un équilibre optimal entre la nutrition des plantes et la durabilité environnementale (Figure 04-D).

3.3.5. Principales maladies fongiques

Les principales maladies fongiques affectant les cucurbitacées montrent que l'infection par le Fusariose est la plus courante, touchant 40,8% des cultures. Elle est suivie par le Botrytis (22,3%), l'Oïdium (20,6%) et le Mildiou (16,3%). La prévalence de ces maladies souligne la nécessité de mesures de gestion efficaces pour protéger les cultures et assurer une production agricole saine (Figure 04-E).

3.4. Données générales sur les infections des cucurbitacées par le Fusariose

Les agriculteurs de la région de Biskra font face à plusieurs défis majeurs dans la gestion de la fusariose, un problème de plus en plus fréquent qui impacte sévèrement les cultures de cucurbitacées.

3.4.1. Symptômes clés pour l'identification de Fusariose par les agriculteurs

Dans le cadre de l'identification des maladies affectant les cucurbitacées, les agriculteurs se basent sur plusieurs symptômes pour diagnostiquer une infection par le Fusarium. Le symptôme le plus fréquemment observé est le flétrissement des plantes, a été comme le symptôme clé pour environ 38,3 % des agriculteurs enquêtés (Figure 05-A). Cela se traduit par un affaissement des feuilles et des tiges, souvent en raison de l'incapacité des racines infectées à fournir suffisamment d'eau. 32,8% des agriculteurs sont convaincus que le jaunissement des plantes, est moyen pour identifier la maladie.

Le jaunissement, débute souvent au niveau des feuilles inférieures, est causé par la restriction du flux de nutriments en raison de l'obstruction vasculaire par le champignon. Autre technique utilisée par 26,4% des agriculteurs pour diagnostiquer le brunissement vasculaire. Elle consiste de faire une coupe transversale de la tige, la présence d'une décoloration brune des tissus vasculaires cela indique une infection interne sévère et, ou une nécrose progressive induite par le pathogène. En outre, bien que les symptômes les moins utilisés, le dessèchement et la mort des plantes représentent 1,3 % des symptômes rapportés. Ce stade terminal de la maladie résulte d'une infection sévère, où les systèmes vitaux de la plante sont entièrement compromis, menant inévitablement à la mort. Aussi, un retard de démarrage est également noté dans 1,3 % des cas. Ce symptôme se manifeste par une croissance lente ou anormale des jeunes plants, souvent avant l'apparition des autres symptômes plus caractéristiques de la fusariose.

3.4.2. Facteurs favorisant l'infection par le *Fusarium*

D'après l'analyse des réponses des Agriculteurs interrogés, plusieurs facteurs et sources sont les principales causes des infestations des cultures des cucurbitacées par le *Fusarium* (Figure 05-B). 55,5% des réponses montrant que les conditions de la culture (telque l'humidité et la température de sol) sont les principaux facteurs favorisant l'infestation par le *Fusarium*. Cela souligne l'importance de la stabilité des températures et des niveaux d'humidité dans l'activité des champignons telluriques. Le fumier mal décomposé est également une source majeure d'infestation, contribuant à 20,7% des réponses, ce qui indique la nécessité d'une gestion adéquate des amendements organiques. Les semences contaminées (6,7%) et les plants infestés en pépinière (4,9%) représentent des risques significatifs, tout comme le manque de rotation des cultures (9,1%) et l'utilisation de matériels infestés (3,0%). Ces statistiques montrent qu'une bonne pratique agricole et des pratiques d'hygiène rigoureuses sont essentielles pour minimiser le risque d'infestation par le *Fusarium*.

3.4.3. Pertes de rendement causées par le *Fusarium*

Les réponses des agriculteurs sur les pourcentages des pertes de rendement causées par le *Fusarium* sont particulièrement alarmantes (Figure 05-C)., 85,3% des agriculteurs rapportent des pertes de plus de 50%. Seuls 14,7% des agriculteurs constatent des pertes inférieures à 50%. Ces chiffres illustrent l'impact dévastateur du *Fusarium* sur la productivité des cultures de cucurbitacées.

3.4.4. Méthodes de lutte contre le *Fusarium*

La lutte chimique est la méthode la plus couramment utilisée pour faire face contre le *Fusarium*, adoptée par 79,4% des agriculteurs. D'autres méthodes incluent la rotation des cultures (7,1%), le choix variétal (5,6%), le greffage (4,8%) et une bonne gestion de l'irrigation (3,2%) (Figure 05-D). La prédominance des méthodes chimiques démontre la dépendance des agriculteurs à ces solutions, bien que des alternatives plus durables soient également pratiquées. En termes de type de lutte (Figure 05-E), 79,4% des agriculteurs appliquent des mesures curatives, tandis que seulement 20,6% adoptent des approches préventives.

3.4.5. Défis de la gestion de la Fusariose chez les cucurbitacées

D'un autre côté, la figure 05- F montre que la fréquence de la fusariose est perçue comme un problème croissant par une majorité significative des agriculteurs. En effet, 72,5% des agriculteurs interrogés ont indiqué que la fusariose est devenue un problème récurrent dans leurs champs. Cette forte proportion reflète l'importance et l'urgence de trouver des solutions efficaces pour gérer cette maladie. Également, l'efficacité des fongicides chimiques, qui sont couramment utilisés pour lutter contre le Fusarium, semble diminuer. 74,5% des agriculteurs ont rapporté une réduction de l'efficacité de ces produits chimiques. Ce constat est préoccupant car il indique que les souches de Fusarium pourraient développer une résistance aux traitements actuels, rendant les stratégies de contrôle chimique de moins en moins viables. En outre, il existe une lacune notable dans la connaissance des matières actives des fongicides parmi les agriculteurs. Un pourcentage écrasant de 94,1% des agriculteurs ont avoué qu'ils ignorent les matières actives des produits utilisés. Ce manque de compréhension peut conduire à une mauvaise utilisation des fongicides, ce qui contribue à l'inefficacité des traitements et à l'aggravation du problème de résistance.

3.5. Défi de la transition des fongicides chimiques aux alternatives biologiques contre le Fusarium

3.5.1. Conscience des agriculteurs par le danger des produits chimiques et leurs connaissances par les alternatives biologiques

Les données recueillies montrent une prise de conscience quasi-totale parmi les agriculteurs concernant les effets néfastes des produits chimiques, avec 100 % des répondants reconnaissant ces impacts. Cependant, cette prise de conscience ne se traduit pas par une utilisation généralisée des alternatives biologiques. En effet, seulement 34,3 % des agriculteurs ont une connaissance des produits phytosanitaires biologiques, et encore moins, 20,6 %, les commercialisent spécifiquement pour lutter contre le fusarium (Figure 06-A).

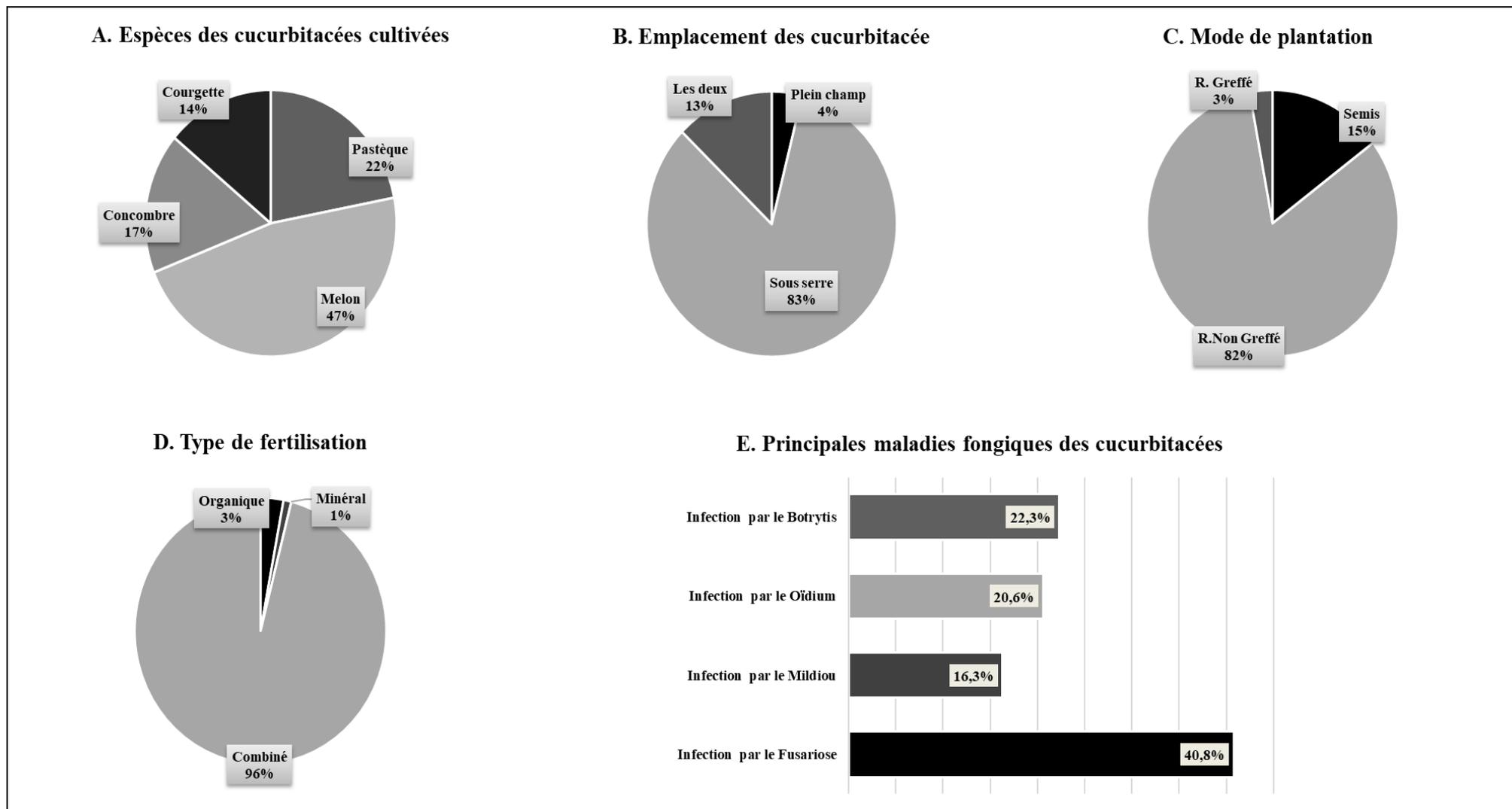


Figure 4:Figure représente les principales analyses faites sur la culture des cucurbitacées à Biskra. A. Emplacement des cucurbitacées. B. Espèces des cucurbitacées cultivées. C. Mode de plantationD. Type de fertilisation. E. Principales maladies fongiques des cucurbitacées

3.5.2. Efficacité des produits phytosanitaires biologiques

L'efficacité perçue des produits phytosanitaires biologiques par rapport aux produits chimiques est également mitigée. Parmi les agriculteurs ayant une opinion sur cette question, 38,6 % estiment que les produits biologiques sont efficaces, tandis que 24,8 % pensent le contraire, et 36,6 % n'ont reçu aucune aide pour évaluer cette efficacité (Figure 06-B).

3.5.3. Base des fongicides biologiques commercialisées

Une large majorité (79,4 %) des produits commercialisés utilisés pour lutter contre le *Fusarium* sont de base chimique. En ce qui concerne les bases des fongicides biologiques commercialisés, les bactéries avec une utilisation de 5,9 %, les extraits de plantes (4,9 %), les champignons (5,9 %), et une combinaison de bactéries et champignons (3,9 %), représentent une minorité des produits disponibles sur le marché (Figure 06-C).

Ces chiffres illustrent une mal-utilisation des fongicides biologiques par les agriculteurs interrogés pour combattre le *Fusarium*, reflétant un manque de connaissance et de confiance en ces alternatives écologiques.

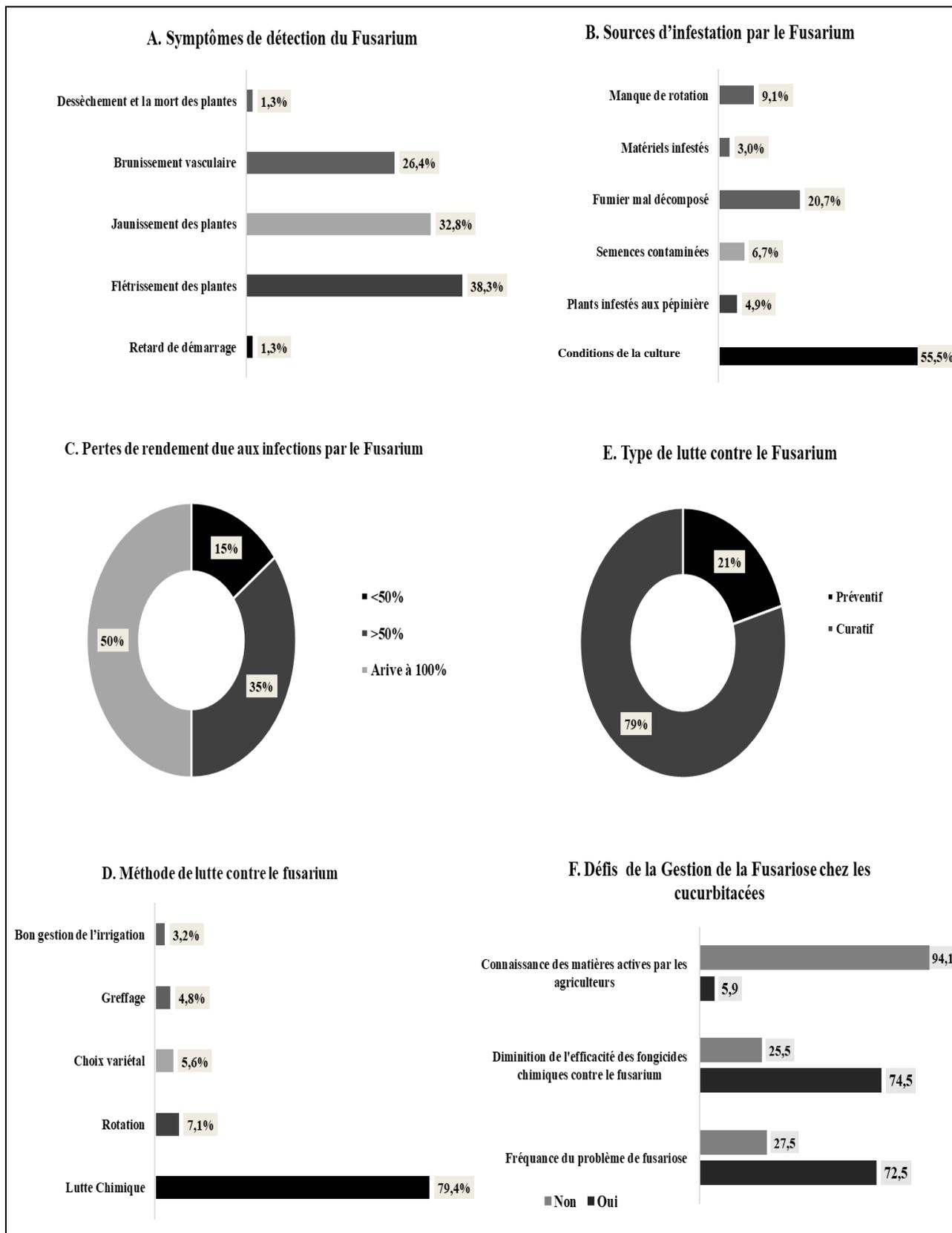


Figure 5: Figure représente les principales analyses faites sur la situation real de l'infection des cucurbitacées par le Fusarium : A. Symptômes de détection du Fusarium, B. Sources d'infestation par le fusarium, C. Pertes de rendement due aux infections par le fusarium, D. Méthode de lutte contre le fusarium, E. Type de lutte contre le fusarium, F. Défis Actuels de la Gestion de la Fusariose.

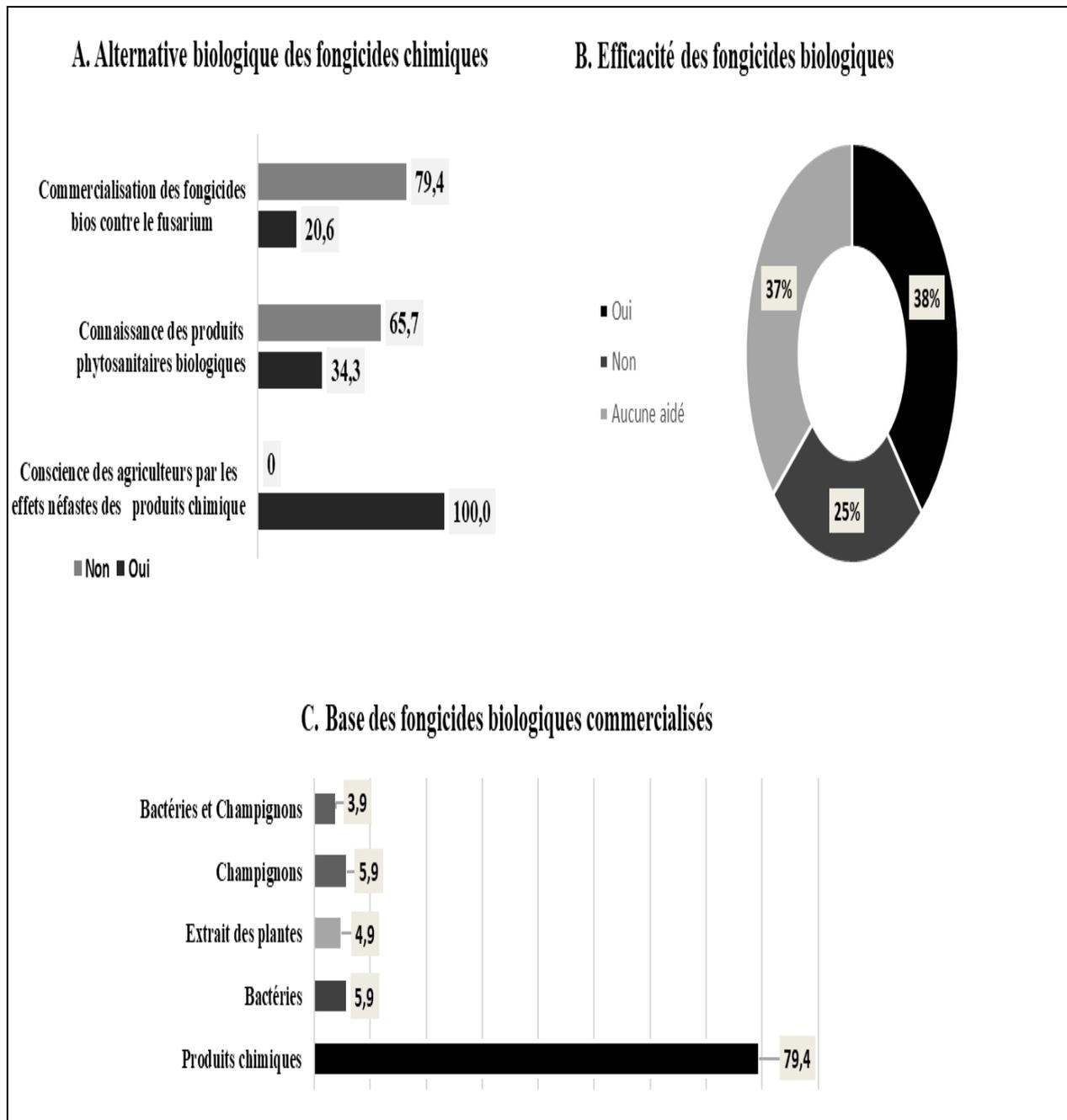


Figure 06 : Défis de l'utilisation des fongicides biologiques contre le Fusarium. A. Alternative biologique des fongicides chimiques, B. Efficacité des fongicides biologiques, C. Base des fongicides biologiques commercialisées.

4. Discussion

Les résultats de notre enquête révèlent que la culture maraîchère, notamment les cucurbitacées, est une activité majoritairement masculine, soulignant une prédominance de jeunes hommes. En termes d'instruction, la généralité des agriculteurs ont reçu une instruction formelle, incluant des universitaires. Ces résultats ont été confirmés par plusieurs d'autres études sur la filière des cultures maraichères dans la région des Ziban (Bettiche et *al.*, 2022 ; Soudani et *al.*, 2022; Aidat et *al.*, 2023), Toutefois, l'étude de Hartani et *al.*, (2015) a mis en évidence les raisons pour lesquelles les jeunes sont prédominants dans ce domaine. Il a expliqué que la plasticulture (inclure la culture des cucurbitacées) favorise la progression socioprofessionnelle des jeunes. L'ouvrier peut devenir métayer après l'acquisition d'un certain savoir-faire. Le métayer peut accumuler du capital pour acheter quelques serres et devenir locataire. Ce dernier génère des bénéfices pour les investir ensuite dans la terre. Il devient propriétaire terrien. Par ailleurs, l'étude des (Aidat et *al.*,2023) montre que le niveau d'instruction des agriculteurs joue un rôle crucial. Ceci démontre que les individus ayant un niveau d'éducation plus bas ont tendance à être moins enclins à accroître leurs investissements dans des domaines innovants tels que la production en serre, qui requiert un niveau de connaissances plus élevé. Cette constatation est étayée par la recherche menée par (Muhammad-Lawal et *al.*, 2014), démontrant une corrélation positive entre le niveau d'éducation et les performances agricoles. Une justification possible réside dans le fait que l'exploitation efficiente des technologies de pointe requiert une expertise spécialisée ainsi qu'une analyse manuelle afin de produire des biens à forte valeur ajoutée sur le marché. De plus, Khaldi, en (1975) et Kafando, en (2020) ont validé l'impact positif d'un niveau d'éducation plus élevé sur la productivité agricole, l' augmentation des revenus des agriculteurs.

Nos résultats montrent que le maraîchage représente l'activité agricole principale pour la majorité des participants, avec une expérience moyenne. Cette forte implication dans le maraîchage souligne son rôle central dans l'économie agricole locale. Cependant, seulement une petite catégorie des agriculteurs ont bénéficié d'une formation formelle en agriculture, ce qui indique que la majorité des agriculteurs acquiert ses compétences par la pratique plutôt que par une formation structurée. Concernant la superficie des exploitations, une prédominance des grandes exploitations dans le secteur. Ce phénomène pourrait être lié à des avantages économiques d'échelle qui permettent aux exploitations plus grandes de mieux

gérer les coûts élevés des facteurs de production tels que l'eau et la terre, comme le suggèrent les études de Daoudi et *al.*, 2017 ; Boudibi et *al.*, 2021 et Didoné et *al.*, 2021 qui ont classé les mêmes superficies enregistrées par notre étude comme des petites superficies de terres agricoles.

En dépit de l'importance des cultures maraîchères, en particulier des cucurbitacées, celles-ci demeurent sensibles aux attaques de diverses maladies et ravageurs. Notre étude se concentre sur le problème fongique majeur signalé par les agriculteurs, à savoir les attaques du champignon tellurique *Fusarium* spp.

La fusariose est une maladie particulièrement préoccupante pour les cultures de cucurbitacées, notamment dans la région de Biskra. Cette maladie fongique, qui peut être causée par diverses espèces de *Fusarium* spp., est favorisée par plusieurs facteurs, dont les changements climatiques soudains et l'utilisation de fumier mal décomposé. Nos résultats montrent que la fusariose touche la plupart des cultures de cucurbitacées dans cette région, avec des symptômes tels que le flétrissement, le jaunissement des plantes et le brunissement vasculaire. Les pertes de rendement causées par la fusariose sont alarmantes : un nombre important des agriculteurs signalent des pertes pouvant atteindre la totalité des cultures. Cette situation actuelle illustre l'impact dévastateur de cette maladie sur la productivité des cultures de cucurbitacées.

La lutte contre la fusariose repose principalement sur l'utilisation de fongicides chimiques, une méthode adoptée par la majorité des agriculteurs. Cependant, cette approche dominante présente des inconvénients majeurs, notamment l'apparition de résistances chez le pathogène. En effet, presque la totalité des agriculteurs signalent une diminution de l'efficacité des fongicides chimiques. De plus, un pourcentage significatif d'agriculteurs ne connaît pas les matières actives des produits qu'ils utilisent, ce qui peut conduire à une mauvaise utilisation des fongicides et à l'aggravation de la résistance. La préférence pour les méthodes chimiques est en partie due à leur efficacité immédiate et à la pression économique pour maximiser les rendements. Pourtant, d'autres méthodes de lutte, telles que la rotation des cultures, le choix variétal, le greffage, et une bonne gestion de l'irrigation, sont moins adoptées. La culture sous serre, bien que largement privilégiée, crée un microclimat favorable au développement de pathogènes notamment les champignons, exacerbant les problèmes phytosanitaires (Aidat et *al.*, 2023). En outre, les cultures maraîchères dans cette région est caractérisée par une forte utilisation de produits phytosanitaires, ce qui augmente la pression

phytosanitaire (Nouredine et *al.*, 2021 ;Soudani et *al.*, 2022). La gestion inappropriée des produits biologiques et le manque de formation technique des agriculteurs aggravent ces défis, entravant le développement d'une agriculture durable (Aidat et *al.*, 2023). Bien que les méthodes chimiques dominent actuellement la lutte contre le *Fusarium*, il est crucial de promouvoir des approches plus durables et intégrées. La formation des agriculteurs sur l'utilisation appropriée des produits phytosanitaires, la mise en œuvre de pratiques agricoles diversifiées et la recherche de solutions alternatives sont essentielles pour réduire la dépendance aux fongicides chimiques et améliorer la durabilité des cultures de cucurbitacées dans la région de Biskra.

Le choix des fongicides est souvent influencé par les vendeurs de produits phytosanitaires en raison des mauvaises connaissances des agriculteurs sur les matières actives ; ces observation sont semblables aux résultats obtenus par les études des (Didoné et *al.*, 2021 ; Soudani et *al.*, 2022). Notre étude concernant l'analyse des pratiques phytosanitaires des agriculteurs révèle que la majorité des fongicides utilisés contre le *Fusarium* ne sont pas spécifiquement conçus pour cette maladie, mais plutôt pour d'autres champignons. Ces données montrent que les fongicides utilisés sont souvent polyvalents et ne ciblent pas exclusivement le *Fusarium*, ce qui peut affecter leur efficacité et contribuer à l'augmentation de la résistance des souches de *Fusarium* et à la gestion inadéquate des maladies fongiques. Le travail de Daami-Remadi et Mahjoub, en (2006), a prouvé que tous les isolats tunisiens de *Fusarium* touchant la pomme de terre se sont avérés résistants, certaines matières active testées reflétant l'existence d'une résistance croisée.

Cette situation met en évidence l'importance de bien informer les cultures pour lutter efficacement contre le *Fusarium*, tout en augmentant la connaissance des matières actives utilisées pour éviter la résistance et optimiser les pratiques agricoles.

D'un autre côté, notre travail a essayé d'identifier la réalité de la disponibilité sur le marché et de l'utilisation des fongicides biologiques par les agriculteurs comme alternative contre *Fusarium*, l'agent causal de la fusariose. Les résultats de notre enquête sur ce volet dégagent que les défis de la transition des fongicides chimiques vers les alternatives biologiques contre le *Fusarium* sont nombreux et complexes. Bien que la prise de conscience des effets néfastes des produits chimiques soit quasi universelle, cette compréhension ne se traduit pas par une adoption généralisée des alternatives biologiques. Un petit nombre des agriculteurs connaissent les produits phytosanitaires biologiques, et encore moins qui les

utilisent spécifiquement contre le *Fusarium*. L'efficacité perçue de ces produits biologiques est également mitigée. La majorité des produits utilisés contre le *Fusarium* sont de base chimique, et les fongicides biologiques restent minoritaires. Ces lectures des résultats révèlent une sous-utilisation et un manque de confiance en les fongicides biologiques, reflet d'une connaissance limitée et d'une hésitation à adopter ces alternatives écologiques.

Selon Hashemi et Damalas, (2010), les mentalités des agriculteurs et leur compréhension de la nature et des propriétés des pesticides influencent grandement leur comportement et leur utilisation de ces produits chimiques, tout comme leur volonté d'accepter des méthodes alternatives telles que la lutte intégrée contre les ravageurs (champignons et insectes). Il est donc nécessaire de fournir davantage de conseils aux agriculteurs concernant les avantages de l'utilisation des bonnes pratiques agricoles, telles que le recours aux alternatives biologiques respectant la santé de l'environnement et l'efficacité de la lutte intégrée contre les ravageurs (El Bouzaidi et *al.*, 2020). En outre, le soutien consultatif apporté aux agriculteurs par les acteurs concernés par le secteur agricole, ainsi que le suivi et la compréhension des changements à long terme dans leurs pratiques agricoles, peuvent faciliter la transition vers des pratiques durables et respectueuses de l'environnement (Hashemi et Damalas, 2010; Chantre et Cardona, 2014 ; Hantchi et *al.*, 2022).

Par exemple, en Tunisie, pour convaincre les agriculteurs de la possibilité d'alterner les fongicides chimiques par des produits biologiques contre le *Fusarium*, une étude réalisée par Hibar (2007) montre que l'utilisation de certains produits biologiques à base de *Bacillus subtilis* et de *Bacillus thuringiensis*, ainsi qu'un troisième à base de *Trichoderma harzianum*, pourrait lutter efficacement contre la fusariose des racines et du collet de la tomate. Ces résultats soulignent le potentiel des fongicides biologiques et la nécessité de promouvoir leur adoption pour une agriculture plus durable.

5. Conclusion

D'après l'analyse de la filière de la culture des cucurbitacées dans la région de Biskra, menée par la collecte de données statistiques auprès des services administratifs des DSA et du MADR, ainsi que le traitement des résultats obtenus de notre enquête auprès des grainetiers et des agriculteurs, nous avons constaté que ; les cultures de cucurbitacées sont classées parmi les cultures stratégiques en Algérie et revêtent une importance économique non seulement au niveau national, mais aussi au niveau de la wilaya de Biskra. Malgré leur importance économique, ces cultures sont confrontées à de nombreuses contraintes et subissent diverses maladies. Le principal ennemi fongique est le *Fusarium*, qui peut causer des pertes importantes dans les rendements, atteignant parfois jusqu'à 100%. Le recours aux moyens de lutte chimique reste la méthode la plus utilisée par les agriculteurs de notre région d'étude, malgré ses effets néfastes sur l'environnement et les conséquences des mauvaises manipulations de ces produits sur la santé des utilisateurs. L'utilisation excessive de produits chimiques favorise l'augmentation des résistances du *Fusarium*, réduisant ainsi l'efficacité de ces produits. Face à cette problématique, le recours à des moyens de lutte alternative biologique et génétique contre le *Fusarium* devient indispensable pour corriger la situation actuelle.

CHAPITRE II

Isolement et identification des agents pathogène et antagoniste



Chapitre II : Isolement et identification des agents pathogènes et antagonistes.

1. Introduction

De nombreuses maladies des cultures maraîchères, en particulier des cucurbitacées, sont causées par des agents pathogènes fongiques. Les producteurs peuvent subir des pertes économiques importantes en raison de ces maladies. Il est donc essentiel d'étudier ces agents pathogènes, de les identifier avec précision et de déterminer des méthodes efficaces de lutte contre eux.

Ce chapitre examine en premier temps, l'identification morphologique et moléculaire des espèces de *Fusarium* spp., le plus important agent pathogène des cucurbitacées dans la région de Biskra en Algérie. La fusariose vasculaire, et le flétrissement fusarien sont des maladies fréquentes chez les courgettes, les melons et les concombres, est causée par ce genre de champignon. Nous expliquerons comment on a procédé à l'isolement du *Fusarium* spp. à partir d'échantillons de plantes malades prélevés sur le terrain. Ensuite, nous caractériserons les isolats obtenus morphologiquement en examinant la croissance et la morphologie des colonies fongiques. Pour une identification précise des espèces, une identification moléculaire sera effectuée par amplification et séquençage de deux marqueurs, ITS et TEF-1.

Dans la deuxième section, nous parlerons de l'isolement et de la caractérisation d'agents antagonistes fongique du genre *Trichoderma*, qui ont la capacité de combattre biologiquement les pathogènes de *Fusarium*. Les isolats de *Trichoderma* sont caractérisés aussi morphologiquement et moléculairement par les mêmes marqueurs ITS et TEF-1.

L'ensemble de ces résultats nous ont permis de mieux comprendre les agents qui contribuent à la fusariose des cucurbitacées dans la zone étudiée.

2. Matériel et méthodes

2.2. Collecte de matériel biologiques

2.2.1. Echantillonnage des agents pathogènes de *Fusarium*

Les *Fusarium*spp. sont isolés à partir des prélèvements des échantillons de plantes infectées des Cucurbitacées, notamment des courgettes, des concombres, des melons et des pastèques, dans la wilaya de Biskra, durant les campagnes 2019-2020-2021.



Figure 7: Symptômes de jaunissement, de flétrissement et de brunissement racinaire chez les plantes collectées.

Ces échantillons sont collectés dans 18 sites répartis sur 7 régions distinctes (M'Ziraa, Ain Naga, Sidi Okba, El Outaya, Tolga, Oumèche et El Ghrous), comme indiqué sur la figure 08. Les plantes enlevées présentaient généralement des symptômes de jaunissement, de flétrissement et de brunissement racinaire (Figure07) (Moine, 2013; Salem et *al.*, 2013; Petkar et *al.*, 2019).

2.2.2. Echantillonnage des agents antagonistes de *Trichoderma*

Les *Trichoderma*spp. sont isolés à partir des sols de cinq régions agricoles de la wilaya de Biskra (M'Ziraa, Ain Naga, Sidi Okba, El Outaya et Tolga) durant la campagne 2020-2021. Les zones de prélèvement des échantillons sont indiquées dans la figure n° 02. Le sol a été prélevé à une profondeur de 30 à 40 cm. C'est dans cet horizon que l'on cherche généralement les champignons du sol (Davet et Rouxel, 1997).

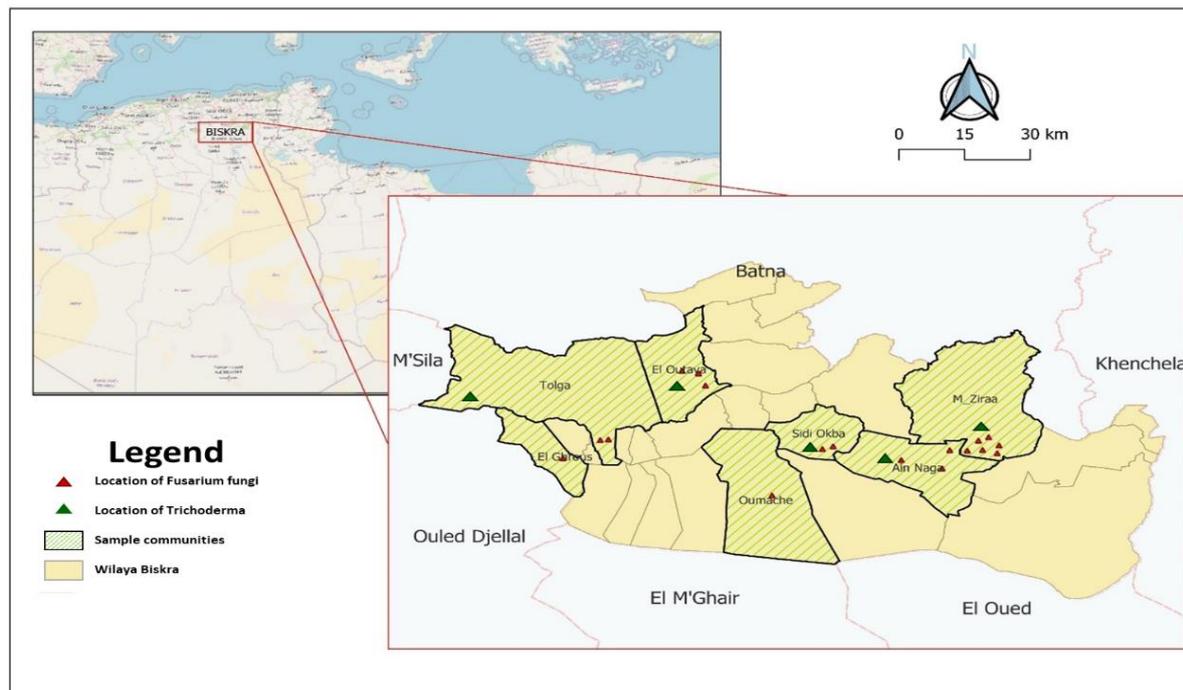


Figure 8: Zones d'échantillonnage (Photos original, 2023)

Les échantillons des sols prélevés ont été placés dans des sacs en papier, bien fermés et conservés au réfrigérateur à 4 °C en vue de leurs analyses (Haouhach et *al.*, 2020).

2.3. Isolement et purification des champignons pathogènes et antagonistes.

2.3.1. Isolement de l'agent pathogène « *Fusarium spp* »

Les échantillons collectés ont été traités au laboratoire afin d'identifier la microflore fongique générale associée à ces symptômes, en particulier le *Fusarium*. Les racines et les bases de tiges des plantes prélevées ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet, puis découpées en morceaux de 0,5 cm de long. Ces fragments ont ensuite été soumis à une stérilisation de surface à l'aide d'hypochlorite de sodium à une concentration de 5% pendant 3 minutes, suivie de deux rinçages avec de l'eau distillée stérilisée pendant 2 minutes chacun. Enfin, ils ont été séchés à l'aide de papier absorbant stérilisé.

Les fragments ont été ensuite cultivés dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre, contenant de l'agar-agar de pomme de terre avec une concentration de chloramphénicol de 2,5 mg/ml (PDA+). Chaque boîte contenait cinq fragments et chaque échantillon était répliqué trois fois. Les boîtes ont été incubées à une température de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 4 jours. Par la suite, les champignons ont été purifiés en utilisant la méthode apicale du

mycélium et cultivés au centre de la boîte contenant du PDA+ pendant 4 à 7 jours (Abd Ali et *al.*, 2021 ; Leslie et Summerell, 2006).

2.3.2. Isolement de l'agent antagoniste « *Trichoderma spp* »

La méthode de suspension-dilution est utilisée pour isoler les *Trichoderma*, comme décrite par Rappilly en 1968. Le principe de cette méthode consiste à bien mélanger le sol dans de l'eau distillée stérilisé.

Dans un premier temps, on ajoute 10 g de sol à 90 ml d'eau distillée stérile et on agite pendant 30 minutes pour préparer les dilutions. Les prélèvements de 1 ml de cette solution sont réalisés et placés dans des tubes stériles contenant 9 ml d'eau distillée stérile jusqu'à ce que la dilution soit de 10^{-6} . Après avoir obtenu les dilutions, il est nécessaire de verser 1 ml de chacune et de bien étaler dans une boîte de pétri contenant du milieu solide PDA, à raison de 3 boîtes pour chaque descente. La croissance fongique a été observée après avoir incubé les boîtes de pétris à 25 °C pendant 14 jours (Davet et Rouxel, 1997; Chihat et *al.*, 2021).

2.3.3. Purification des champignons

Les champignons obtenus (Pathogènes et antagonistes) ont été dénombrés et identifiés au niveau du genre en se basant sur les caractéristiques phénotypiques telles que la couleur de la colonie fongique, la ramification du jeune mycélium, la forme et la taille des conidiophores, ainsi que les spores formées observées au microscope (Leslie et Summerell, 2006; Siddiquee, 2017 ; Naher et *al.*, 2019; Abd Ali et *al.*, 2021)

Les colonies des champignons ont été purifiées par une série de repiquage sur PDA, puis sont incubé à 25 °C pendant 7 jours. Une fois purifiées, les cultures ont été stocké dans le glycérol à -20 ° C jusqu'à utilisation (Chihat et *al.*, 2021).

2.4. Caractérisation morphologique des isolats pathogènes et antagonistes

2.4.1. Caractérisation morphologique des « *Fusarium spp* »

Les 25 *Fusarium spp.* ont été choisis parmi tous les champignons isolés pour notre étude. On utilise des extrémités de l'hyphes des colonies qui présentent des caractéristiques de croissance typiques du genre *Fusarium* pour cultiver des cultures pures (Mincuzzi et *al.*,

2022; H. Wang, Li, et *al.*, 2022). Les isolats sont introduits dans des tubes PDA à essai et maintenus à une température de 4 °C (Cheng et *al.*, 2022).

Les isolats à analyser sont incubé à une température de 25°C. Suite à une période de 07 jours, on effectue une caractérisation morphologique en évaluant la texture, le type de mycélium, la couleur et d'autres caractéristiques des colonies (Barnett, 1960). Chaque jour, les taux de croissance sont enregistrés afin de déterminer la vitesse de croissance. La microscopie des isolats a été effectuée sur des cultures âgées de 14 jours à une température de 27 °C en utilisant un microscope optique avec des grossissements de x40 et x100. La taille des spores a été mesurée à 50 répétitions pour chaque isolat afin de déterminer la taille des conidies (Nuangmek et *al.*, 2023).

2.5. Caractérisation morphologique des « *Trichoderma spp* »

Dans cette étude, les isolats obtenus ont été identifiés par une combinaison des éléments morphologiques macroscopiques et microscopiques.

Les isolats de *Trichoderma* ont été cultivées sur des boîtes de 9 cm sur le milieu PDA et incubés à 28 °C pendant 48 h (Haouhach et *al.*, 2020).

Des observations à l'œil nu sont faites pour déterminer les caractères cultureux suivants : le schéma de la sporulation dans la colonie, la couleur du thalle et la couleur du revers de la culture sur le milieu PDA, la forme de la colonie, la forme de l'élévation de la colonie, la forme de la marge de la colonie, le type de mycélium de l'isolat et enfin le taux de croissance de la colonie (Gams et Bissett, 2002; Makal et *al.*, 2020;).

Afin d'évaluer le taux de croissance, le diamètre de la colonie de chaque souche poussant sur le PDA a été mesuré à intervalles de 24 h, jusqu'à ce que la colonie recouvre la plaque. Les observations microscopiques ont été effectuées par la préparation des lames aux lactophénols bleu de coton à partir des cultures âgées de 7 jours (Haouhach et *al.*, 2020).

Toutes les observations microscopiques et les mesures prises ont été faites à l'aide d'un microscope Olympus BX41 à des grossissements de X10, X40 et X100. Les caractères microscopiques examinés sont : les conidies, les conidiophores, les phialades, la forme et la taille des spores et la formation des chlamydospores. Ont été utilisées pour comparer et différencier les espèces (Naher et *al.*, 2019; Mazrou et *al.*, 2020).

2.6. Caractérisation moléculaire des champignons

2.6.1. Extraction de l'ADN

Les isolats de *Fusarium* spp. et de *Trichoderma* spp. ont été réactivés en milieu PDA ; après 7 jours, le mycélium a été collecté avec une tige en verre stérile et placé dans un tube Eppendorf de 2 ml (Demirel et Özkale, 2017).

Le protocole proposé par Doyle et Doyle (1987), de bromure de cétyl-Triméthyl-ammonium (CTAB) 2 % a été suivi pour l'extraction de l'ADN, avec quelques modifications. La dénaturation et la réduction des protéines sont faites directement dans 750 µl de CTAB et 37,5 µl de mercapto-éthanol sans l'utilisation de l'azote liquide. Les tubes ont été incubés à 60 °C pendant 60 minutes, et pour but de précipiter l'ADN et de minimiser sa polarité ; 750 µl de chloroforme/alcool isoamylique a été mélangé doucement par inversion ; les tubes ont été placés à -20 °C pendant 1 heure et centrifugés à 18 000 tr/min pendant 7 min. Le culot a été lavé une fois avec 1000 µl de tampon de lavage, puis une deuxième fois avec 1000 µl d'éthanol 70 % et centrifugé pendant 7 min. Finalement, le culot a été ré-suspendue dans 200 µl de TE X1 et stockée à -20 °C.

L'ADN a été quantifié par spectrophotométrie sur un NanoDrop 8000 UV-Vis (Thermo Scientific) et a été considéré de bonne qualité lorsque les valeurs d'absorbance des rapports A260/A280 et A260/A230 sont comprises entre 1,8 et 2,0. Pour la réaction en chaîne par polymérase (PCR) de l'ADN, ce dernier a été préparé en dilutions de 50 ngmL⁻¹ et stocké à -20 °C jusqu'à utilisation (Al-Fadhil *et al.*, 2019; Asis *et al.*, 2021).

2.6.2. Réaction par chaîne polymérase (PCR)

La réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN (PCR) : Il s'agit d'une réaction enzymatique qui favorise l'expansion d'une zone spécifique de l'ADN. Il s'agit d'une copie in vitro d'un fragment d'ADN qui génère un nombre considérable de copies identiques à la matrice d'ADN initiale. Chaque cycle est composé de trois étapes : une dénaturation de l'ADN (séparation des deux brins d'ADN), une hybridation des amorces (forward et reverse) qui encadrent la région d'ADN cible, et enfin une élongation de ces amorces en nouveaux brins d'ADN. La force de cette méthode réside dans le fait qu'elle permet d'obtenir un nombre très élevé de copies d'ADN matrice, soit 2^n (n étant le nombre de cycles) (Mullis et Faloona, 1987).

L'identification des *Fusarium* spp. et des *Trichoderma* spp. au niveau de l'espèce a été basée sur le séquençage de l'ADN des espaceurs internes transcrits « ITS » et une portion du gène du facteur d'élongation de la traduction « TEF-1 » (De et Du Plessis et *al.*, 2018; Hassan et *al.*, 2019; Mazrou et *al.*, 2020 ; De et Roy, 2021;).

Le volume total de 20 µl est utilisé pour l'amplification des régions étudiées, en utilisant la même composition de mélange de réaction selon le protocole proposé par Liu et *al.*(2000) et Benbouza et *al.* (2006), avec quelques ajustements. Il y avait 2 µl (10x) de tampon (Invitrogen), 1,2 µl (50%) de solution de diméthylsulfoxyde (DMSO), 0,4 µl (10 µM) de mélange de désoxyribonucléotides Triphosphates (dNTP), 0,2 µl (5 µ/ml) de polymérase Taq ADN U (Invitrogen), 0,8 µl (10 µM) de chaque amorce et 2 µl d'ADN génomique dilué à 10 ng dans le mélange de réaction. On ajoute de l'eau ultrapure au volume restant. Le Tableau 2 regroupe les séquences complètes des amorces.

Tableau 2: Amorces utilisées dans cette étude pour identifier les *Fusarium* spp et les *Trichoderma* spp.

Amorce	Longueur de l'amorce	Les paires d'amorces	Séquences	Références
Espaceur interne transcrit :ITS	638pb	ITS1 (forward)	TCCGTAGGTGAACCTGCGG	(White et <i>al.</i> , 1990)
		ITS4 (Reverse)	TCCTCCGCTTATTGAATAATCC	(White et <i>al.</i> , 1990)
Facteur d'élongation : TEF-1	280pb	tef1fw (forward)	GTGAGCGTGGTATCACCATCG	(Kullnig-Gradinger et <i>al.</i> , 2002)
		tef1rev (Reverse)	GCCATCCTTGGAGACCAGC	(Kullnig-Gradinger et <i>al.</i> , 2002)

La réaction PCR a été conduite dans un thermocycleur Bio-Rad (C1000 TM Thermal Cycler) selon le programme suivant pour les région ITS et TEF-1 chez les isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma* : Dénaturation initiale de 5 min à 94°C, suivie de 35 cycles de 30 s de dénaturation à 94°C, hybridation des amorces à 55°C pendant 30 s, élongation des amorces à 72°C pour 1 min et élongation finale des amorces à 72°C pendant 5 min (Haouhach et *al.*, 2020).

Les produits à ADN amplifiés ont été analysé par électrophorèse en TBE 1x sur un gel d'agarose de 1,5% à 80 V et une échelle ADN de 100 pb (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Lithuania) utilisés comme marqueur de taille. Dans chaque puit de gel un

mélange de 5 µl de produits d'amplification et 1µl de tampon de charge et 5 µl de marqueur de taille (Chihat et *al.*, 2021).

L'ADN est révélé par une coloration du SYBR-SAF visible sous une lampe UV. qui a ensuite été photographiée avec un BIO RAD Gel Doc XR+(Shamkhiet Al-Aaraji, 2021).

Toutes les séquences obtenues par le produit PCR ont été purifier par le « Kit exosap », puis passé pour le séquençage Sanger à l'aide d'un ABI 3500 séquenceur d'ADN XL (AppliedBiosystems, HITACHI, 3500XL, Genetic Analyzer, USA) on utilisant un Kit BigDye Terminator v3.1. Le séquençage a été effectué dans le laboratoire de biologie moléculaire du centre de la recherche et de la biotechnologie (CRBT) à Constantine.

2.6.3. Analyse bio-informatique

Les séquences forward et revers obtenus sont nettoyées grâce au logiciel Bioédit ; en éliminant les nucléotides ambigus (dont les piques obtenus n'était pas clairement identifiable). Avec le même logiciel ; nous avons créé une séquences consensus à partir les deux séquences Forward et reverse pour chaque isolat (Hall, 1999).

Les séquences consensus ITS et TEF-1 ont été soumises à une analyse d'interface BLAST dans NCBI, GenBank (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastnetBLAST_SPEC=GeoBlastetPAGE_TYPE=BlastSearch), afin d'identifier l'homologie entre la PCR fragments et les séquences dans cette base de données (Bouanaka et *al.*, 2021; Zheng et *al.*, 2021).

Il est nécessaire de respecter certaines conditions afin d'attribuer un nom d'espèce à la souche étudiée. Selon Raja et *al.* (2017), il est nécessaire que la séquence de cette souche présente une couverture de requête $\geq 80\%$ (c'est-à-dire que la séquence étudiée couvre plus de 80% de la séquence de référence) et une similarité de séquence $>97-100\%$ (c'est-à-dire qu'on admet jusqu'à 3% de divergence de séquence entre la séquence étudiée et la référence) avec les séquences de référence de l'espèce considérée.

2.7. Analyse phylogénétique

L'élaboration d'un arbre phylogénétique tient compte des évolutions qui ont eu lieu au fil du temps. En analysant les séquences par alignement multiple, il établit des liens de parenté entre les espèces.

L'analyse phylogénétique des isolats de *Fusarium* réalisée dans ce travail a épaulé sur 33 souches de *Fusarium* dont 25 isolées dans le cadre de cette étude et 8 séquences de souche de référence tirés de la collection de GenBank (NCBI), à savoir : *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. equisetie*. Les isolats de *Trichoderma* ont été analysés phylogénétiquement, avec 11 souches de *Trichoderma*, dont 07 ont été isolées dans le cadre de cette étude et 04 séquences de souche de référence provenant de la collection de GenBank (NCBI), à savoir *T. harzianum*, *T. virens* et *T. asperellum*.

On a choisi comme "outgroup" les souches *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus flavus* provenant de la même banque et qui ne font pas partie du genre *Fusarium* ni du genre *Trichoderma*. La validation de la construction des arbres phylogénétiques est effectuée à chaque fois que ces souches se trouvent seule dans une branche, ce qui permet d'affirmer que la construction de l'arbre phylogénétique est vraisemblable. Le tableau 03 présente toutes les séquences des isolats étudiés et les souches références utilisées pour les analyses phylogénétiques des *Fusarium* et des *Trichoderma*, ainsi que leur numéro d'adhésion à GenBank. Le logiciel Molecular Evolutionary Genetics Analysis MEGA11 (Tamura et al., 2021) a été utilisé pour réaliser l'alignement multiple et la construction des arbres phylogénétiques à partir des séquences des ITS et TEF-1, en utilisant la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (Backeljau et al., 1996; Stefan Van Dongen et Winnepenninckx, 1996). La méthode du Bootstrap a été utilisée pour évaluer la fiabilité et la solidité de la topologie des arbres phylogénétiques obtenues en utilisant une valeur de 1000 répétitions de la construction (Felsenstein, 1985). Le pourcentage de la valeur obtenue indique le nombre de fois où la topologie de l'arbre a été obtenue avec une certainté maximale. Selon Kumar et al. (2018), si le Bootstrap est de 90 %, il est possible d'estimer que pour 1000 répétitions de construction de l'arbre, 900 ont donné la même topologie de l'arbre phylogénétique.

Tableau 3: Identification par BLASTIN des isolats de Fusarium et Trichoderma et ces numéros d'accessions.

Fusarium spp.	Isolats	Numéro d'accession ITS	Numéro d'accession TEF	Accession de NCBI pour le gène ITS	Accession de NCBI pour le gène TEF-1	Source	Site de collecte
<i>F. nygamai</i>	Fus-C01	PP344639	PP440030.1	OM459813.1	ON502959.1	Courgette	El Outaya-1
<i>F. nygamai</i>	Fus-C03	PP344666	PP440031.1	OM459813.1	MT011009.1	Pastèque	Driss Omar1
<i>F. nygamai</i>	Fus-C08	PP344715	PP440032.1	OM459813.1	MT011009.1	Concombre	Ain Naga-1
<i>F. proliferatum</i>	Fus-C02	PP344650	PP440028.1	KY425734.1	KP964908.1	Melon	Bir Nam
<i>F. proliferatum</i>	Fus-C20	PP344795	PP440029.1	KY425734.1	KP964908.1	Melon	M'Ziraa-3
<i>F. solani</i>	Fus-C04	PP344713	/	KX583231.1	/	Pastèque	Tolga
<i>F. solani</i>	Fus-C05	PP350533	PP440038.1	KX583231.1	OK181674.1	Pastèque	Tolga
<i>F. solani</i>	Fus-C06	PP344714	/	KX583231.1	/	Melon	Sidi Okba
<i>F. solani</i>	Fus-C12	PP344787	PP440039.1	KX583231.1	OK181674.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. solani</i>	Fus-C21	PP344797	PP440040.1	KX583231.1	OK181674.1	Melon	M'Ziraa-3
<i>F. solani</i>	Fus-C22	PP344798	PP440041.1	KX583231.1	OK181674.1	Melon	M'Ziraa-3
<i>F. falciforme</i>	Fus-C07	PP354099	PP440027.1	OQ860750.1	JF740727.1	Concombre	Ain Naga-1
<i>F. equiseti</i>	Fus-C13	PP344791	PP440021.1	MK212925.1	MK683463.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. equiseti</i>	Fus-C16	PP344793	PP440022.1	MK212925.1	MK683463.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. equiseti</i>	Fus-C17	PP344794	PP440023.1	MK212925.1	MK683463.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. equiseti</i>	Fus-C18	PP354098	PP440024.1	MK212925.1	MK683463.1	Melon	M'Ziraa-3
<i>F. equiseti</i>	Fus-C19	PP344796	PP440020.1	MK212925.1	MK683463.1	Melon	M'Ziraa-3
<i>F. equiseti</i>	Fus-C23	/	PP440025.1	/	MK683463.1	Courgette	Ain Naga-2
<i>F. equiseti</i>	Fus-C25	/	PP440026.1	/	MK683463.1	Courgette	Sidi Okba
<i>F. oxysporum</i>	Fus-C10	PP344739	PP440036.1	MK385594.1	MK906814.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. oxysporum</i>	Fus-C11	PP344738	PP440037.1	MK385594.1	MK906814.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. oxysporum</i>	Fus-C14	PP350536	PP440033.1	MK385594.1	MK906814.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. oxysporum</i>	Fus-C15	PP350537	PP440034.1	MK385594.1	MK906814.1	Melon	M'Ziraa-2
<i>F. oxysporum</i>	Fus-C09	PP344716	PP440035.1	MH911412.1	MK906814.1	Courgette	M'Ziraa
<i>F. brachygibbosum</i>	Fus-C24	PP344799	/	OM459813.1	/	Courgette	Sidi Okba
<i>T. asperilum</i>	Tri-B01	PP658142.1	PP662691.1	MW386848.1	MN520032.1	Sol	Ain Naga
<i>T. harzianum</i>	Tri-B04	PP658144.1	PP662692.1	MG738308.1	MG735709.1	Sol	Tolga-2
<i>T. rifaii</i>	Tri-B07	PP658148.1	PP662693.1	OL757372.1	ON101494.1	Sol	El Outaya-1
<i>T. rifaii</i>	Tri-B08	PP660939.1	PP662694.1	OL757372.1	ON101494.1	Sol	Tolga-1
<i>T. rifaii</i>	Tri-B10	PP660938.1	PP662695.1	OL757372.1	ON101494.1	Sol	M'Ziraa-2
<i>T. virens</i>	Tri-B17	PP660940.1	PP662696.1	MN102106.1	MK850836.1	Sol	Sidi Okba
<i>T. virens</i>	Tri-B19	PP660941.1	PP662697.1	MN102106.1	MK850836.1	Sol	M'Ziraa-4
<i>Aspergillus flavus</i>	/	KJ619997	MZ701709.1			Out Groupe	
<i>Aspergillus oryzae</i>	/	MN416218	AB007770.1			Out Groupe	

3. Résultats

3.1. Isolement de l'agent pathogène « *Fusarium spp.* »

Les symptômes de la maladie observés sur les plantes de cucurbitacées échantillonnées dans cette étude étaient le retard de croissance, le jaunissement et le flétrissement des feuilles, la nécrose des tiges et le début de la pourriture des racines, similaires aux symptômes de la fusariose (Figure 07). Nous avons procédé à l'isolement de cultures pures des champignons à partir des échantillons prélevés sur les champs. Les échantillons ont été collectés de manière aléatoire dans 18 sites agricoles situés dans sept régions de la wilaya de Biskra.

Sur la base des caractéristiques des colonies formées sur les plaques de PDA+, cinq jours après l'inoculation, un total de 117 colonies fongiques ont été isolées à partir des plantes de la famille des cucurbitacées infectées. La diversité de dix espèces de champignons a été déterminée. Cela comprenait 42 isolats de *Fusarium spp.*, 22 isolats de *Rhizopus spp.*, 13 isolats d'*Aspergillus spp.* et de *Penicillium spp.*, 12 isolats de *Monilia spp.*, 07 souches d'*Alternaria spp.* et 05 souches de *Botrytis spp.*, ainsi que une isolat dans le genres *Helmenthosporium spp.*, *Sclerotinia spp.* et *Stemphyllium spp.* Les fréquences d'isolement sont respectivement de 49,1 %, 25,7 %, 15,2 %, 15,2 %, 14 %, 8,2 %, 5,9 %, 1,2 %, 1,2 % et 1,2 % (Figure 09).

Dans cette étude, parmi les 42 initialement identifiées comme étant des *Fusarium spp.*, 25 isolats ont été utilisés pour la suite de ce travail et sont nommées dans le tableau 03.

3.2. Isolement de l'agent antagoniste « *Trichoderma spp.* »

Nous avons procédé à l'isolement des cultures pures des champignons à partir des échantillons de sol collectés sur les cinq sites. Sur la base de l'aspect morphologique des colonies, 21 isolats sont caractérisés initialement comme *Trichoderma spp.* et sont réparties sur les sites d'échantillonnage (Figure 10).

Vue la non disponibilité des moyennes et du temps, seuls 7 isolats sont choisis pour la continuité de ce travail, 2 isolats pour les deux sites de M'Ziraa et celle de Tolga et un isolat pour les autres sites de Sidi okba, Ain Naga et El Outaya (Figure 10).

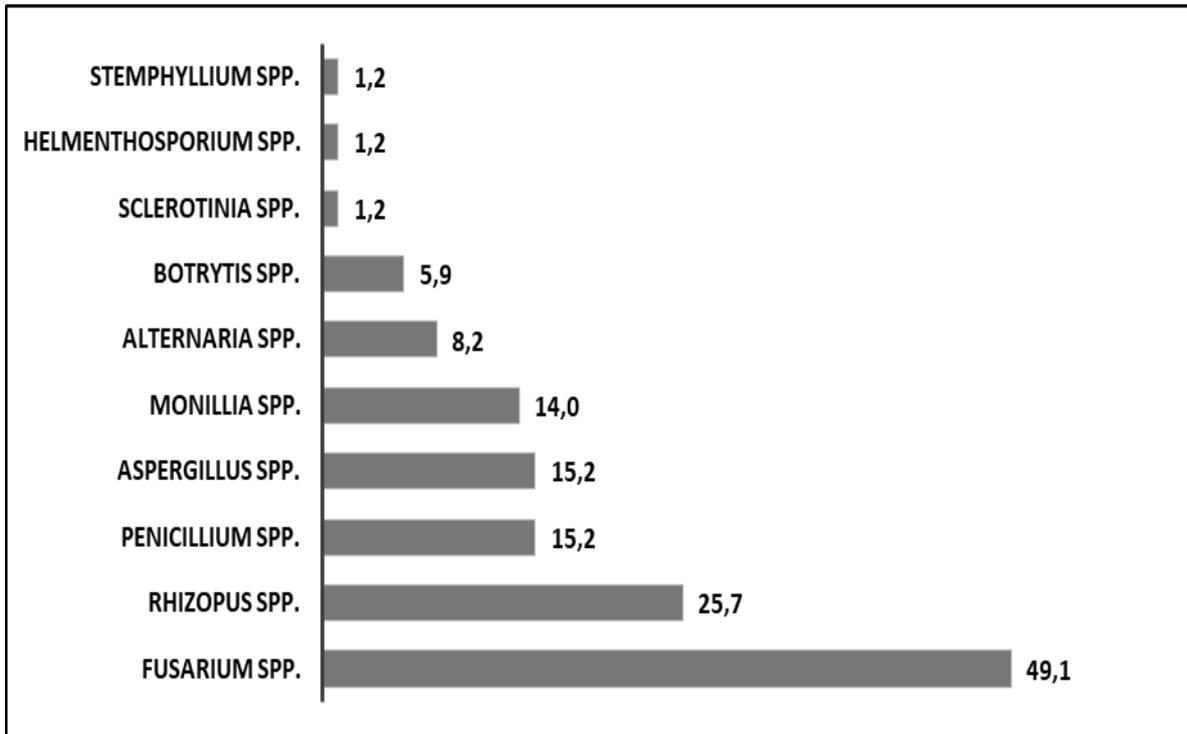


Figure 9: Nombre des isolats de Trichoderma spp. par site d'échantillonnage.

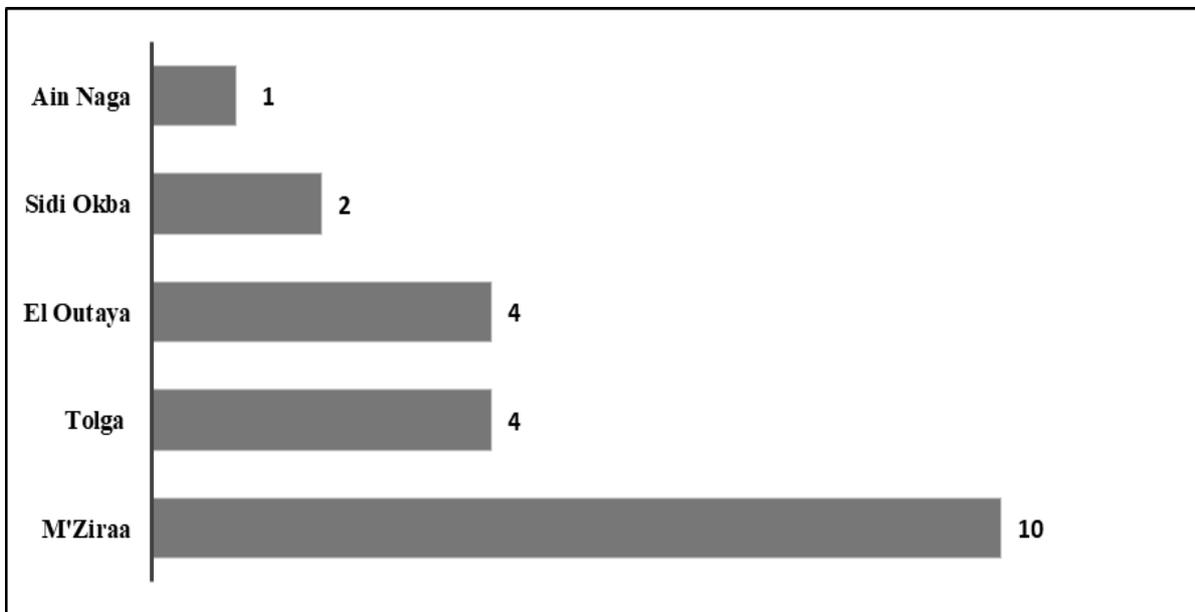


Figure 10: Le cortège des microflore fongiques isolées à partir des plantes des cucurbitacées (%)

3.3. Caractérisations morphologiques des isolats de *Fusarium* spp.

L'identification morphologique des 25 Isolats de *Fusarium* spp. repose sur une observation globale qui inclut à la fois la morphologie des colonies et l'analyse microscopique des spores (Figure 11-1).

Les colonies fongiques des isolats collectées ont atteint sur PDA ; un diamètre de 31 à 58 mm en 10 jours à 25 °C. 8 % des isolats se développent rapidement avec des taux de croissance supérieurs à 3 mm par jour ; le reste des isolats (12 %) se développe modérément avec un taux de croissance compris entre 1 et 3 mm par jour.

La couleur du dos des boîtes varie entre 13 couleurs (Figure 11-1-A et B) ; la majorité des souches ont la couleur pois de chameau avec un pourcentage de 24 %, suivie de la couleur bleu persan, qui présente 16 % de toutes les souches, et ensuite la couleur aubergine avec 12 %. Les deux couleurs sable et rouge présentent le même pourcentage (8 %), et le reste des isolats présentent les couleurs ambre, bis, gomme gutte, jaune Naples, lin, melon et rouge Bismarck avec 4 % pour chacune d'entre elles.

La marge des cultures des isolats après 7 jours d'incubation se diversifie entre une marge filiforme (40 %), ondulée (40 %) de la totalité des isolats, la forme entière (12 %) et la forme lobée la moins présente (8 %). Tous les isolats ont des hyphes segmentés, dont 76 % de mycélium non aérien et 24 % de mycélium aérien.

L'observation de la figure 11-1-C montre que ; les isolats testés produisent trois types de spores : les macroconidies, les microconidies et les chlamydospores. Les macroconidies se présentent sous la forme d'un macroconidium ou d'une macroconidie mince, droite, presque en forme d'aiguille, avec une courbure dorsiventrale ou avec une face dorsale plus courbée que la face ventrale, avec deux à sept septas, la majorité d'entre eux ayant une face dorsale plus courbée que la face ventrale et avec deux à quatre septas. Les cellules terminales apicales des macroconidies étaient émoussées, papillaires, crochues, effilées ou une combinaison de deux formes ou plus dans le même isolat, la majorité d'entre elles étant émoussées ou crochues. Les cellules terminales basales des macroconidies étaient en forme de pied, nettement dentelées, à peine dentelées, ou une combinaison de deux formes ou plus dans la même souche, la majorité d'entre elles étant à peine dentelées.

Les microconidies étaient ovales, à deux cellules, ovales à trois cellules, réniformes, obovoïdes à base tronquée, pyriformes ou globuleuses, la majorité d'entre elles combinant les trois formes ovales, ovales à deux cellules et ovales à trois cellules ou ovales, ovales à deux cellules et réniformes, la majorité d'entre elles ayant deux septums. Les chlamydospores semblent être sphériques, lisses et en chaînes. La majorité des cellules conidiogènes sont des polyphiles longs ou courts ; la plupart sont disposées sur des phialides simples.

Les isolats ont été confirmés comme étant des *Fusarium* spp. en fonction de leurs caractéristiques morphologiques détaillées.

3.4. Caractérisations morphologiques des isolats de *Trichoderma* spp.

Les sept isolats de *Trichoderma* cultivés en milieu PDA ont montré une variation marquante dans leur caractéristique morphologique (Figure 11-2-A et B).

Le tableau 05 englobe toutes les caractéristiques enregistrées sur les isolats étudiés, notamment : l'aspect de la colonie qui manifeste 03 groupes (aspect non déterminé, en cercles et en stries).

La couleur verso de la colonie qui montre deux couleurs différentes (incolore et blanc), la couleur recto de la boîte qui donne trois couleurs différentes (vert épinard, vert pin et vert mélése) et sur le type de mycélium (Intramatriciel ou aérien).

Le même tableau montre que les sept isolats de *Trichoderma* cultivés sur un milieu PDA ont manifesté une variation remarquable de leurs caractéristiques microscopiques des spores et des phialides telles que la forme des phialides (flasques, quilles et flasques + quilles), la forme des spores (globuleuses en grappe, ovoïdes + globuleuses et ovoïdes globuleuses en grappe) ainsi que la présence ou l'absence des chlamydospore (Figure 11-2-C).

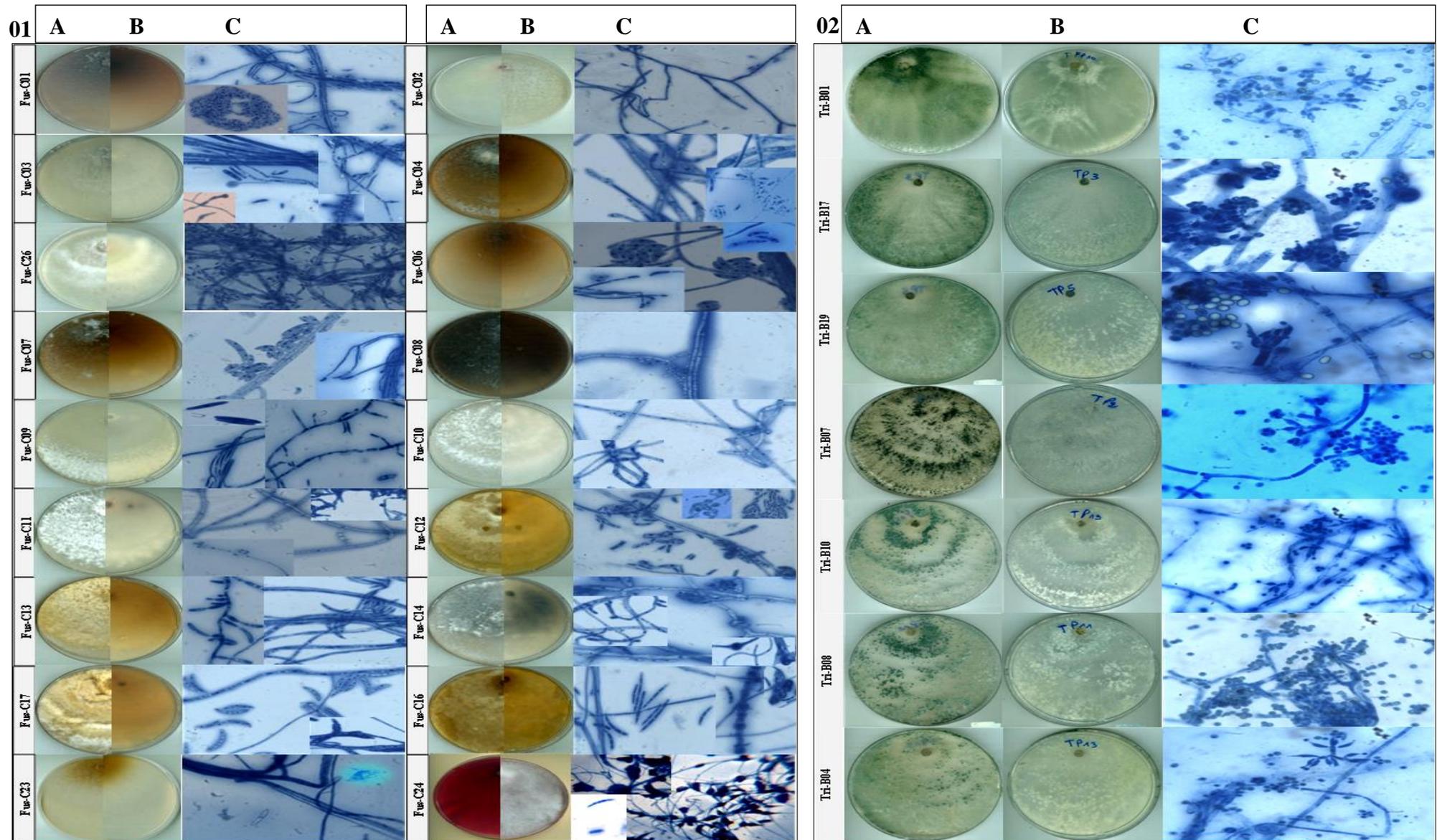


Figure 11: Aspect Morphologique et microscopique des isolats étudiant sur PDA après 07 jours (Photos originales,2022).

1- Isolats de Fusarium. 02-Isolats de Trichoderma.

A : Le recto de la boîte de pétrie des isolats. B : le verso de la boîte de pétrie. C : Aspect microscopiques des isolats.

3.5. Identification moléculaire des isolats de *Fusarium* spp.

L'identification moléculaire des isolats de *Fusarium* révèle une grande variabilité d'espèces. L'analyse PCR sur gel d'agarose, des gènes ITS et TEF-1 sont amplifiés dans tous les isolats testés donnant des fragments de taille 638 et 280 pb respectivement, néanmoins quelques isolats n'ont pas donné des résultats au séquençage.

Les numéros d'accessions de nos espèces de *Fusarium* sur la base des données NCBI sont montrés sur le tableau 03. L'analyse des séquences par BLAST et la comparaison avec les séquences des espèces de *Fusarium* de référence de la base de données NCBI révèlent des similitudes à 100% pour les deux amorces utilisées.

Sur les 25 isolats étudiés, l'identification des complexes par l'ITS (White et al., 1990; Wang et al., 2019) ; indique 28% des isolats appartenant au complexe *Fusarium solani* dont 24% de l'espèces *Fusarium solani* et 4% de *Fusarium falciforme* , 20% au complexe *Fusarium oxysporum*, de même pour le *Fusarium equiseti*, 12% de *Fusarium nygamai*, 8% de *Fusarium proliferatum* et 4% de *Fusarium brachygibbosum* .

Ces résultats sont confirmés au niveau de l'espèce par l'identification de l'amorce TEF-1 (Kristensen et al., 2005; O'Donnell et al., 2015) qui signale sur les 25 isolats : 16% de *Fusarium solani* et 4% de *Fusarium falciforme* qui appartiennent les deux au complexe *Fusarium Solani*, 20 % de *Fusarium oxysporum* , 28% de *Fusarium equiseti*, 12% de *Fusarium nygamai* et 08% de *Fusarium proliferatum* (Tableau 03).

3.6. Identification moléculaire des isolats de *Trichoderma* spp.

L'étude moléculaire des échantillons de *Trichoderma* met en évidence une différence évidente entre les espèces. Lors de l'analyse PCR sur gel d'agarose, les gènes ITS et TEF-1 sont amplifiés dans tous les isolats testés, ce qui entraîne la formation de fragments de taille 656 et 268 pb respectivement.

Les numéros d'accession de nos espèces de *Trichoderma* sont présentés dans le tableau 04 en se référant aux données NCBI. L'étude des séquences par BLAST et la comparaison avec les séquences des espèces de *Trichoderma* de référence de la base de données NCBI révèlent des similitudes à 100 % pour le gène responsable de la région ITS et plus de 99 % pour le gène responsable de la région TEF-1.

Dans notre étude ; l'analyse des espèces par l'ITS et TEF-1 regroupe nos isolats de *Trichoderma* en 04 espèces différents et bien déterminées ; trois des isolats sont attribués à *Trichoderma rifaii*, deux à *Trichoderma virens*, une à *Trichoderma harzianum* et un isolat à *Trichoderma asperellum* (Tableau 04).

3.7. Analyse phylogénétique des espèces de *Fusarium*

Les séquences obtenues pour les deux amorces ITS et TEF-1 des isolats de *Fusarium* sont alignées chacune seule avec les régions consensus de références à l'aide du programme Muscle algorithme par le logiciel MEGA11 (Tamura et al., 2021) afin de construire l'arbre phylogénétique pour chaque amorce. L'outgroup était constitué d'*Aspergillus oryzea* et d'*Aspergillus flavus*.

L'analyse de l'arbre phylogénétique des séquences de la région ITS révèle une répartition des espèces de *Fusarium* en six principaux clades nommés I, II, III, IV, V et VI (Figure 12-a). Un total de 1000 répliquions bootstrap sont effectuées et des pourcentages élevés de bootstrap sont révélés sur les nœuds internes de l'arbre. Le clade I est composé de quatre isolats (Fus-C10, Fus-C11, Fus-C14 et Fus-C15) présentant de fortes similitudes entre eux et de *F. oxysporum* référencé MK385594, avec un support bootstrap de 98 %. L'isolat Fus-C09 présente une forte similitude au *F. oxysporum* référencé (MH911412.1) formant un clade avec une valeur bootstrap de 100 %. Le clade II est constitué d'isolats de fortes similitudes avec *F. proliferatum* Fus-C02 et Fus-20 avec la référence KY425734.1 soutenue par la valeur bootstrap de 100 %. Les isolats Fus-C01, Fus-C03 et Fus-C08 sont regroupés en clade III et présentent de fortes similitudes avec la souche témoin *F. nygamai* (OM459813. 1) avec la valeur bootstrap de 64 %. L'isolat Fus-C24 forme le clade IV présentant de fortes similitudes avec le *F. brachygibbosum* (MW928607.1) avec 100 %. Le clade V regroupe les isolats Fus-C13, Fus-C16, Fus-C17, Fus-C18 et Fus-C19 qui ont une forte similitude avec le *F. equiseti* référencé par l'accession MK212925.1 avec 100 %. Enfin, le dernier clade (VI) est composé de deux sous-groupes avec un support bootstrap de 100 %. Les isolats Fus-C04, Fus-C05, Fus-C06, Fus-C12, Fus-C21 et Fus-C22 de forte similitude avec le *F. solani* référés par l'accession KX583231.1 avec une valeur bootstrap égale à 100 % formant le groupe principale, l'isolat Fus-C07 forme avec le *F. falciforme* (OQ860750.1) un sous-groupe distincte avec une similitude de 100 % ; On considère ce clade comme un groupe de complexe de *F. solani*.

D'un autre côté, l'analyse de l'arbre phylogénétique des séquences de la région TEF-1 présente des observations conformes à celles des séquences ITS, avec un total de 1000 réplifications bootstrap (Figure 12-b). Les *Fusarium* sont regroupés en six clades. Les trois isolats Fus-C01, Fus-C03 et Fus-C08 forment le premier clade (clade I) avec le *F. nygamai* référencé ON502959.1 et une similitude de 64 %. Les isolats Fus-C02 et Fus-C22 sont regroupés dans le clade II et présentent de fortes similitudes avec le *F. proliferatum* (KP964908.1) de 99 %. Le clade III regroupe les isolats Fus-C09, Fus-C10, Fus-C11, Fus-C14 et Fus-C15, qui présentent une similitude avec le *F. oxysporum* avec une robustesse de 80 %. Le quatrième clade (IV) regroupe les isolats Fus-C13, Fus-C16, Fus-C17, Fus-C18, Fus-C19, Fus-C23 et Fus-C25, qui sont étroitement liés au *F. equiseti* (MK683463.1) avec un support bootstrap de 95 %. Le clade V est composé des quatre isolats Fus-C05, Fus-C12, Fus-C21 et Fus-C22 ont une forte similitude (99 %) avec l'espèce *F. solani* (OK181674.1). Enfin, l'isolat Fus-C07 forme le dernier clade (VI) avec le *F. falciforme* (JF740774.1), avec un support bootstrap de 63 %.

3.8. Analyse phylogénétique des espèces de *Trichoderma*

Le logiciel MEGA11 (Tamura et al., 2021) est utilisé pour aligner les séquences obtenues pour les deux amorces ITS et TEF-1 des isolats de *Trichoderma* avec les régions consensus de référence. Cela permet de créer un arbre phylogénétique pour chaque amorce. Les espèces de l'outgroup comprenaient *Aspergillus oryzae* et *Aspergillus flavus*.

En étudiant la phylogénie des séquences de la région ITS, on observe une division des espèces de *Trichoderma* en quatre clades principaux appelés I, II, III et IV (Figure 13-a). Les réplifications de bootstrap sont effectuées à un total de 1000 fois, avec des pourcentages élevés supérieures à 80% sur les nœuds internes de l'arbre. Trois isolats (Tri-B07, Tri-B08 et Tri-B10) constituent le clade I, qui présentent de nombreuses similitudes entre eux et avec *T. rifaii* référencé OL757372.1. Le clade II est composé l'isolat Tri-B04 qui présente une similitude significative avec *T. harzianum* (MG738308.1) ; les isolats Tri-B17 et Tri-B19 sont identifiés comme *T. virens* référencé MN102106.1, tandis que Tri-B01 est regroupé dans le dernier clade IV et présente de fortes similitudes avec la souche témoin *T. asperellum* (MW386848.1).

Tableau 4: Caractéristiques morphologiques et microscopiques des isolats de *Trichoderma* spp.

Groupe	Caractères morphologiques des colonies						Caractères microscopiques			
	Aspect	Couleur Verso	Couleur Recto	Forme	Elévation	Marge	Type de mycélium	Forme des phialides	Forme des spores	Présence des chlamydo-spores
I	Aspect non déterminé	Incolore	Vert épinard	Filamenteuse	Cratériform	Undulate	Intramatriciel	Flasques	Globuleuses en grappe	Absence
	Tri-B08	Tri-B07, Tri-B17, Tri-B19, Tri-B01	Tri-B01,	Tri-B07, Tri-B17, Tri-B19, Tri-B01, Tri-B08, Tri-B10, Tri-B04	Tri-B07, Tri-B17, Tri-B19, Tri-B01, Tri-B08, Tri-B10, Tri-B04	Tri-B07, Tri-B17, Tri-B19, Tri-B01, Tri-B08, Tri-B10, Tri-B04	Tri-B19, Tri-B01, Tri-B08, Tri-B10,	Tri-B17, Tri-B19, Tri-B01, Tri-B08,	Tri-B07, Tri-B08,	Tri-B07, Tri-B01, Tri-B08, Tri-B10,
II	Cercle	Blanc	Vert pin				Aérien	Quilles	Ovoïdes+ globuleuses	Présence
	Tri-B07, Tri-B01, Tri-B10, Tri-B04	Tri-B08, Tri-B10	Tri-B07, Tri-B08, Tri-B10				Tri-B07, Tri-B17, Tri-B04	Tri-B04	Tri-B17, Tri-B19, Tri-B10, Tri-B04	Tri-B17, Tri-B19, Tri-B04
III	Stries		Vert mélèse					Flasques + Quilles	Ovoïdes+ globuleuses en grappe	
	Tri-B19, Tri-B17		Tri-B17, Tri-B19					Tri-B07, Tri-B10	Tri-B01	
VI		Jaune claire	Vert bouteille							
		Tri-B04	Tri-B04							

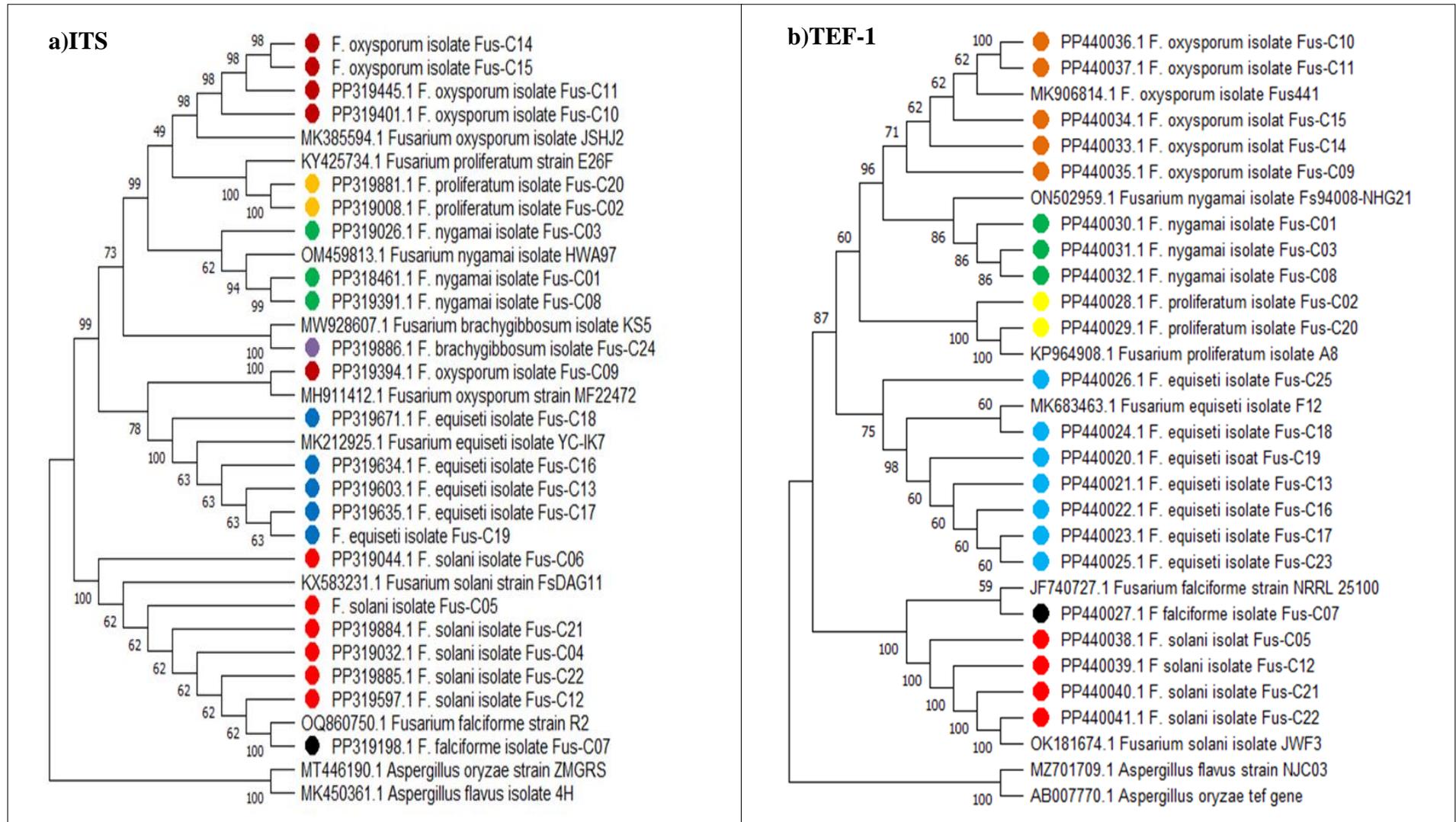


Figure 12: Analyse phylogénétique des espèces identifiées des Fusarium: a)Arbre phylogénétique de la région ITS, b)Arbre phylogénétique de la région TEF-1

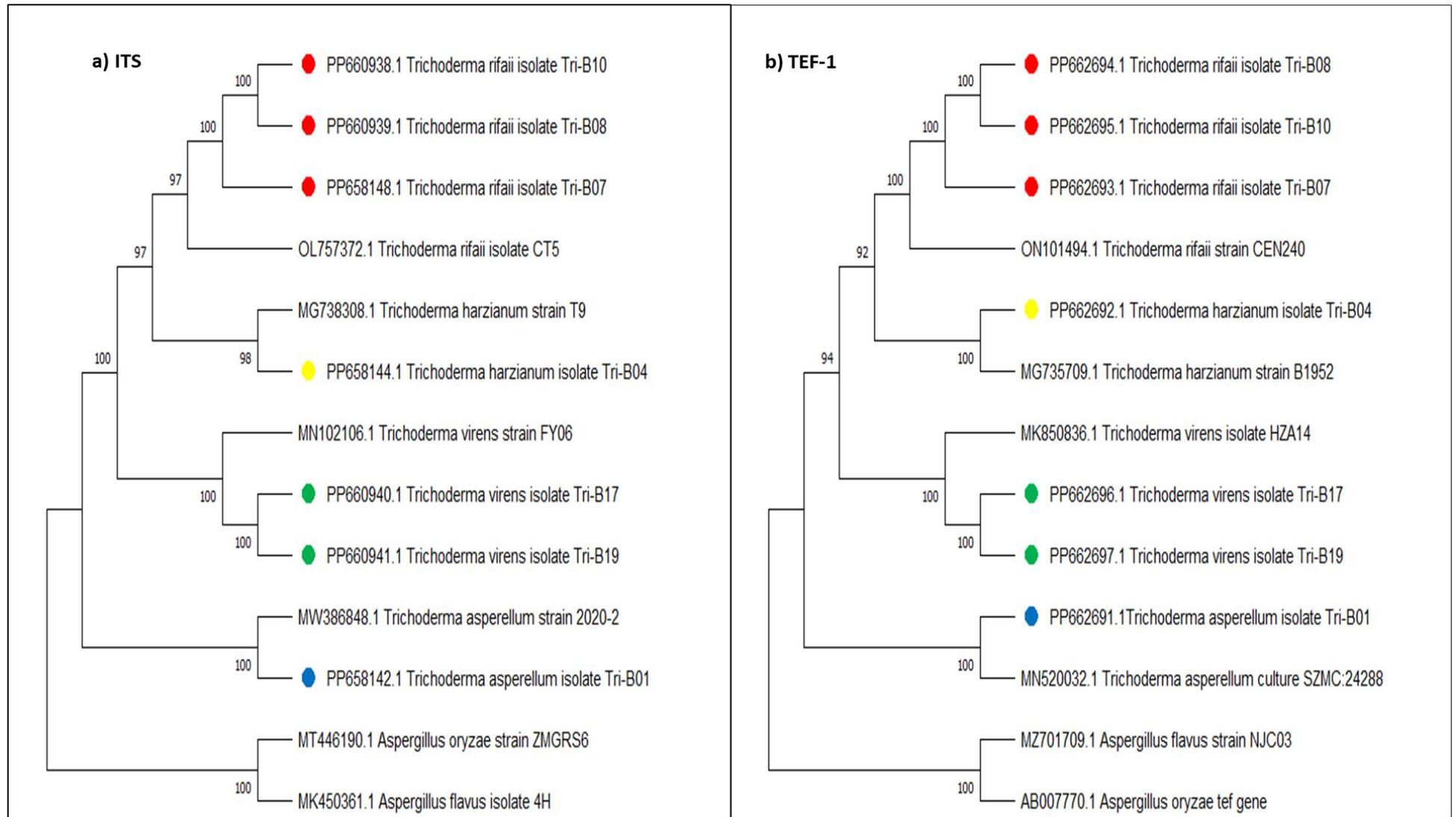


Figure 13: Analyse phylogénétique des espèces identifiées des *Trichoderma*: a) Arbre phylogénétique de la région ITS, b) Arbre phylogénétique de la région TEF-1.

D'un autre point de vue, l'étude de l'arbre phylogénétique des séquences de la région TEF-1 révèle des observations similaires à ceux des séquences ITS, avec un total de 1000 réplifications bootstrap (Figure 13-b). Il existe également quatre clades soutenus de *Trichoderma*, avec des valeurs bootstrap de 100 %. Le premier clade (clade I) est constitué des trois isolats Tri-B07, Tri-B08 et Tri-B10, avec le *T. rifaii* identifié sous le numéro ON101494.1. Le clade II regroupe l'isolat Tri-B04 qui manifeste des fortes similitudes avec *T. harzianum* référencier (MG735709.1). Les isolats Tri-B17 et Tri-B19 présentent de nombreuse semblance avec le *T. virens* (MW133256.1) formant le troisième clade. L'isolat Tri-B01 est inclus dans le clade IV, ce qui montre une similarité avec le *T. asperellum* (MN520032.1).

4. Discussion

Notre objectif d'étude est de procéder à la caractérisation morphologique et l'identification moléculaire de 25 isolats de *Fusarium* spp. en tant qu'agents pathogènes, ainsi que 07 isolats de *Trichoderma* indigène en tant qu'agents antagonistes.

L'identification moléculaire des champignons permet une distinction plus précise, en particulier dans les cas où les caractéristiques morphologiques traditionnelles peuvent être ambiguës ou difficiles à observer (Druzhinina et al., 2005).

En premier lieu ; 25 isolats de *Fusarium* spp. provenant de plantes présentant des symptômes tels que le flétrissement, le jaunissement et le dessèchement de la partie aérienne, ainsi que le brunissement des racines, dans différentes régions de la wilaya de Biskra en Algérie, sont caractérisées et identifiées. Pour la première fois en Algérie, une approche combinant des méthodes morphologiques et moléculaire, utilisant l'espaceur transcrit interne (ITS) et le facteur d'élongation (TEF-1), a été utilisée pour déterminer l'affiliation taxonomique des *Fusarium* pathogènes les plus fréquents et les plus nocifs pouvant causer des symptômes de fusariose dans les cultures de cucurbitacées.

Grâce à ces méthodes, sept espèces de *Fusarium* ont été identifiées et caractérisées morphologiquement. Il s'agit de *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. nygamai*, *F. equiseti*, *F. prolifératum*, *F. falciforme* et *F. brachygibbosum*. Ces espèces sont connues pour leur pouvoir pathogène élevé et leur capacité à causer des dommages importants aux cultures de cucurbitacées.

Les gènes TEF-1 et ITS sont largement préférés pour l'identification et la classification phylogénétique des espèces de *Fusarium*. Des études antérieures ont montré que ces marqueurs génétiques sont efficaces pour différencier les espèces de *Fusarium* (Mbofung et al., 2007; Wang et al., 2011; O'Donnell et al., 2009, 2015; Pinaría et al., 2015)

Dans cette étude, l'utilisation de l'ITS a permis d'identifier les complexes de *Fusarium*, tels que le complexe Solani et Oxysporum, ainsi que des espèces spécifiques telles que *F. prolifératum* et *F. falciforme* (Nikiema et al., 2023). L'ITS est un marqueur génétique couramment utilisé dans les études de phylogénie des *Fusarium* en raison de sa variation séquentielle et de sa capacité à différencier les espèces étroitement apparentées.

En revanche, le gène codant la région de TEF-1 offre une identification plus précise des espèces de *Fusarium* (Schroers et al., 2016; Summerell, 2019; Kee et al., 2020). Ce marqueur génétique présente une plus grande résolution phylogénétique et permet de distinguer plus précisément les espèces étroitement liées. Il est donc considéré comme un outil puissant pour l'identification précise et la classification phylogénétique des espèces de *Fusarium*.

Les chercheurs en Algérie ont largement utilisé l'approche de l'identification moléculaire pour étudier la présence et la diversité des espèces de *Fusarium* dans différentes autres cultures. Debbi et al., (2018) se sont penchés sur les races de *Fusarium oxysporum* affectant les cultures de tomate. Abdallah- Sahouli et al., (2020) ont étudié la présence de *Fusarium oxysporum* et *Fusarium proliferatum* sur les palmiers dattiers. Également ; Azil et al., (2021) ont identifié différentes espèces de *Fusarium*, telles que *F. oxysporum*, *F. venenatum*, *F. culmorum*, *F. redolens*, *F. cf. Tricinctum*, *F. sambucinum*, *F. cf. incarnatum-equiseti*, *F. nygamai* et *F. brachygibbosum*, sur les cultures de pommes de terre. Sur les cultures de blé, Abdallah-Nekache et al., (2019) ont identifié plusieurs espèces de *Fusarium*, notamment *Fusarium culmorum*, *F. pseudograminearum*, *F. verticillioides*, *F. avenaceum*, *F. culmorum*, et *F. pseudograminearum*, en 2020 ; (Imane et al.,) ont identifier les espèces de *Fusarium*, notamment *F. acuminatum*, *F. equiseti*, *F. avenaceum*, *F. solani*, *F. culmorum* et *F. incarnatum-equiseti*. Bouanaka et al., en (2023) ont identifié *Fusarium asiaticum* et *Fusarium incarnatum* sur les cultures de blé.

Ces études ont montré la présence de diverses espèces de *Fusarium* dans différentes cultures en Algérie, notre travail c'est ajout très important dans l'identification de la diversité des *Fusarium* sur les cultures des cucurbitacées.

En deuxième lieu ; 07 isolats de *Trichodermaspp.* dérivant des sols des champs des cucurbitacées, dans différentes régions de la wilaya de Biskra en Algérie, sont caractérisées et identifiées. On a adopté la même approche de caractérisation et d'identification des *Fusarium* afin de déterminer la l'affiliation taxonomique des *Trichoderma* indigènes.

L'identification moléculaire des *Trichoderma* avec la séquence TEF-1 est préférée ; car elle contient des introns, qui permettent une plus grande variabilité entre les espèces. La séquence TEF-1 offre une résolution plus élevée que l'ITS au niveau de l'espèce car différentes espèces peuvent partager une identité de séquence ITS de 100 % (Chaverri et al., 2015; Hermosa et al., 2000, 2004;Druzhinina et al., 2005, 2006).

Faveur à ces méthodes, quatre espèces de *Trichoderma* ont été identifiées et caractérisées morphologiquement dans notre étude. Il s'agit de *T.harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens* et *T.rifaii*, cet dernière est signalé pour la première fois en Algérie.

Ces dernières années, un grand nombre d'études sur les *Trichoderma* basées sur la séquence des gènes et sur la taxonomie ont proliféré en raison du grand intérêt des aspects appliqués de cette espèce. En revanche, les recherches récentes se sont concentrées sur des espèces de *Trichoderma* qui vivent dans le sol dans des zones géographiquement restreintes (Haouhach et al., 2020), tandis que les recherches antérieures se sont concentrées sur les capacités de biocontrôle de cette espèce (Grondona et al., 1997; Hermosa et al., 2000, 2004).

Plusieurs études réalisées en Algérie se sont concentrées sur l'identification des espèces de *Trichoderma* présentes dans différents environnements. Debbi et al., (2018) ont étudié le sol de tomate et ont identifié les espèces *T. asperellum*, *T. harzianum* et *T. ghanense*. Houdaa et Zouaouia, en (2020) ont identifié les espèces *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* et *T. atroviride* à partir du sol de pois chiche. Benttoui et al., (2020) ont mis en évidence les espèces *T. harzianum* et *T. afroharzianum*, ainsi que *T. hirsutum*. Chihat et al., en (2021) ont également étudié différentes espèces de *Trichoderma* en Algérie, notamment *Trichodermaatroviride*, *T. gamsii*, *T. orientale* et les espèces du complexe *T. harzianum* (*T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense*). Aussi, Hammad et al., en (2021) ont réalisé une étude exhaustive en Algérie et ont identifié plusieurs espèces de *Trichoderma*, dont *T. afroharzianum*, *T. gamsii*, *T. longibrachiatum*, *T. atroviride*, *T. brevicompactum*, *T. breve* et *T. lixii*.

Notre travail est complémentaire à ces études, dont l'objectif est de mettre en évidence la diversité des espèces de *Trichoderma* présentes en Algérie et ont contribué à une meilleure compréhension des rôles de cette espèces.

5. Conclusion

En conclusion de ce chapitre, notre étude a démontré l'importance de combiner des approches de caractérisation morphologique et moléculaire pour une identification taxonomique complète des isolats de *Fusarium* spp. dans les cultures de Cucurbitacées et de *Trichoderma* spp. au niveau de l'espèce en Algérie.

En utilisant les régions ITS et TEF-1 de l'ADN, nous avons pu déterminer avec précision les espèces de *Fusarium* présentes, et d'obtenir des informations détaillées sur la diversité des espèces ce qui constitue une première pour cette culture dans notre pays.

De plus et en suivant la même approche que celle de *Fusarium*, notre étude a également révélé la présence de l'espèce *T. rifaii* pour la première fois en Algérie en plus la diversité de l'espèce de *Trichoderma* dans la région d'étude. Cette découverte étend notre connaissance de la distribution des espèces de *Trichoderma* dans le pays et souligne l'importance de poursuivre les études sur ces agents antagonistes prometteurs.

CHAPITRE III

**Pouvoir pathogène des *Fusarium* spp. et
antagoniste des *Trichoderma* spp.**



Chapitre III : Pouvoir pathogène des *Fusarium spp.* et antagoniste des *Trichoderma spp.*

1. Introduction

L'agriculture moderne fait face à de nombreux défis, parmi lesquels les maladies des plantes occupent une place prépondérante. Parmi les agents pathogènes les plus redoutés, les espèces du genre *Fusarium* qui causent des pertes économiques significatives en affectant une grande variété de cultures. Ces champignons phytopathogènes sont responsables de maladies telles que la fusariose, entraînant à la fois des réductions de rendement et des problèmes de qualité des récoltes. Dans ce contexte, la compréhension approfondie du pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* revêt une importance cruciale pour le développement de stratégies de gestion efficaces.

Parallèlement, le biocontrôle émerge comme une alternative prometteuse aux méthodes chimiques traditionnelles de lutte contre les maladies des plantes. Les isolats de *Trichoderma*, des champignons réputés pour leurs propriétés antagonistes, jouent un rôle clé dans cette approche. Ces microorganismes bénéfiques sont capables de coloniser la rhizosphère et de protéger les plantes contre divers pathogènes par des mécanismes variés.

Dans ce chapitre, nous nous pencherons sur l'étude comparative du pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* et du pouvoir antagoniste des isolats de *Trichoderma* isolés dans notre étude. En explorant les interactions entre ces deux champignons, nous visons à mieux comprendre les dynamiques de leur confrontation et à évaluer le potentiel de *Trichoderma* comme agent de biocontrôle efficace contre les infections à *Fusarium*. Cette investigation contribuera non seulement à enrichir notre connaissance fondamentale des interactions microbiennes, mais aussi à accélérer le développement de solutions durables contre les maladies causées par les *Fusarium spp.* pour une agriculture plus durable.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Vitesse de croissance des isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma* identifiées

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures pendant 10 jours en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma*. Ces mesures servent à calculer la vitesse de croissance (**VC**) pour chaque isolat fongique. Cette caractérisation permet d'identifier les souches les plus agressives de *Fusarium* et les plus efficaces de *Trichoderma* pour des applications de biocontrôle. En suivant la formule proposer par (Salhi et *al.*, 2015) afin de déterminer la vitesse de croissance mycélienne, dont (**D**) c'est le diamètre de la zone de croissance de chaque jour (mm) et (**T**) c'est le temps d'incubation (24h) :

$$VC (mm/24h) = [D1/T1] + [(D2 - D1)/T2] + [(D3 - D2)/T3] + \dots + [(Dn - D1n - 1)/Tn]$$

2.2. Pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* identifiées.

La pathogénicité des espèces de *Fusarium* étudiés est évaluée selon (Bolkan et Butler, 1974; Abd Ali et *al.*, 2021), avec quelques modifications. Des boîtes de petri de 9 centimètres contenant 20 ml de milieu d'agar aqueux ont été préparées et inoculées avec les isolats de *Fusarium* en plaçant des disques de 0,5 cm de diamètre prélevés à partir des bords des colonies de *Fusarium* âgées de 7 jours. Les boîtes ont été incubées à 25 °C pendant trois jours. Ensuite, des graines d'une variété de melon, présentant une sensibilité au *Fusarium*, ont été stérilisées en surface avec une solution d'hypochlorite de sodium à 1 %, puis ont été rincées abondamment avec de l'eau distillée stérile et déposer en cercle près du bord de la croissance fongique, à raison de 5 graines par boîte avec trois répétitions (**TGF**), plus le témoin sans *Fusarium* (**TG**) (Figure14). Les boîtes ont été incubées à 25 °C pendant 7 jours.

2.2.1. Inhibition de la germination

Après les 7 jours d'incubation des *Fusarium*. Le pourcentage de germination des graines a été calculé en appliquant la formule suivante :

$$\text{Germination \%} = \frac{\text{Nombre des grains germés}}{\text{Nombre totale des grains}} \times 100$$

Ensuite, le pourcentage d'inhibition/stimulation pour chaque isolat a été donc calculé comme suite :

Inhibition de la germination %

$$= \frac{\text{Nombre des grains germés TG} - \text{Nombre des grains germés TGF}}{\text{Nombre des grains germés TG}} \times 100$$

2.2.2. Inhibition de la longueur des coléoptiles

La mesure de la longueur de la coléoptile des graines germées est systématiquement effectuée après le septième jour d'incubation. Cela implique la comparaison des longueurs des coléoptiles des graines germées exposées aux isolats de *Fusarium* (LCF) avec celles des graines germées non exposées (LCT°), utilisées comme témoin. Afin d'estimer le pouvoir inhibitrices des isolats de *Fusarium* tester ; en calculant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de la longueur des coléoptiles \%} = \frac{\text{Moyenne des LCT}^\circ - \text{Moyenne des LCF}}{\text{Moyenne des LCT}^\circ} \times 100$$

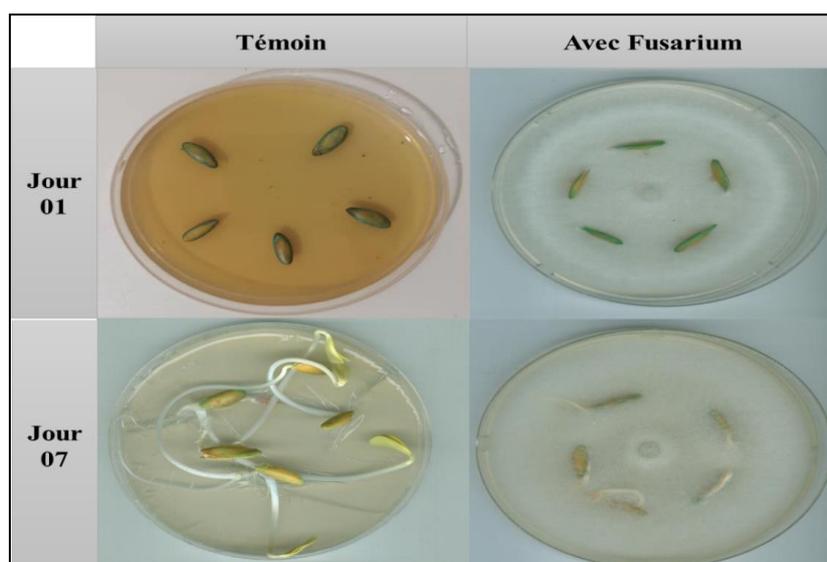


Figure 14: Teste de pathogénicité des isolats de *Fusarium*.

2.3. Pouvoir antagoniste des isolats de *Trichoderma* identifiées

2.3.1. Test de confrontation

L'activité antagoniste des 7 souches de *Trichoderma* vis-à-vis trois isolats de *Fusarium spp.*, ont été étudié en utilisant la technique de confrontation directe (double culture). Elle consiste à mettre ensemble l'agent antagoniste et le pathogène dans une boîte de pétrie de 90 mm de diamètre, contenant le milieu PDA. Les deux explants de 5 mm de diamètre provenant d'une culture de 5 jours, sont ensemencés au même temps à une distance de 40 mm l'un de l'autre (Pathogène et antagoniste) et équidistance du centre de la boîte. (González et al., 2020; Shirazi et al., 2022; Xu et al., 2022)

Pour le témoin on a déposé au centre de la boîte un explant de 5 mm de diamètre, provenant uniquement du pathogène. Trois répétitions de la manipulation ont été réalisées pour chaque combinaison de *Trichoderma* / *Fusarium*. Les boîtes sont incubées à 28°C pendant 7 jours (Figure 15)(Oskiera et al., 2015;González et al., 2020; Xu et al., 2022).

Les boîtes de Pétri ont été examinées quotidiennement pour évaluer l'inhibition de la croissance des colonies pathogènes et leur prolifération par *Trichoderma spp.*(Chihat et al., 2021).

Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des *Fusarium* par les *Trichoderma* a été calculé pour le 7^{ème} jour (Hibar et al., 2005) , selon la formule suivante, en prenant en considération que « **CDT°** » c'est la croissance diamétrale de témoin (pathogène uniquement) et « **CDPA** » c'est la croissance diamétrale du pathogène en présence de l'antagoniste :

$$\text{Inhibition de la croissance mycélienne de pathogène \%} = \frac{CDT^{\circ} - CDPA}{CDT^{\circ}} \times 100$$

2.3.2. Evaluation de la capacité de mycoparasitisme des *Trichoderma*

Pour apprécier la capacité de mycoparasitisme des souches de *Trichoderma* étudiées, des observations microscopiques ont été réalisées au niveau de la zone de contact entre *Trichoderma* et *Fusarium*. Ces analyses permettent de visualiser les interactions directes entre les hyphes des deux champignons et de déterminer les mécanismes par lesquels *Trichoderma*

exerce son action antagoniste (Moreno-Ruiz et *al.*, 2020; Mukhopadhyay et Kumar, 2020; Tyśkiewicz et *al.*, 2022).

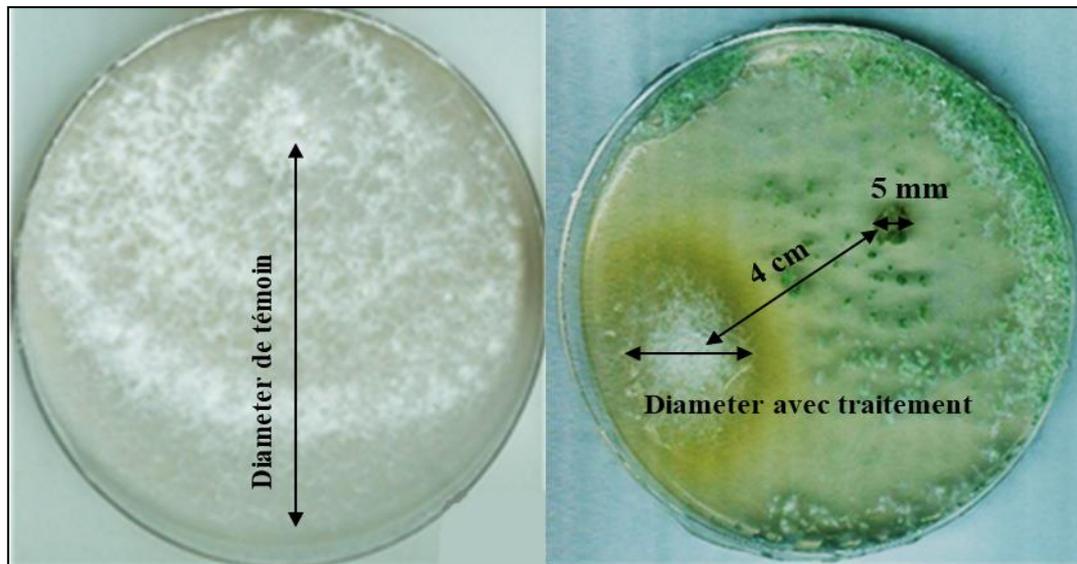


Figure 15 : Test de confrontation directe *Fusarium* /*Trichoderma*

2.4. Analyse statistique

L'analyse de la variance (ANOVA) est réalisée à l'aide de logiciel SPSS Statistics v.24 pour le pourcentage d'inhibition de la germination, le pourcentage d'inhibition de la longueur des coléoptiles et le pourcentage d'inhibition de la croissance des *Fusarium* par les *Trichoderma* testées ainsi les vitesses de croissance des isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma*. Les moyennes sont comparées en utilisant le test de Tukey ($P < 0,05$) et les graphiques sont réalisés avec Excel 2019.

3. Résultats

3.1. Evaluation de la vitesse de croissance

D'après les résultats de l'évaluation de la vitesse de croissances des isolats des deux espèces fongiques étudiées, il est évident que les isolats de *Trichoderma spp.* ont une vitesse de croissance nettement supérieure à celle des isolats de *Fusarium spp.*. Les valeurs de croissance pour *Trichoderma* varient entre 7,85 mm et 9,42 mm par 24 heures, montrant une capacité de croissance rapide et uniforme parmi les différents isolats. En revanche, les isolats de *Fusarium* présentent une plus grande variation dans leur vitesse de croissance, allant de 2,89 mm à 4,89 mm par 24 heures. Cette différence notable suggère que *Trichoderma* pourrait avoir un avantage compétitif en termes de colonisation rapide des milieux.

3.1.1. Vitesse de croissance des isolats de *Fusarium* identifiées

Dans l'étude des isolats de *Fusarium* (Figure16-A), la vitesse de croissance varie considérablement parmi les différents isolats. Les isolats présentant la vitesse de croissance la plus élevée sont Fus-C15 (*F. oxysporum*) avec 4,89 mm par 24 heures et Fus-C25 (*F. equiseti*) avec 4,81 mm par 24 heures. Ces isolats se distinguent par leur croissance rapide comparativement aux autres. À l'inverse, les isolats avec la vitesse de croissance la plus faible sont Fus-C05 et Fus-C21 (*F. solani*), chacun avec une croissance de 2,89 mm par 24 heures. Ces isolats montrent une croissance nettement plus lente.

D'un autre côté l'analyse statistique à un niveau de confiance de 95 % montre que les isolats de *Fusarium* présentent une variabilité très hautement significative dans leurs vitesses de croissance, allant de 2,89 mm à 4,89 mm par 24 heures avec un « **P<0,0001** ». Les analyses de Tukey permettent de regrouper ces isolats en 08 ensembles des groupes homogènes (**a** à **h**) (Figure16-A), révélant des différences significatives dans leurs capacités de croissance. Les isolats les plus rapides sont Fus-C15, Fus-C25, Fus-C24 (*F. brachygibbosum*) sont apparais dans les groupes **a** et **ab**, tandis que les isolats plus lents ;Fus-C05, Fus-C21 (*F. solani*) sont classés dans le groupe **h** (Annexe 02).

3.1.2. Vitesse de croissance des isolats de *Trichoderma* identifiées

Pour les *Trichoderma* (Figure 17-A), la vitesse de croissance est généralement plus élevée que celle observée pour les isolats de *Fusarium*. Les isolats les plus rapides sont de l'espèce *T. rifaii* ; Tri-B10 avec 9,42 mm par 24 heures et Tri-B08 avec 9,14 mm par 24 heures. Ces vitesses de croissance significativement élevées suggèrent une forte capacité

d'expansion et de colonisation de ces isolats. Les isolats les plus lents de *Trichoderma* sont Tri-B07 (*T.rifaii*) avec 7,85 mm par 24 heures et Tri-B01 (*T.asperellum*) avec 8,28 mm par 24 heures.

En revanche, l'analyse statistique à un niveau de confiance de 95 % révèle que les isolats de *Trichoderma* présentent une très grande variabilité dans leurs vitesses de croissance, allant de 7,90 mm à 9,40 mm par 24 heures, avec un « $P < 0,0001$ » (Annexe 02). Grâce aux analyses de Tukey, ces isolats peuvent être regroupés en 05 ensembles de groupes homogènes (a à e) (Figure 17-A), Tri-B07, forme le groupe e, se distinguant par la croissance la plus lente parmi les isolats étudiés (7,90 mm par 24 heures). Les isolats Tri-B01, Tri-B04, et Tri-B17 (*T.asperellum*, *T. harzianum* et *T. virens*), se regroupant dans le groupe b avec des vitesses comprises entre 8,30 mm et 8,40 mm par 24 heures. Tri-B19 (*T. virens*), appartient au groupe c (8,70 mm par 24 heures). Tri-B08 (*T.rifaii*) présente une vitesse de croissance rapide à 9,10 mm par 24 heures, le classant dans le groupe d. Enfin, Tri-B10 (*T.rifaii*) domine avec la vitesse de croissance la plus élevée à 9,40 mm par 24 heures, formant ainsi le groupe a.

3.2. Evaluation du pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium spp.*

Dans cette étude, notre objectif est d'analyser la pathogénicité des isolats de *Fusarium spp.* identifiés en examinant in vitro leur aptitude à entraver la germination des graines de melon et à restreindre la croissance des coléoptiles (Annexe 03 Figure 16).

3.2.1. Inhibition de la germination des grains de melon

La figure 16-B, décrit l'inhibition de la germination des graines par les isolats de *Fusarium*, qui révèle une variation importante entre les différents isolats étudiés. Les isolats Fus-C04 (*F. falciforme*), Fus-C06, Fus-C22 (*F. solani*) et Fus-C10 (*F. oxysporum*) montrent une inhibition maximale de 100%. Fus-C14 (*F. oxysporum*) présente une inhibition de 86,67%, tandis que Fus-C16 et Fus-C17 (*F. equiseti*) affichent chacun une inhibition de 73,33%. Une faible inhibition est marquée chez les isolats Fus-C01, Fus-C03 (*F. nygamai*), Fus-C12 (*F. solani*), Fus-C19 et Fus-C25 (*F. equiseti*) avec un pourcentage d'inhibition de 13,33%, et Fus-C18 (*F. equiseti*) avec un pourcentage de 6,67%. En revanche, des isolats comme Fus-C05, Fus-C07 (*F. falciforme*) et Fus-C24 (*F. brachygibbosum*) n'ont montré aucune inhibition (0%).

L'analyse statistique par ANOVA du taux d'inhibition de la germination des graines par les isolats de *Fusarium* a révélé des différences très hautement significatives avec un « $P <$

0,0001 » (Annexe 02), regroupées en 08 groupes homogènes selon le test de Tukey à un seuil de signification de 0,05. Les résultats montrent une grande variabilité parmi les isolats.

Les isolats Fus-C05, Fus-C07 (*F. falciforme*) et Fus-C24 (*F. brachygibbosum*) n'ont montré aucune inhibition de la germination, formant ainsi le premier groupe **a** avec 0% d'inhibition. L'isolat Fus-C18 (*F. equiseti*) constitue un groupe **ab** distinct avec un taux d'inhibition de 6,67%. Les isolats Fus-C01, Fus-C03 (*F. nygamai*), Fus-C12 (*F. solani*) et Fus-C19, Fus-C25 (*F. equiseti*) partagent un taux d'inhibition de 13,33%, formant un groupe homogène supplémentaire **abc**. Les isolats Fus-C02 (*F. falciforme*), Fus-C13 (*F. equiseti*) et Fus-C15 (*F. solani*) montrent une inhibition de 26,67% et se regroupent ensemble dans le groupe **abcd**. Fus-C11 (*F. oxysporum*) et Fus-C20 (*F. proliferatum*) présentent une inhibition de 33,33%, constituant un autre groupe (**bcde**). L'isolat Fus-C23 (*F. solani*) montre une inhibition de 40%, tandis que Fus-C08 et Fus-C09 (*F. nygamai*) ont des inhibitions de 46,67% et 53,33% respectivement. Un taux d'inhibition de 60% est observé pour Fus-C21 (*F. solani*) qui classé dans le groupe **efg**, et le groupe **fgh** des isolats Fus-C16 et Fus-C17 (*F. equiseti*) montrent une inhibition de 73,33%. L'isolat Fus-C14 (*F. oxysporum*) a une inhibition de 86,67% forme le groupe **gh**. Enfin, les isolats Fus-C04 (*F. falciforme*), Fus-C06, Fus-C22 (*F. solani*) et Fus-C10 (*F. solani*) montrent une inhibition maximale de 100%, formant le groupe **h** avec l'inhibition la plus élevée.

3.2.2. Inhibition de la longueur des coléoptiles des grains germées

Concernant l'inhibition de la longueur des coléoptiles (Figure 16-C), les isolats Fus-C04 (*F. falciforme*), Fus-C06, Fus-C22 (*F. solani*) et Fus-C10 (*F. oxysporum*) se démarquent à nouveau avec une inhibition de 100%. Fus-C24 (*F. brachygibbosum*) montre une inhibition de 99,44%, tandis que Fus-C14 (*F. oxysporum*) présente une inhibition de 98,81%. En revanche les isolats Fus-C08 (*F. nygamai*) et Fus-C25 (*F. equiseti*) ont des inhibitions respectives de 95,83% et 95,10%. Fus-C20 (*F. proléfiratum*) et Fus-C07 (*F. falciforme*) montrent chacun une inhibition de 66,07%. D'un autre par, une faible inhibition a été signalée par les isolats Fus-C18 (*F. equiseti*) avec 14,29%, Fus-C12 (*F. solani*) avec 20,24%, et Fus-C13 (*F. equiseti*) avec 37,90%.

L'analyse statistique par ANOVA du taux d'inhibition de la longueur des coléoptiles des graines germées par les isolats de *Fusarium* a montré des différences très hautement significatives avec un « **P < 0,0001** » (Annexe 02). Ces différences ont été regroupées en 03 groupes homogènes (**a, b et c**) selon le test de Tukey a un seuil de

signification de 0,05 (Figure 16-C). Les conclusions révèlent une grande diversité parmi les isolats.

Fus-C18 (*F. equiseti*) et Fus-C12 (*F. solani*) présentent les taux d'inhibition les plus faibles de 14,29% et de 20,24% respectivement, formant le premier groupe **a**. Les isolats Fus-C13 (*F. equiseti*) montrent une inhibition de 37,90%, créant le groupe distinct **ab**. Fus-C15 (*F. solani*), Fus-C07, Fus-C05 (*F. falciforme*) et Fus-C20 (*F. proliferatum*) partagent des inhibitions de 64,29% à 67,26%, formant un autre groupe homogène **bc**. Tous l'ensemble du reste des isolats sont grouper dans un même groupe homogène **c**, avec des taux d'inhibition allant de 81.54 jusqu'à le 100%.

3.3. Evaluation du pouvoir antagoniste des isolats de *Trichoderma spp.*

Dans cette partie, nous avons étudié le pouvoir antagoniste des souches de *Trichoderma* isolées et identifiées Tri-B01 (*T. asperellum*), Tri-B04 (*T. harzianum*), Tri-B07, Tri-B08, Tri-B10 (*T. rifaii*), Tri-B17, Tri-B19 (*T. virens*) sur 05 isolats de *Fusarium* parmi les plus pathogènes; Fus-C08 (*F. nygamai*) Fus-C14, Fus-C15 (*F. oxysporum*), Fus-C17 (*F. equiseti*) et Fus-C22 (*F. solani*) (Annexe 04 figure 17).

3.3.1. Test de confrontation des *Trichoderma* avec le *Fusarium oxysporum* (Fus-C14 et Fus-C15)

Selon les figure 17-B et 17-C, l'isolat de *Trichoderma*, Tri-B07 (*T. rifaii*) a montré le taux d'inhibition maximal pour les deux isolats de *F. oxysporum* avec 60% pour l'isolat Fus-C14 et 73% pour Fus-C15, alors que Tri-B08 (*T. rifaii*) a montré l'inhibition la plus faible à 42% pour l'isolat Fus-C14 cependant l'isolat Tri-B19 (*T. virens*) qui a révélé le taux d'inhibition le plus faible à 23% pour l'isolats Fus-C15.

L'analyse statistique par ANOVA a montré une différence très hautement significative entre le pouvoir antagoniste des *Trichoderma* avec le *F. oxysporum* pour les deux isolats Fus-C14 et Fus-C15 avec un « **P<0,0001** » pour les deux (Annexe 02). Le test Tukey au seuil de signification de 95% à dégager 03 groupes homogènes des trichoderma avec la première et 06 groupes avec la deuxième.

Pour Fus-C14 (Figure 17-B), Tri-B08 (*T. rifaii*) a un taux d'inhibition de 42,00%, appartenant au groupe "a". Tri-B19 (*T. virens*) avec 46.00% est partagé entre les groupes "a" et "b". Les isolats Tri-B01 (*T. asperellum*) et Tri-B10 (*T. rifaii*) avec 54.00% chacun se trouvent dans les groupes "b" et "c". Tri-B04 (*T. harzianum*) avec 56.67% et Tri-B17 (*T.*

virens) avec 58.00% sont dans le groupe "c". Enfin, Tri-B07 (*T. rifaii*) avec 59.67% est également dans le groupe "c".

Par contre les résultats avec Fus-C15 montrent que Tri-B19 (*T. virens*) a le taux d'inhibition le plus faible avec 23.00%, appartenant au les groupe "a". Ensuite, Tri-B08 (*T. rifaii*) avec 33.00% et Tri-B10 (*T. rifaii*) avec 42.00% appartiennent respectivement aux les groupes "b" et "c". Tri-B01 (*T. asperellum*) avec 60.00% se situe dans le groupe "d", tandis que Tri-B04(*T. harzianum*) avec 68.00% est dans le groupe "e". Les isolats les plus efficaces, Tri-B07 (*T. rifaii*) et Tri-B17 (*T. virens*), avec 73.00% et 75.00% respectivement, appartiennent au les groupe "f".

3.3.2. Test de confrontation des *Trichoderma* avec le *Fusarium equiseti* (Fus-C17)

La figure 17-D, montre que les deux souches Tri-B01 (*T. asperellum*) et Tri-B07 (*T. rifaii*) ont dévoilé une inhibition maximale de 72% du *F. equiseti*, tandis que Tri-B19 (*T. virens*) a présenté le taux d'inhibition le plus bas à 25%.

L'analyse de la variance à prouver qu'il y a une différence très hautement significative entre l'effet inhibitrice des *Trichoderma* contre le *F. equiseti* avec un « $P < 0,0001$ » (Annexe 02), où le test Tukey a dégagé 05 groupes homogènes (a-e) (Figure 17-D). Tri-B19 (*T. virens*) présente encore le taux le plus bas avec 25.00%, appartenant au groupe "a". Les isolats Tri-B08(*T. rifaii*) et Tri-B10 (*T. rifaii*) partagent un taux d'inhibition de 40.00%, se trouvant dans le groupe "b". Tri-B17 (*T. virens*) avec 56.00% est dans groupes "c", et Tri-B04 (*T. harzianum*) avec 60.00% dans le groupe "d". Enfin, les plus efficaces, Tri-B01 (*T. asperellum*) et Tri-B07 (*T. rifaii*), avec 72.00% chacun, appartiennent au groupe "e".

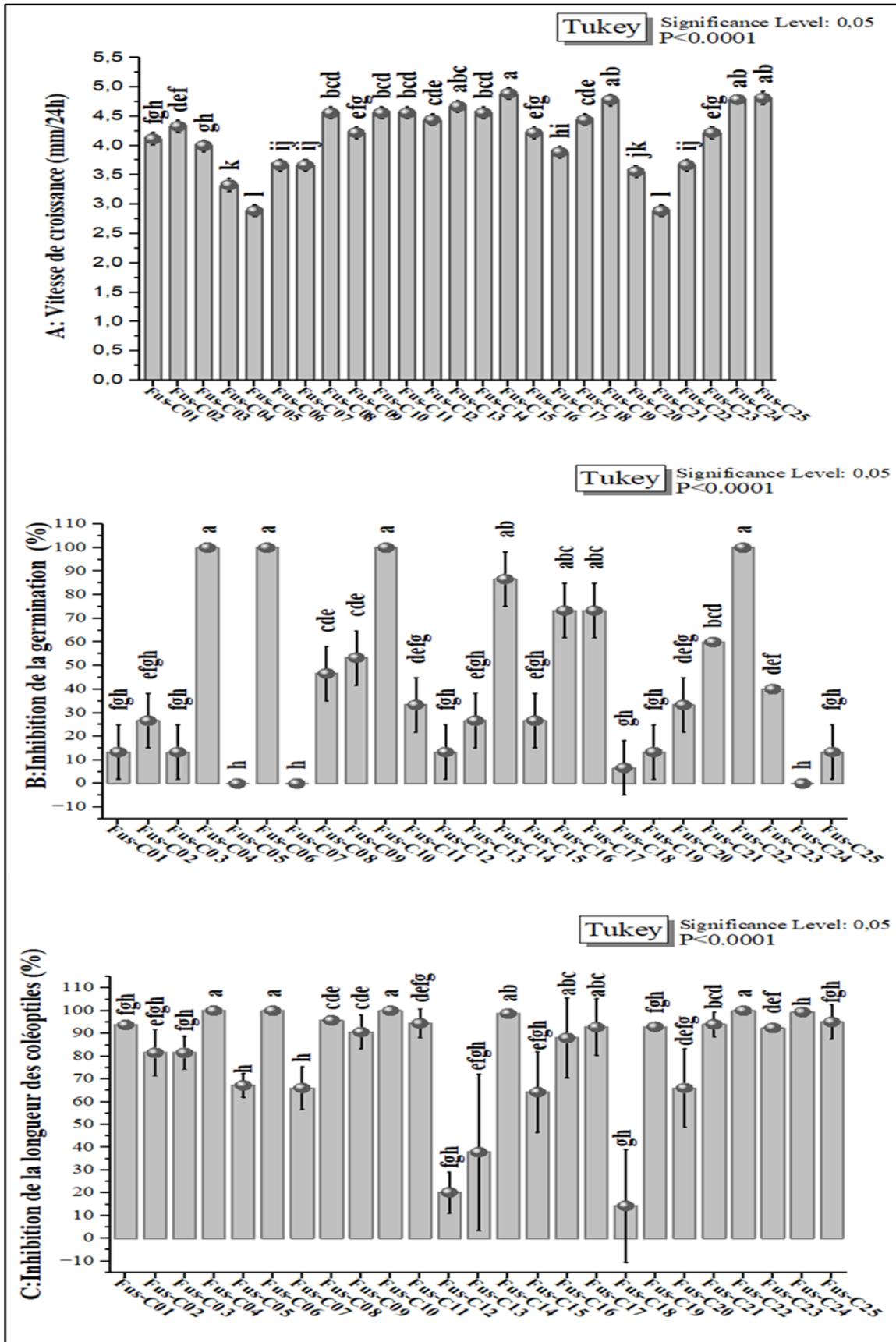


Figure 16: Evaluation des performances pathogènes *Fusarium spp.* isolées.

3.3.3. Test de confrontation des *Trichoderma* avec le *Fusarium solani* (Fus-C22)

Selon la figure 17-E, l'isolat de trichoderma Tri-B07 a démontré la capacité d'inhibition la plus élevée à 70%, tandis que Tri-B19 a montré le taux d'inhibition le plus faible avec 7%.

L'analyse de variance (ANOVA) a démontré l'existence d'une différence hautement significative dans l'effet inhibiteur des *Trichoderma* contre le *F. solani* avec une valeur de « **P<0,0001** » (Annexe 02). Le test de Tukey a identifié 05 groupes homogènes (a-e) (Figure 17-E). Tri-B19 (*T. virens*) affiche toujours le plus faible taux d'inhibition à 7.00%, se trouvant dans le groupe "a". Les isolats Tri-B08 (*T. rifaii*) et Tri-B10 (*T. rifaii*) ont des taux d'inhibition de 38.00% et 40.00% respectivement, appartenant au groupe "b". Les isolats Tri-B01 (*T. asperellum*) et Tri-B17 (*T. virens*) partagent un taux d'inhibition de 63.00%, se trouvant dans le groupe "c". Tri-B04 (*T. harzianum*) avec 67.00% est dans le groupe "d", et Tri-B07 (*T. rifaii*) avec 70.00% dans le groupe "e".

3.3.4. Test de confrontation des *Trichoderma* avec le *Fusarium nygamai* (Fus-C08)

Enfin, pour *F. nygamai*, la figure 17-F montre que l'isolat Tri-B01 a arboré une inhibition de 60%. Tri-B04 a atteint 56%, et Tri-B07 a démontré une efficacité de 64%. La souche Tri-B08 (*T. rifaii*) a présenté une inhibition de 65%, tandis que Tri-B10 a montré 62%. Tri-B17 (*T. virens*) a atteint 60%, et Tri-B19 a révélé une inhibition de 56%.

L'analyse statistique de variance a démontré l'absence d'une différence significative dans l'effet inhibiteur des *Trichoderma* contre le *F. nygamai* avec une valeur de « **P=0,032** » (Annexe 02). Le test de Tukey a regroupé donc les 07 isolats de trichoderma dans un seul groupe (a) (Figure 17-F).

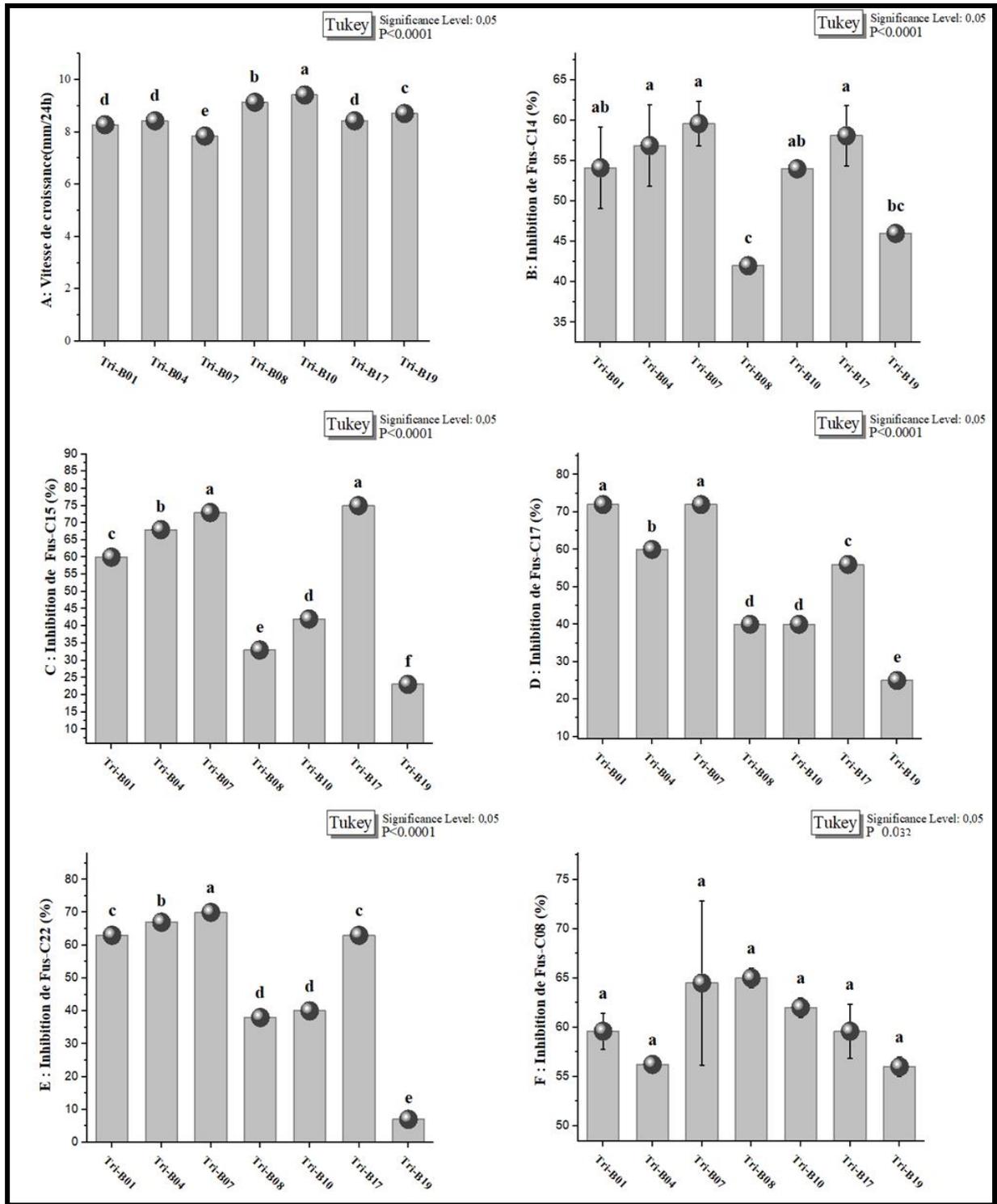


Figure 17: Evaluation des performances antagoniste *Trichoderma spp.* isolées.

3.3.5. Mécanismes de mycoparasitismes des *Trichoderma spp.*

L'observation microscopique de la zone de contact *Trichoderma-Fusarium* montre une modification notable au niveau du mycélium du pathogène, suite à l'effet inhibiteur exercé par les *Trichoderma* en utilisant des mécanismes physiques ou chimiques spécifiques (Figure 18). Les différents types de mycoparasitismes observés montrent la diversité des stratégies employées par *Trichoderma* pour inhiber et détruire les hyphes de *Fusarium*. Chaque mécanisme joue un rôle crucial dans le biocontrôle de *Fusarium*, selon les auteurs Hibar et *al.*, (2005); González et *al.*, (2020); et Kumar et *al.*, (2023) on peut les expliquer comme suite :

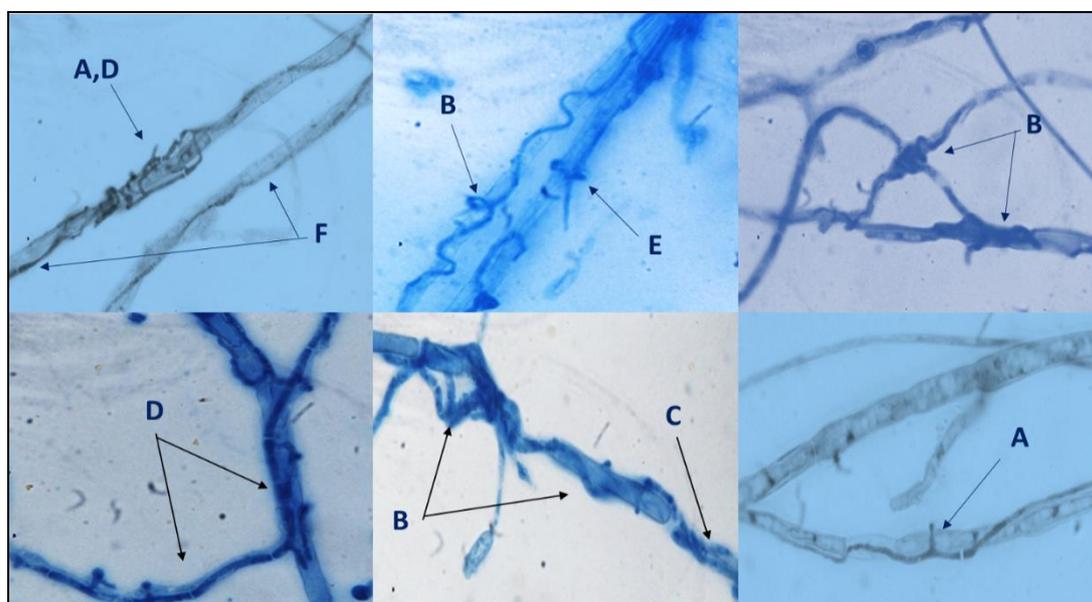


Figure 18: Interactions entre les hyphes de *Trichoderma* et les isolats de *Fusarium* lors de confrontations directes (Photos originales, 2022): (A) : structures de pénétration ; (B) hyphes enroulées ; (C) lyse des hyphes ; (D) croissance intracellulaire ; (E) structures en forme de papille. On notant que le plus fine et sombre mycilium c'est de *Trichoderma* et le plus gros et claire c'est de *Fusarium*

a. Structures de Pénétration (A)

Les structures de pénétration, comme les appressoria, sont des structures spécialisées formées par *Trichoderma* pour percer les parois cellulaires des hyphes de *Fusarium*. Ces structures exercent une pression mécanique et libèrent des enzymes lytiques, telles que les Chitinases et les Glucanases, pour dégrader les composants de la paroi cellulaire de *Fusarium*.

Cela permet à *Trichoderma* d'accéder aux nutriments internes de l'hôte, contribuant à son inhibition et à sa destruction.

b. Hyphes Enroulées (B)

L'enroulement des hyphes se produit lorsque les hyphes de *Trichoderma* entourent et enserrent les hyphes de *Fusarium*. Ce processus mécanique perturbe la croissance et la morphologie des hyphes de *Fusarium*, réduisant leur capacité à se développer et à propager l'infection. L'enroulement peut également faciliter la libération localisée de composés antifongiques et d'enzymes dégradant les parois cellulaires par *Trichoderma*, augmentant ainsi son effet antagoniste.

c. Lyse des Hyphes (C)

La lyse des hyphes est le processus par lequel les hyphes de *Fusarium* sont décomposées et détruites. *Trichoderma* sécrète des enzymes hydrolytiques, telles que les chitinases, les glucanases et les protéases, qui dégradent les composants structurels des hyphes de *Fusarium*. Cette dégradation enzymatique conduit à la rupture des parois cellulaires et à la désintégration des hyphes, empêchant ainsi la croissance et la propagation de *Fusarium*.

d. Croissance Intracellulaire (D)

La croissance intracellulaire implique la pénétration des hyphes de *Trichoderma* à l'intérieur des cellules de *Fusarium*. Une fois à l'intérieur, *Trichoderma* peut consommer les ressources cytoplasmiques de *Fusarium*, inhibant sa croissance et provoquant éventuellement la mort cellulaire. Ce mécanisme permet à *Trichoderma* de coloniser directement les hyphes de *Fusarium*, réduisant sa capacité à infecter les plantes hôtes.

e. Structures en Forme de Papille (E)

Les structures en forme de papille sont des formations morphologiques que *Trichoderma* développe à la surface des hyphes de *Fusarium*. Ces structures sont souvent associées à la libération de composés antimicrobiens, tels que les peptides antifongiques et les métabolites secondaires, qui peuvent inhiber la croissance des hyphes de *Fusarium*. Les papilles peuvent également renforcer l'attachement des hyphes de *Trichoderma* à ceux de *Fusarium*, facilitant d'autres mécanismes d'antagonisme comme la lyse enzymatique et la pénétration.

4. Discussion

L'évaluation de la vitesse de croissance des isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma* nous a permis de mieux comprendre le pouvoir de colonisation de ces deux espèces. Les espèces de *Trichoderma* sont bien connues pour leur activité de biocontrôle contre plusieurs agents phytopathogènes (Kullnig-Gradinger et al., 2002; Asad, 2022; V. Kumar et al., 2023). Notre étude a confirmé que la vitesse de croissance mycélienne de l'antagoniste *Trichoderma spp.* est significativement plus rapide que celle du pathogène *Fusarium spp.*. En effet, la vitesse de croissance de *Trichoderma spp.* est supérieure à 7 mm par 24 heures, tandis que celle de *Fusarium spp.* ne dépasse pas 4 mm par 24 heures. Ces résultats sont corroborés par les travaux de Hibar et al., (2005); Adhikary et al., (2017); Cherkupally et al., (2017); Verma et al., (2017) et Chen et al., (2021), qui ont également démontré que *Trichoderma spp.* colonise plus rapidement le milieu nutritif que *Fusarium spp.*, assimilant ainsi plus efficacement les éléments nutritifs disponibles.

Dans ce travail, l'étude de pouvoir pathogènes des isolats de *Fusarium* nous permettent de conclure que toutes les espèces de *Fusarium* isolées dans cette étude affectent négativement le développement des plantes de cucurbitacées de différentes manières et à différents degrés (Cafri et al., 2005; Zhou et Everts,2007; Sharma et Sharma, 2020;). La variabilité des pourcentages d'inhibition de la germination et de la longueur des cotylédons peut être due aux différences de virulence des pathogènes, à la vitesse de croissance, au type des mycotoxines produise par chaque espèces de *Fusarium* et à la sensibilité des plants à ces champignons pathogènes (Al-Fadhal et al., 2019; Stepien, 2020; Azil et al., 2021). Nous avons également observé des résultats variables pour une même espèce qui peut s'expliquer par la présence des formes spéciales de *Fusarium* pour certaines espèces (Moussa et al., 2017; YEZLI, 2017).

Nos résultats sont soutenus par des études antérieures qui ont rapporté que plusieurs espèces de *Fusarium* ont été examinées comme responsables de diverses maladies chez les cucurbitacées dans le monde entier. Par exemple, Silou et al., (2008), ainsi que Wafi AL-Taae et Al-Taae, (2019), ont identifié *F. oxysporum* comme l'agent responsable de la fusariose du concombre en Irak. De même, Hussein et Juber, (2014), ont démontré que *Fusarium solani F. sp. cucurbitae* Race 1 et 2 étaient à l'origine de la pourriture de la couronne et des racines chez la pastèque et le melon en Irak. En Espagne, González et al., (2020), ont confirmé que *F. solani* et *F. oxysporum* étaient responsables de la fusariose touchant le melon et la pastèque.

Aux États-Unis, Petkar et *al.*, en 2019 ont signalé que *F. oxysporum* était le responsable du flétrissement du melon dans le sud-est du U.S.A. D'autres études ont également identifié différentes espèces de *Fusarium* dans diverses régions du monde. Par exemple, Rahman et *al.* (2022a) ont trouvé que *F. equiseti* était responsable de la pourriture des fruits de la pastèque en Malaisie, tandis que Rentería-Martínez et *al.*, (2015, 2018), ont étudié le flétrissement de la pastèque causé par *F. brachygibbosum* au Mexique. En Corée, Seo et Kim, (2017) ont identifié *F. proliferatum*, *F. equiseti* et *F. oxysporum* comme agents causaux du flétrissement vasculaire et de la pourriture des tiges du melon. En outre, des recherches ont mis en lumière d'autres espèces de *Fusarium* associées à des maladies graves des pastèques. Par exemple, Nuangmek et *al.*, (2023a) ont rapporté que *F. equiseti* et *F. oxysporum f. sp. niveum* étaient responsables du flétrissement du *Fusarium* dans les fruits cultivés en Corée et en Malaisie respectivement. D'autres études ont également identifié des espèces telles que *F. brachygibbosum* et *F. oxysporum* comme responsables de symptômes de déclin de la vigne aux États-Unis et en Chine en causant la pourriture des racines. Plusieurs espèces de *Fusarium* provoquent aussi des pourritures sur les fruits et sur les racines de courgette dont *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. graminearum* et *F. Solani* (Elmer, 1996; Babadoost et Zitter, 2009; González et *al.*, 2020) *F. solani f. sp. cucurbitae* est un champignon phytopathogène majeur qui cause des pourritures des fruits et du collet de plusieurs espèces de Cucurbita dans de nombreux pays du monde (Pérez-Hernández et *al.*, 2017; Lacault, 2021).

Diverses approches chimiques sont utilisées pour contrôler le *Fusarium*, elles se révèlent coûteuses et néfastes pour l'environnement et sa durabilité. La lutte biologique paraît comme l'une des solutions les plus efficaces et populaires pour contrôler cette menace (Sharma et Sharma, 2020). Pour mettre en place un système vigoureux de lutte biologique contre ce pathogène, il est essentiel d'explorer le potentiel antagoniste des micro-organismes eucaryotes, notamment les champignons du sol (Chen et *al.*, 2021). Parmi les divers agents de lutte biologique, *Trichoderma spp.* émerge comme un choix privilégié. Ce champignon est répandu à travers les sols du monde (Schuster et Schmoll, 2010).

Les capacités de biocontrôle de *Trichoderma spp.* sont bien étudiées, car ils possèdent divers mécanismes pour entraîner la croissance de pathogènes fongiques des plantes. Ces mécanismes comprennent la production d'enzymes hydrolytiques, le mycoparasitisme, l'enroulement des hyphes et l'antibiose. Dans notre cas d'étude, les *Trichoderma* testés ont réagi contre les *Fusarium* par des interactions physiques ; marquées essentiellement par une lyse significative, une transformation en cordons des filaments mycéliens et un enroulement du

mycélium (Hibar et *al.*, 2005; González et *al.*, 2020; Kumar et *al.*, 2023). Les résultats obtenus dans cette étude confirment les travaux de nombreux groupes de recherche qui ont prouvé la capacité excellente des *T.harzianum* et *T. virens*, comme des agents de biocontrôle contre divers champignons pathogènes précisément le *Fusarium* (Lisiecka et *al.*, 2014; Asad, 2022; Guzmán-Guzmán et *al.*, 2023), Bien que plusieurs études aient démontré le pouvoir antagoniste de diverses espèces de *Trichoderma*, aucune recherche spécifique n'a été trouvée concernant *Trichoderma rifaii*, l'espèce la plus performante identifiée dans notre étude.

Plusieurs souches de *Trichoderma* ont démontré leur capacité à contrôler biologiquement différentes souches de *Fusarium* responsables de nécroses vasculaires sur diverses cultures. Ainsi, sur concombre *Trichoderma viride* inhibe *F.oxysporum f. sp.* et *F. solani f. sp. Cucurbitae* (Al-Tuwaigri, 2008; Al-Tuwaijri, 2009), sur tomate, *T. virens*, *T. harzianum*, *T. viride* et *T. asperellum* contrôlent *F. oxysporum f. sp. lycopersici* et *F. oxysporum f. sp. Radicis-lycopersici* (Rini et Sulochana, 2007; Wani et Mir, 2009; Christopher et *al.*, 2010; Altinok et Erdogan, 2015; Verma et *al.*, 2017, 2018 Jogaiah et *al.*, 2018), sur banane plantain, *T. asperellum*, *T. harzianum.*, *T. asperellum*, *T. gamsii*, *T. koningiopsis* et *T. harzianum* inhibent *F. oxysporum f. sp. Cubense* (Castillo et *al.*, 2019; Chaves et *al.*, 2016; Khan et *al.*, 2017; Taribuka et *al.*, 2017) et sur l'aubergine, *T. asperellum CP*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. virens*, *T. atroviride*, *T. koningiüet T. pseudokoningiü* inhibent *F. oxysporum f. sp. Melongenae* (Altinok et Erdogan, 2015; Adhikary et *al.*, 2017; Cherkupally et *al.*, 2017).

Yedidia et *al.*, (1999), ont montré que *T. harzianum* pouvait induire des mécanismes de résistance systémique chez les plants de concombre. Plus récemment, Lian et *al.*(2023), ont évalué l'effet de l'agent de biocontrôle *T. harzianum* sur les caractéristiques physiologiques et biochimiques du concombre et son efficacité contre le flétrissement fusarien causé par *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum*.

Morales-Rodríguez et *al.*, (2018), ont mis en évidence les effets inhibiteurs des composés volatils sécrétés par *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens* et *T. hamatum* sur la croissance mycélienne de *Fusarium circinatum* en conditions *in vitro*. Aussi, récemment Wang, Tang, et *al.*(2022), se sont intéressés aux effets de l'agent de biocontrôle *Trichoderma virens* sur *Fusarium proliferatum f. sp.* lié à la maladie de la replantation du pommier en Chine. *T. harzianum* a montré aussi une grande efficacité contre *F.oxysporum*, *F. solani*, et *Rhizoctonia. Solani. Pythium spp* touchant la culture de courgette (Abd Ali et *al.*, 2021).

5. Conclusion

L'étude souligne la variété des interactions observées entre divers isolats de *Fusarium* et de *Trichoderma*, mettant en lumière des dynamiques d'inhibition complexes. Certains isolats de *Fusarium*, notamment Fus-C04 (*F. falciforme*), Fus-C06 (*F. solani*), Fus-C10 (*F. oxysporum*) et Fus-C22 (*F. solani*), présentent une inhibition maximale de la germination et de la longueur des coléoptiles. D'autres souches, bien que présentant une faible capacité d'inhibition de la germination, démontrent une forte inhibition de la croissance des coléoptiles tels que ; Fus-C01, Fus-C03 (*F. nygamai*), Fus-C02, Fus-C20 (*F. proliferatum*), Fus-C05 (*F. solani*), Fus-C07 (*F. falciforme*), Fus-C11, Fus-C15 (*F. oxysporum*), Fus-C19, Fus-C25 (*F. equiseti*) et Fus-C24 (*F. brachygibbosum*), ce qui suggère la présence de mécanismes d'action spécifiques.

Les capacités d'inhibition des isolats de *Trichoderma* présentent des variations significatives en fonction des espèces de *Fusarium* visées. Par exemple, on observe que le Tri-B07 (*T. rifaii*) présente des taux d'inhibition élevés vis-à-vis de diverses espèces de *Fusarium*, tandis que le Tri-B19 (*T. virens*) affiche des performances plus modestes. Ces résultats mettent en évidence, la nécessité de choisir des souches spécifiques de *Trichoderma* afin d'assurer un contrôle ciblé et efficace des agents pathogènes.

La diversité des mécanismes de mycoparasitisme utilisés par *Trichoderma* pour inhiber et détruire les hyphes de *Fusarium* joue un rôle crucial dans le domaine du biocontrôle. Ces conclusions soulignent la nécessité d'adapter l'application de *Trichoderma* en fonction des espèces spécifiques de *Fusarium* et des contextes écologiques afin d'optimiser l'efficacité des traitements.

CONCLUSION GENERALE



Conclusion générale

Cette étude approfondie sur l'évaluation du pouvoir antagoniste des espèces de *Trichoderma* spp. contre les *Fusarium* spp. provoquant des dégâts graves sur les cultures des cucurbitacées dans la région de Biskra a permis de mettre en lumière plusieurs conclusions clés.

Tout d'abord, un état des lieux complet de la filière cucurbitacées de la région de Biskra et du fléau de la fusariose a été établi, ouvrant des pistes de réflexion pour trouver des stratégies de lutte durables. La production des cucurbitacées a connu une augmentation globale dans la wilaya de Biskra et en Algérie entre 2000 et 2021, avec une tendance à la hausse particulièrement marquée à partir de 2012 à Biskra. Les rendements ont également progressé sur la période 2011-2021 en Algérie, tandis que ceux de la wilaya de Biskra ont fluctué mais ils sont restés supérieurs à la moyenne nationale.

Concernant la caractérisation socio-économique des agriculteurs, il ressort que la majorité des agriculteurs sont des adultes de sexe masculin, leur niveau d'instruction est primaire ou moyen, avec une expérience dans le maraîchage qui dépasse les dix ans. L'analyse des cultures de cucurbitacées dans la wilaya de Biskra a révélé une prédominance du melon, avec recours aux serres, et une fertilisation organique et minérale.

Les symptômes clés identifiés sont le flétrissement, le jaunissement et le brunissement vasculaire. Les principaux facteurs favorisant l'infection sont les variations climatiques et le fumier mal décomposé. Alors que les pertes de rendement sont alarmantes, pouvant atteindre 100%.

La lutte contre cette maladie repose principalement sur les fongicides chimiques de manière curative. Cependant, l'efficacité de ces produits diminue et les agriculteurs ont un faible niveau de connaissance sur leur composition. Enfin, les alternatives biologiques restent peu utilisées malgré la conscience des dangers des produits chimiques.

Ces conclusions mettent en évidence les défis techniques, économiques et de connaissances auxquels sont confrontés les agriculteurs de la région de Biskra dans la gestion de la fusariose des cucurbitacées. Elles soulignent la nécessité de mettre en lumière ce pathogène ainsi que son antagoniste, de les isoler et de les identifier pour mieux gérer la situation actuelle et bien accompagner les agriculteurs vers des solutions plus durables.

Le recours à l'isolement et à l'identification des agents pathogènes (*Fusarium* spp.) et antagonistes (*Trichoderma* spp.) à partir d'échantillons de plantes de cucurbitacées infectées dans différentes régions agricoles de la wilaya de Biskra, en Algérie, a permis de conclure que plus de la moitié des espèces fongiques isolées sont identifiées morphologiquement comme des *Fusarium* spp., responsables de la fusariose des cucurbitacées. Parmi ces isolats, 25 souches de *Fusarium* ont été choisies et confirmées moléculairement sous différentes espèces de ce genre.

La quête de solutions alternatives pour lutter contre ce pathogène nous a menés vers des propositions biologiques potentiellement utilisables sur le terrain, dans le but d'aider à réduire ce problème majeur rencontré par les agriculteurs de la région pratiquant des cucurbitacées. Grâce à l'isolement des champignons antagonistes à partir d'échantillons de sol, nous avons pu isoler 21 souches identifiées morphologiquement comme appartenant au genre *Trichoderma*. Parmi celles-ci, 7 souches ont été sélectionnées pour une confirmation moléculaire afin d'évaluer leur potentiel antagoniste contre les souches de *Fusarium* identifiées.

Les caractérisations morphologiques des isolats de *Fusarium* spp. et *Trichoderma* spp. ont montré une variation de leurs colonies, couleurs, formes de spores, phialides et mycélium. L'identification moléculaire par amplification PCR et séquençage des gènes ITS et TEF-1 a permis de déterminer l'appartenance taxonomique des isolats. Chez le *Fusarium*, 8 espèces ont été identifiées : *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. nygamai*, *F. proliferatum*, *F. brachygibbosum* et *F. falciforme*. Pour le *Trichoderma*, 4 espèces ont été distinguées : *T. rifaii*, *T. virens*, *T. asperellum* et *T. harzianum*.

L'analyse phylogénétique revêt une importance capitale pour valider l'identification moléculaire des espèces de *Fusarium* et de *Trichoderma* répertoriées dans notre recherche, notamment *F. solani*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *F. nygamai*, *F. proliferatum*, *F. brachygibbosum* et *F. falciforme*, ainsi que *T. rifaii*, *T. virens*, *T. asperellum* et *T. harzianum*. Cette méthode permet de confirmer l'identité taxonomique des isolats en analysant leurs séquences génétiques (ITS et TEF-1) et en les comparant à celles des bases de données de référence, ce qui permet d'éclaircir les relations évolutives entre ces espèces. L'identification des espèces cryptiques par le biais de l'analyse phylogénétique permet de différencier les espèces qui présentent des similitudes morphologiques mais qui sont génétiquement distinctes, ce qui améliore la solidité et la fiabilité des conclusions tirées. En outre, cette étude peut permettre l'identification de nouvelles espèces, tel que *T. rifaii* qui a été détectée pour la

première fois en Algérie. et établir des fondements solides pour les recherches écologiques et épidémiologiques en garantissant une classification précise des espèces. En résumé, il est impératif d'avoir recours à l'analyse phylogénétique afin d'assurer une identification précise et fiable des espèces de *Trichoderma* et de *Fusarium*, ce qui revêt une importance capitale pour les domaines de la recherche.

L'étude de l'identification moléculaire de l'agent pathogène *Fusarium* spp. et de son antagoniste *Trichoderma* spp. nous ouvre la porte à de nombreuses possibilités pour la lutte biologique, en permettant une compréhension approfondie des interactions entre ces deux genres fongiques. En identifiant précisément la capacité des souches de *Fusarium* à infecter et à causer des maladies dans les cultures de cucurbitacées, nous pouvons mieux cibler les stratégies de lutte. Parallèlement, l'évaluation de la capacité des espèces de *Trichoderma* à inhiber la croissance de *Fusarium* ou à détruire ses structures infectieuses est essentielle.

Notre étude a révélé que les isolats de *Trichoderma* présentent une vitesse de croissance nettement supérieure à celle des isolats de *Fusarium*. L'évaluation du pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* a montré que certains, comme Fus-C04, Fus-C06, Fus-C22 et Fus-C10, inhibent entièrement la germination des graines de melon et la croissance des coléoptiles, tandis que d'autres tels que Fus-C05, Fus-C07 et Fus-C24 n'ont aucun effet inhibiteur. En ce qui concerne le pouvoir antagoniste des isolats de *Trichoderma*, nous avons observé un effet inhibiteur significatif sur la croissance des isolats pathogènes de *Fusarium*. Notamment, Tri-B07 (*T. rifaïi*) a montré les taux d'inhibition les plus élevés contre les isolats de *F. oxysporum* (Fus-C14 et Fus-C15) et *F. solani* (Fus-C22), et avec Tri-B01 (*T. asperellum*), il a également démontré une forte inhibition contre *F. equiseti* (Fus-C17). Les isolats de *Trichoderma* ont présenté des taux d'inhibition similaires contre *F. nygamai* (Fus-C08), sans différences significatives. De plus, l'observation microscopique a révélé divers mécanismes de mycoparasitisme de *Trichoderma*, tels que la pénétration par des structures spécialisées, l'enroulement des hyphes, la lyse des hyphes, la croissance intracellulaire et la formation de structures en forme de papille, permettant à *Trichoderma* d'inhiber et de détruire les hyphes de *Fusarium*. Ces résultats illustrent le potentiel de *Trichoderma* comme agent de lutte biologique efficace contre *Fusarium*, offrant une alternative prometteuse aux méthodes chimiques pour le contrôle des maladies des cucurbitacées.

Pour achever cette étude on peut conclure que, cette recherche a permis de réaliser une analyse approfondie de l'influence des *Fusarium* spp. sur les cultures de cucurbitacées dans la région de Biskra, tout en mettant en évidence l'importante diversité des espèces de

Fusarium impliquées dans la fusariose. Les résultats ont montré le potentiel remarquable des *Trichoderma* spp. en tant qu'agents de lutte biologique.

Ces conclusions offrent des perspectives pour des approches de gestion plus durables et respectueuses de l'environnement, permettant de diminuer la nécessité d'utiliser des substances chimiques et proposant des alternatives prometteuses pour les exploitants agricoles locaux.

À la lumière des résultats obtenus, il serait judicieux de proposer certaines perspectives et recommandations qui seront enrichissantes à ce travail dans des travaux prochaines :

- ✓ Bien étudier le terrain à long terme ; mener des essais à long terme sur terrain pour évaluer l'efficacité des *Trichoderma* spp. dans des conditions réelles de culture, en tenant compte des variations climatiques et des pratiques agricoles locales.
- ✓ Optimisation des conditions de culture ; explorer les conditions optimales de culture et d'application des *Trichoderma* spp. pour maximiser leur efficacité antagoniste, notamment en termes de dosage, de timing et de méthodes d'application.
- ✓ Étudier les interactions entre *Trichoderma*spp., *Fusarium*spp., et d'autres microorganismes présents dans le sol afin de comprendre les dynamiques écologiques et de renforcer l'efficacité des biocontrôles.
- ✓ Sensibilisation et formation des agriculteurs, mettre en place des programmes de sensibilisation et de formation pour les agriculteurs sur l'utilisation des agents de lutte biologique, les bonnes pratiques agricoles et les bénéfices à long terme de la réduction des intrants chimiques.
- ✓ Intégration de la lutte biologique dans les systèmes de gestion intégrée des cultures par l'utilisation des *Trichoderma* spp. dans les programmes de gestion intégrée des cultures, combinant diverses stratégies de lutte pour un contrôle plus efficace et durable des maladies des cucurbitacées.
- ✓ Suivi et évaluation environnementale en mettant en place des systèmes de suivi pour évaluer l'impact environnemental à long terme de l'utilisation des *Trichoderma* spp., en particulier sur la biodiversité du sol et la santé des écosystèmes locaux.

Ces perspectives et recommandations visent à renforcer l'application pratique des résultats de cette étude, promouvoir une agriculture plus durable et réduire la dépendance aux fongicides

conventionnels, tout en assurant la durabilité des cultures des cucurbitacées dans la région de Biskra.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**



Liste des références bibliographiques

1. Abd Ali, M., Merzah, N. R., etJubair, A. F. (2021). Isolation And Diagnosis Of Pathogenic Fungi Associated With Zucchini Cucurbita Pepo Roots And Their Bio-Control. IOP Conference Series: Earth And Environmental Science, 923(1), 012014. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/923/1/012014>
2. Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., etBouregghda, H. (2019). Occurrence Of Fusarium Head Blight And Fusarium Crown Rot In Algerian Wheat: Identification Of Associated Species And Assessment Of Aggressiveness. European Journal Of Plant Pathology, 154(3), 499-512. <https://doi.org/10.1007/S10658-019-01673-7>
3. Adhikary, M. C., Begum, H. A., etMeah, M. B. (2017). Possibility Of Recovering Fusarium Wilt Affected Eggplants By Trichoderma. International Journal Of Agricultural Research, Innovation And Technology (IJARIT), 7(1), 38-42. <https://doi.org/10.3329/Ijarit.V7i1.33319>
4. Adnan, M., Islam, W., Shabbir, A., Khan, K. A., Ghramh, H. A., Huang, Z., Chen, H. Y., etLu, G. (2019). Plant Defense Against Fungal Pathogens By Antagonistic Fungi With Trichoderma In Focus. Microbial Pathogenesis, 129, 7-18.
5. Aidat, T., Benziouche, S. E., Cei, L., Giampietri, E., etBerti, A. (2023). Impact Of Agricultural Policies On The Sustainable Greenhouse Development In Biskra Region (Algeria). Sustainability, 15(19), 14396. <https://doi.org/10.3390/Su151914396>
6. Al-Fadhil, F. A., AL-Abedy, A. N., etAlkhafije, D. A. (2019). Isolation And Molecular Identification Of Rhizoctonia Solani And Fusarium Solani Isolated From Cucumber (Cucumis Sativus L.) And Their Control Feasibility By Pseudomonas Fluorescens And Bacillus Subtilis. Egyptian Journal Of Biological Pest Control, 29(1), 47. <https://doi.org/10.1186/S41938-019-0145-5>
7. Altinok, H., etErdogan, O. (2015). Determination Of The In Vitro Effect Of Trichoderma Harzianum On Phytopathogenic Strains Of Fusarium Oxysporum. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 43(2), 294-500. <https://doi.org/10.15835/Nbha4329788>
8. Al-Tuwaigri, M. M. (2008). Biological Control Of Fusarium Root-Rot Of Cucumber (Cucumis Sativus L.) By Rhizospheric Isolates Of Bacillus Subtilis And Trichoderma Viride. Egypt J Exp Biol (Bot), 4, 79-86.
9. Al-Tuwaigri, M. M. (2009). Role Of The Biocontrol Agents Trichoderma Viride And Bacillus Subtilis In Elimination Of The Deteriorative Effects Of The Root-Rot Pathogens Fusarium Oxysporum And F. Solani On Some Metabolic And Enzyme Activities Of Cucumber Plants. Egypt J. Exp. Biol, 5, 29-35.
10. Ambrico, P. F., Šimek, M., Rotolo, C., Morano, M., Minafra, A., Ambrico, M., Pollastro, S., Gerin, D., Faretra, F., etDe Miccolis Angelini, R. M. (2020). Surface

- Dielectric Barrier Discharge Plasma : A Suitable Measure Against Fungal Plant Pathogens. *Scientific Reports*, 10(1), 3673.
11. Anees, M., Tronsmo, A., Edel-Hermann, V., Hjeljord, L. G., Héraud, C., etSteinberg, C. (2010). Characterization Of Field Isolates Of *Trichoderma* Antagonistic Against *Rhizoctonia Solani*. *Fungal Biology*, 114(9), 691-701.
 12. Anjorin, S.T. etM. Mohammed. (2009). Effect Of Seed Borne Fungi On Germination And Seedling Growth Of Water Melon (*Citrullus Lanatus*). *Journal Of Agriculture And Social Sciences*, 5, 77-80.
 13. Asad, S. A. (2022). Mechanisms Of Action And Biocontrol Potential Of *Trichoderma* Against Fungal Plant Diseases—A Review. *Ecological Complexity*, 49, 100978. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978>
 14. Asad, S. A., Tabassum, A., Hameed, A., Afzal, A., Khan, S. A., Ahmed, R., etShahzad, M. (2015). Determination Of Lytic Enzyme Activities Of Indigenous *Trichoderma* Isolates From Pakistan. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 46, 1053-1064.
 15. Asis, A., Shahriar, S. A., Naher, L., Saallah, S., Fatihah, H. N. N., Kumar, V., etSiddiquee, S. (2021). Identification Patterns Of *Trichoderma* Strains Using Morphological Characteristics, Phylogenetic Analyses And Lignocellulolytic Activities. *Molecular Biology Reports*, 48(4), 3285-3301. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06321-0>
 16. Atanasova, L., Crom, S. L., Gruber, S., Couplier, F., Seidl-Seiboth, V., Kubicek, C. P., etDruzhinina, I. S. (2013). Comparative Transcriptomics Reveals Different Strategies Of *Trichoderma* Mycoparasitism. *BMC Genomics*, 14, 1-15.
 17. Azil, N., Stefańczyk, E., Sobkowiak, S., Chihat, S., Bouregghda, H., etŚliwka, J. (2021). Identification And Pathogenicity Of *Fusarium* Spp. Associated With Tuber Dry Rot And Wilt Of Potato In Algeria. *European Journal Of Plant Pathology*, 159(3), 495-509. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02177-5>
 18. Babadoost, M., etZitter, T. A. (2009). Fruit Rots Of Pumpkin : A Serious Threat To The Pumpkin Industry. *Plant Disease*, 93(8), 772-782. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-8-0772>
 19. Backeljau, T., De Bruyn, L., De Wolf, H., Jordaens, K., Van Dongen, S., etWinnepennincks, B. (1996). Multiple UPGMA And Neighbor-Joining Trees And The Performance Of Some Computer Packages. *Molecular Biology And Evolution*, 13(2), 309-313. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025590>
 20. Bajpai, A., Rawat, S., etJohri, B. N. (2019). Fungal Diversity : Global Perspective And Ecosystem Dynamics. *Microbial Diversity In Ecosystem Sustainability And Biotechnological Applications: Volume 1. Microbial Diversity In Normal etExtreme Environments*, 83-113.

21. Barman, S., Gorai, P. S., etMandal, N. C. (2021). *Trichoderma* Spp.—Application And Future Prospects In Agricultural Industry. In *Recent Advancement In Microbial Biotechnology* (P. 49-70). Elsevier.
22. Barnett, H. L. (1960). *Illustrated Genera Of Imperfect Fungi*. Illustrated Genera Of Imperfect Fungi.
23. Benbouza, H., Jacquemin, J.-M., Baudoin, J.-P., etMergeai, G. (2006). Optimization Of A Reliable, Fast, Cheap And Sensitive Silver Staining Method To Detect SSR Markers In Polyacrylamide Gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*
24. Benttoui, N., Colagiero, M., Sellami, S., Boureghda, H., Keddad, A., etCiancio, A. (2020). Diversity Of Nematode Microbial Antagonists From Algeria Shows Occurrence Of Nematotoxic *Trichoderma* Spp. *Plants*, 9(8), 941. <https://doi.org/10.3390/Plants9080941>
25. Bernhardt, E. S., Rosi, E. J., etGessner, M. O. (2017). Synthetic Chemicals As Agents Of Global Change. *Frontiers In Ecology And The Environment*, 15(2), 84-90.
26. Bettiche, F., Chaib, W., Salemkour, N., Mancer, H., Bengouga, K., etGrunberger, O. (2022). *Pratiques Phytosanitaires Sous Serres Plastiques Dans Les Oasis Des Ziban (Sud-Est Algérien)*.
27. Blancard, D., Lecoq, H., etPitrat, M. (1991). *Maladies Des Cucurbitacées : Observer, Identifier, Lutter* (1^{ère} Édition). Quae.
28. Bolkan, H. A., etButler, E. E. (1974). Studies On Heterokaryosis And Virulence Of *Rhizoctonia Solani*. *Phytopathology*, 64(5), 13-522. <https://doi.org/10.1094/Phyto-64-513>.
29. Booth, C. (1971). *The Genus Fusarium*. Kew, UK, Commonwealth Mycological Institute.
30. Borkovich, K., etEbbole, D. J. (2010). *Cellular And Molecular Biology Of Filamentous Fungi*. American Society For Microbiology Press.
31. Bouanaka, H., Bellil, I., Benouchenne, D., Nieto, G., etKhelifi, D. (2023). First Report Of *Fusarium Asiaticum* And *Fusarium Incarnatum* In Algeria, And Evaluation Of Their Pathogenicity On Wheat Crown Rot.
32. Bouanaka, H., Bellil, I., Harrat, W., Boussaha, S., Benbelkacem, A., etKhelifi, D. (2021). On The Biocontrol By *Trichoderma Afroharzianum* Against *Fusarium Culmorum* Responsible Of *Fusarium* Head Blight And Crown Rot Of Wheat In Algeria. *Egyptian Journal Of Biological Pest Control*, 31(1), 68. <https://doi.org/10.1186/S41938-021-00416-3>
33. Boucetta, D. (2018). *Effets Des Changements Climatiques Sur Les Cultures Pratiquées Et Les Ressources En Eau Dans La Région De Biskra*. Thèse, Université De Biskra.
34. Boudibi, S., Sakaa, B., etBenguega, Z. (2021). Spatial Variability And Risk Assessment Of Groundwater Pollution In El-Outaya Region, Algeria. *Journal Of*

- African Earth Sciences, 176, 104135.
<https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2021.104135>
35. Cafri, D., Katan, J., et Katan, T. (2005). Cross-Pathogenicity Between *Formae Speciales* Of *Fusarium Oxysporum*, The Pathogens Of Cucumber And Melon. *Journal Of Phytopathology*, 153(10), 615-622. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2005.01029.x>
36. Cai, F., et Druzhinina, I. S. (2021). In Honor Of John Bissett : Authoritative Guidelines On Molecular Identification Of *Trichoderma*. *Fungal Diversity*, 107(1), 1-69. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>
37. Castillo, A. G., Puig, C. G., et Cumagun, C. J. R. (2019). Non-Synergistic Effect Of *Trichoderma Harzianum* And *Glomus Spp.* In Reducing Infection Of *Fusarium Wilt* In Banana. *Pathogens*, 8(2), 43. <https://doi.org/10.3390/pathogens8020043>
38. Catalano, V., Vergara, M., Hauzenberger, J. R., Seiboth, B., Sarrocco, S., Vannacci, G., Kubicek, C. P., et Seidl-Seiboth, V. (2011). Use Of A Non-Homologous End-Joining-Deficient Strain (Delta-Ku70) Of The Biocontrol Fungus *Trichoderma Virens* To Investigate The Function Of The Laccase Gene *Lcc1* In *Sclerotia* Degradation. *Current Genetics*, 57, 13-23.
39. Chantre, E., et Cardona, A. (2014). Trajectories Of French Field Crop Farmers Moving Toward Sustainable Farming Practices : Change, Learning, And Links With The Advisory Services. *Agroecology And Sustainable Food Systems*, 38(5), 573-602. <https://doi.org/10.1080/21683565.2013.876483>
40. Chaverri, P., Branco-Rocha, F., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T., et Samuels, G. J. (2015). Systematics Of The *Trichoderma Harzianum* Species Complex And The Re-Identification Of Commercial Biocontrol Strains. *Mycologia*, 107(3), 558-590.
41. Chaves, N. P., Staver, C., et Dita, M. A. (2016). Potential Of *Trichoderma Asperellum* For Biocontrol Of *Fusarium Wilt* In Banana. *Acta Horticulturae*, 1114_35, 261-266. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2016.1114.35>
42. Chehma, A. (2011). LE SAHARA EN ALGERIE, SITUATION ET DEFIS. *CMEP TASSILI*, 09(MDU 754), 14-21.
43. Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Reddy, K. R. N., et Abbasi, S. (2011). Molecular Characterization Of Pathogenic *Fusarium* Species In Cucurbit Plants From Kermanshah Province, Iran. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 18(4), 341-351. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2011.01.007>
44. Chen, J., Zhou, L., Din, I. U., Arafat, Y., Li, Q., Wang, J., Wu, T., Wu, L., Wu, H., Qin, X., Pokhrel, G. R., Lin, S., et Lin, W. (2021). Antagonistic Activity Of *Trichoderma Spp.* Against *Fusarium Oxysporum* In Rhizosphere Of *Radix Pseudostellariae* Triggers The Expression Of Host Defense Genes And Improves Its Growth Under Long-Term Monoculture System. *Frontiers In Microbiology*, 12, 579920. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.579920>

45. Cheng, H., Zhao, L., Wei, X., Liu, X., Gao, G.-Y., Deng, J.-X., etLi, M.-J. (2022). *Alternaria* Species Causing Leaf Spot On Hemp (*Cannabis Sativa*) In Northern China. *European Journal Of Plant Pathology*, 162(4), 957-970. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02450-1>
46. Cherkupally, R., Amballa, H., etReddy, B. N. (2017). In Vitro Antagonistic Activity Of *Trichoderma* Species Against *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Melongenae*. *International Journal Of Applied Agricultural Research*, 12(1), 87-95.
47. Chihat, S., Aleandri, M. P., Vannini, A., Bruni, N., etBouregghda, H. (2021). Identity And Biocontrol Efficiency Of *Trichoderma* Spp. Isolated From Different Soils And Ecosystems In Algeria. *Journal Of Plant Pathology*, 103(2), 493-511. <https://doi.org/10.1007/s42161-021-00761-0>
48. Choi, J., etKim, S.-H. (2017). A Genome Tree Of Life For The Fungi Kingdom. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 114(35), 9391-9396.
49. Christenhusz, M. J. M., etByng, J. W. (2016). The Number Of Known Plants Species In The World And Its Annual Increase. *Phytotaxa*, 261(3), 201. <https://doi.org/10.11646/Phytotaxa.261.3.1>
50. Christopher, D. J., Raj, T. S., Rani, S. U., etUdhayakumar, R. (2010). Role Of Defense Enzymes Activity In Tomato As Induced By *Trichoderma Virens* Against *Fusarium Wilt* Caused By *Fusarium Oxysporum* F Sp. *Lycopersici*. *Journal Of Biopesticides*, 3(1), 158.
51. Crous, P. W., Lombard, L., Sandoval-Denis, M., Seifert, K. A., Schroers, H.-J., Chaverri, P., Gené, J., Guarro, J., Hirooka, Y., Bensch, K., Kema, G. H. J., Lamprecht, S. C., Cai, L., Rossman, A. Y., Stadler, M., Summerbell, R. C., Taylor, J. W., Ploch, S., Visagie, C. M., ... Thines, M. (2021). *Fusarium* : More Than A Node Or A Foot-Shaped Basal Cell. *Studies In Mycology*, 98, 100116. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2021.100116>
52. Daami-Remadi, M., etMahjoub, M. E. (2006). Présence En Tunisie D'isolats De *Fusarium Sambucinum* Résistants Aux Benzimidazoles : Développement In Vitro Et Agressivité Sur Tubercules De Pomme De Terre. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*
53. Daoudi, A., Colin, J.-P., Derderi, A., etOuendeno, M. L. (2017). Le Marché Du Faire-Valoir Indirect Vecteur De Nouvelles Formes D'exploitation Dans La Néo-Agriculture Saharienne (Algérie). *Géographie, Économie, Société*, 19(3), 307-330. <https://doi.org/10.3166/Ges.19.2017.0015>
54. Davet, P., etRouxel, F. (1997). Détection Et Isolement Des Champignons Du Sol. Institut National De La Recherche Agronomique.
55. De, T., etRoy, A. (2021). Molecular Characterization Through ITS Sequencing Of The Native Isolates Of *Trichoderma* Species.
56. Debbi, A., Bouregghda, H., Monte, E., etHermosa, R. (2018). Distribution And Genetic Variability Of *Fusarium Oxysporum* Associated With Tomato Diseases In Algeria

- And A Biocontrol Strategy With Indigenous *Trichoderma* Spp. *Frontiers In Microbiology*, 9, 282. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00282>
57. Demirel, R., etÖzkale, E. (2017). Molecular Characterization Of Some Soil Originated *Trichoderma* Species. *Hacettepe Journal Of Biology And Chemistry*, 4(45), 585-591. <https://doi.org/10.15671/HJBC.2018.201>
58. Didoné, E. J., Minella, J. P. G., Tiecher, T., Zanella, R., Prestes, O. D., etEvrard, O. (2021). Mobilization And Transport Of Pesticides With Runoff And Suspended Sediment During Flooding Events In An Agricultural Catchment Of Southern Brazil. *Environmental Science And Pollution Research*, 28(29), 39370-39386. <https://doi.org/10.1007/S11356-021-13303-Z>
59. Djonovic, S., Vargas, W. A., Kolomiets, M. V., Horndeski, M., Wiest, A., etKenerley, C. M. (2007). A Proteinaceous Elicitor Sm1 From The Beneficial Fungus *Trichoderma Virens* Is Required For Induced Systemic Resistance In Maize. *Plant Physiology*, 145(3), 875-889.
60. Doyle, J. J., etDoyle, J. L. (1987). A Rapid DNA Isolation Procedure For Small Quantities Of Fresh Leaf Tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
61. Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., Komoń, M., Bissett, J., Szakacs, G., etKubicek, C. P. (2005). An Oligonucleotide Barcode For Species Identification In *Trichoderma* And *Hypocrea*. *Fungal Genetics And Biology*, 42(10), 813-828.
62. Druzhinina, I. S., Kopchinskiy, A. G., etKubicek, C. P. (2006). The First 100 *Trichoderma* Species Characterized By Molecular Data. *Mycoscience*, 47(2), 55-64.
63. Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., Mukherjee, P. K., Zeilinger, S., Grigoriev, I. V., etKubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: The Genomics Of Opportunistic Success. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749-759.
64. Druzhinina, I. S., Shelest, E., etKubicek, C. P. (2012). Novel Traits Of *Trichoderma* Predicted Through The Analysis Of Its Secretome. *FEMS Microbiology Letters*, 337(1), 1-9.
65. DSA. (2014). Direction Des Services Agricoles, Serie A.
66. DSA. (2021). Direction Des Services Agricoles, Serie A.
67. Du Plessis, I. L., Druzhinina, I. S., Atanasova, L., Yarden, O., etJacobs, K. (2018). The Diversity Of *Trichoderma* Species From Soil In South Africa, With Five New Additions. *Mycologia*, 110(3), 559-583. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1463059>
68. El Bouzaidi, H., Hafiane, F. Z., etFekhaoui, M. (2020). Inventory Of Pesticides And Their Impact On The Environment By Calculating The Frequency Of Treatment Indicator In The Gharb Plain (Morocco). *Mediterranean Journal Of Chemistry*, 10(4), 406. <https://doi.org/10.13171/Mjc10402005041137fzh>

69. El-Hasan, A., Walker, F., et Buchenauer, H. (2008). Trichoderma Harzianum And Its Metabolite 6-Pentyl-Alpha-Pyrone Suppress Fusaric Acid Produced By Fusarium Moniliforme. *Journal Of Phytopathology*, 156(2), 79-87.
70. Elmer, W. H. (1996). Fusarium Fruit Rot Of Pumpkin In Connecticut. *Plant Disease*, 80(2), 131-135.
71. Engalycheva, I., Kozar, E., Frolova, S., Vetrova, S., Tikhonova, T., Dzhos, E., Engalychev, M., Chizhik, V., Martynov, V., Shingaliev, A., Dudnikova, K., Dudnikov, M., et Kostanchuk, Y. (2024). Fusarium Species Causing Pepper Wilt In Russia : Molecular Identification And Pathogenicity. *Microorganisms*, 12(2), 343. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020343>
72. Etienne, M. (1998). Les enjeux de la durabilité agricole. Éditions de l'Aube.
73. Etienne Landais. Agriculture durable : les fondements d'un nouveau contrat social?. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, 1998, 33 (33), pp.5-22.
74. FAO. (2017). The State of the World's Land and Water Resources for Food and Agriculture. FAO.
75. Felsenstein, J. (1985). Confidence Limits On Phylogenies : An Approach Using The Bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791. <https://doi.org/10.2307/2408678>
76. Freeman, S., Zveibil, A., Vintal, H., et Maymon, M. (2002). Isolation Of Nonpathogenic Mutants Of Fusarium Oxysporum F. Sp. Melonis For Biological Control Of Fusarium Wilt In Cucurbits. *Phytopathology*, 92(2), 164-168.
77. Gal-Hemed, I., Atanasova, L., Komon-Zelazowska, M., Druzhinina, I. S., Viterbo, A., et Yarden, O. (2011). Marine Isolates Of Trichoderma Spp. As Potential Halotolerant Agents Of Biological Control For Arid-Zone Agriculture. *Applied And Environmental Microbiology*, 77(15), 5100-5109.
78. Gams, W., et Bissett, J. (2002). Morphology And Identification Of Trichoderma. *Trichoderma And Gliocladium*, 1, 3-34.
79. Gauthier, N., et Munir, M. (2023). Fruit Diseases Of Cucurbits. *Plant Pathology Fact Sheet*, PPF5-VG-07, 4.
80. Garnett, T., Godfray, H. C. J., et Müller, A. (2013). Sustainable intensification in agriculture: Premises and policies. *Science*, 341(6141), 33-34.
81. Geiser, D. M., Al-Hatmi, A. M., Aoki, T., Arie, T., Balmas, V., Barnes, I., Bergstrom, G. C., Bhattacharyya, M. K., Blomquist, C. L., et Bowden, R. L. (2021). Phylogenomic Analysis Of A 55.1-Kb 19-Gene Dataset Resolves A Monophyletic Fusarium That Includes The Fusarium Solani Species Complex. *Phytopathology*, 111(7), 1064-1079.
82. Gerhardson, B. (2002). Biological Substitutes For Pesticides. *Trends In Biotechnology*, 20(8), 338-343.

83. Gezgin, Y., Güralp, G., Barlas, A., et Eltem, R. (2023). Morphological And Molecular Identification Of Trichoderma Isolates Used As Biocontrol Agents By DNA Barcoding. *European Journal Of Biology*, 82(1), 59-69. <https://doi.org/10.26650/Eurjbiol.2023.1279151>
84. González, V., Armijos, E., et Garcés-Claver, A. (2020). Fungal Endophytes As Biocontrol Agents Against The Main Soil-Borne Diseases Of Melon And Watermelon In Spain. *Agronomy*, 10(6), 820. <https://doi.org/10.3390/Agronomy10060820>
85. Grondona, I., Hermosa, R., Tejada, M., Gomis, M. D., Mateos, P. F., Bridge, P. D., Monte, E., et Garcia-Acha, I. (1997). Physiological And Biochemical Characterization Of Trichoderma Harzianum, A Biological Control Agent Against Soilborne Fungal Plant Pathogens. *Applied And Environmental Microbiology*, 63(8), 3189-3198.
86. Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., De Los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F. I., Orozco-Mosqueda, Ma. D. C., Fadiji, A. E., Hyder, S., Babalola, O. O., et Santoyo, G. (2023). Trichoderma Species : Our Best Fungal Allies In The Biocontrol Of Plant Diseases—A Review. *Plants*, 12(3), 432. <https://doi.org/10.3390/Plants12030432>
87. Hadeid, M., Bellal, S. A., Ghodbani, T., et Dari, O. (2018). L'agriculture Au Sahara Du Sud-Ouest Algérien : Entre Développement Agricole Moderne Et Permanences De L'agriculture Oasienne Traditionnelle. *Cahiers Agricultures*, 27(1), 15005. <https://doi.org/10.1051/Cagri/2017060>
88. Hall, T. A. (1999). Bioedit : A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor And Analysis Program For Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41(41), 95-98.
89. Hammad, M., Guillemette, T., Alem, M., Bastide, F., et Louanchi, M. (2021). First Report Of Three Species Of Trichoderma Isolated From The Rhizosphere In Algeria And The High Antagonistic Effect Of Trichoderma Brevicompactum To Control Grey Mould Disease Of Tomato. *Egyptian Journal Of Biological Pest Control*, 31(1), 85. <https://doi.org/10.1186/S41938-021-00423-4>
90. Hantchi, K. D., Illiassou, S. A., Tidjani, A. D., Oumarou, R. B., et Garba, Z. (2022). Impacts Of Market Gardening Practices On Environmental Resources : The Case Of Irrigable Lands In Bonkougou (Imanan Rural Municipality, SW Niger Republic). *Natural Resources*, 13(01), 16-37. <https://doi.org/10.4236/Nr.2022.131002>
91. Haouhach, S., Karkachi, N., Oguiba, B., Sidaoui, A., Chamorro, I., Kihal, M., et Monte, E. (2020). Three New Reports Of Trichoderma In Algeria : T. Atrobrunneum, (South) T. Longibrachiatum (South), And T. Afroharzianum (Northwest). *Microorganisms*, 8(10), 1455. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms8101455>
92. Harman, G. E. (2000). Myths And Dogmas Of Biocontrol Changes In Perceptions Derived From Research On Trichoderma Harzianum T-22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393.

93. Hartani, T., Naouri, M., etKuper, M. (2015). L'entrée Des Jeunes Dans L'agriculture : Cas Du Maraîchage Sous Serre Dans Les Ziban (Algérie). Unpublished. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.2969.1046>
94. Hashemi, S. M., etDamalas, C. A. (2010). Farmers' Perceptions Of Pesticide Efficacy : Reflections On The Importance Of Pest Management Practices Adoption. *Journal Of Sustainable Agriculture*, 35(1), 69-85. <https://doi.org/10.1080/10440046.2011.530511>
95. Hassan, M. M., Farid, M. A., etGaber, A. (2019). Rapid Identification Of *Trichoderma Koningiopsis* And *Trichoderma Longibrachiatum* Using Sequence-Characterized Amplified Region Markers. *Egyptian Journal Of Biological Pest Control*, 29(1), 13. <https://doi.org/10.1186/S41938-019-0113-0>
96. Hawksworth, D. L., etLücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited : 2.2 To 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*, 5(4), 10.1128/Microbiolspec. Funk-0052-2016.
97. Hermosa, M. R., Grondona, I., Iturriaga, E. T, Diaz-Minguez, J. M., Castro, C., Monte, E., etGarcia-Acha, I. (2000). Molecular Characterization And Identification Of Biocontrol Isolates Of *Trichoderma* Spp. *Applied And Environmental Microbiology*, 66(5), 1890-1898.
98. Hermosa, M. R., Keck, E., Chamorro, I., Rubio, B., Sanz, L., Vizcaíno, J. A., Grondona, I., etMonte, E. (2004). Genetic Diversity Shown In *Trichoderma* Biocontrol Isolates. *Mycological Research*, 108(8), 897-906. <https://doi.org/10.1017/S0953756204000358>
99. Hibar, K. (2007). Effets De Certains Fongicides De Synthèse Et Biologiques Sur La Croissance Mycélienne Et L'agressivité De *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Radicis-Lycopersici*. *TROPICULTURA*, 25(3), 146-152.
100. Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., etMahjoub, M. E. (2005). Effet Inhibiteur In Vitro Et In Vivo Du *Trichoderma Harzianum* Sur *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Radicis-Lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 9 (3).
101. Horbach, R., Navarro-Quesada, A. R., Knogge, W., etDeising, H. B. (2011). When And How To Kill A Plant Cell : Infection Strategies Of Plant Pathogenic Fungi. *Journal Of Plant Physiology*, 168(1), 51-62.
102. Houdaa, B., etZouaouia, B. (2020). Morphological And Molecular Identification Of Some Algerian *Trichoderma* Isolates.
103. Hussein, S. N., etJuber, K. S. (2015). First Report Of Identification *Fusarium Solani* F. Sp. *Cucurbitae* Race 1 And 2 The Causal Agent Of Crown And Root Rot Disease Of Watermelon In Iraq. *Iraqi Journal Of Agricultural Sciences*, 3(4), 11-20.
104. Hyde, K. D., Xu, J., Rapior, S., Jeewon, R., Lumyong, S., Niego, A. G. T., Abeywickrama, P. D., Aluthmuhandiram, J. V., Brahamanage, R. S., etBrooks, S. (2019). The Amazing Potential Of Fungi : 50 Ways We Can Exploit Fungi Industrially. *Fungal Diversity*, 97, 1-136.

105. Imane, B., Hannane, A., Amor, B., et Nouredine, R. (2022). Fusarium Species Associated With Wheat Head Blight Disease In Algeria : Characterization And Effects Of Triazole Fungicides. *Pesticidi I Fitomedicina*, 37(2), 49-62. <https://doi.org/10.2298/PIF2202049I>
106. Jogaiah, S., Abdelrahman, M., Tran, L.-S. P., et Ito, S.-I. (2018). Different Mechanisms Of *Trichoderma virens*-Mediated Resistance In Tomato Against Fusarium Wilt Involve The Jasmonic And Salicylic Acid Pathways. *Molecular Plant Pathology*, 19(4), 870-882. <https://doi.org/10.1111/Mpp.12571>
107. Jones, J. T., Haegeman, A., Danchin, E. G. J., (2013). Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 14(9), 946-961.
108. Kafando, B. (2020). Estimation Des Effets De L'éducation Sur Le Revenu Agricole : Cas Des Ménages Agricoles Du Milieu Rural De l'Inde. *Cahier De Recherche/Working Paper*; Université De Sherbrooke: Sherbrooke, QC, Canada,.
109. Karthiga, P., Senthilkumar, S., Srivignesh, S., et Manivannan, S. (2023). Inevitable Role Of Grafting In Improvement Of Cucurbitaceous Crops : A Review. *Agricultural Reviews*, Of. <https://doi.org/10.18805/Ag.R-2602>
110. Kee, Y. J., Zakaria, L., et Mohd, M. H. (2020). Morphology, Phylogeny And Pathogenicity Of Fusarium Species From *Sansevieria trifasciata* In Malaysia. *Plant Pathology*, 69(3), 442-454. <https://doi.org/10.1111/Ppa.13138>
111. Khaldi, N. (1975). Education And Ailocative Efficiency In U.S. Agriculture. *American Journal Of Agricultural Economics*, 57, 650-657. <https://doi.org/10.2307/1238883>
112. Khan, B., Akash, Z., Asad, S., Javed, N., Rajput, N. A., Jabbar, A., Din, W. U., et Atif, R. M. (2017). Antagonistic Potential Of *Trichoderma harzianum* Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* Associated With Panama Wilt Of Banana. *Pakistan Journal Of Phytopathology*, 29(1), 111-116. <https://doi.org/10.33866/Phytopathol.029.01.0299>
113. Kim, D.-G., Kim, S.-H., et Lee, J.-H. (2005). Observation Of Root-Knot Nematodes In The Root Gall Formed On Oriental Melon. *The Plant Pathology Journal*, 21(1), 73-76.
114. Kristensen, R., Torp, M., Kosiak, B., et Holst-Jensen, A. (2005). Phylogeny And Toxigenic Potential Is Correlated In Fusarium Species As Revealed By Partial Translation Elongation Factor 1 Alpha Gene Sequences. *Mycological Research*, 109(2), 173-186. <https://doi.org/10.1017/S0953756204002114>
115. Kubicek, C. P., Komon-Zelazowska, M., et Druzhinina, I. S. (2008). Fungal Genus *Hypocrea/Trichoderma* : From Barcodes To Biodiversity. *Journal Of Zhejiang University Science B*, 9, 753-763.
116. Kullnig-Gradinger, C. M., Szakacs, G., et Kubicek, C. P. (2002). Phylogeny And Evolution Of The Genus *Trichoderma* : A Multigene Approach. *Mycological Research*, 106(7), 757-767. <https://doi.org/10.1017/S0953756202006172>

117. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., et Tamura, K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Across Computing Platforms. *Molecular Biology And Evolution*, 35(6), 1547.
118. Kumar, V., Koul, B., Taak, P., Yadav, D., et Song, M. (2023). Journey Of Trichoderma From Pilot Scale To Mass Production : A Review. *Agriculture*, 13(10), 2022. <https://doi.org/10.3390/Agriculture13102022>
119. Lacault, C. (2021). *Epidémiologie Et Étiologie De La Nervation Blanche De La Courgette Causée Par Des Bactéries Du Complexe D'espèces Pseudomonas Syringae* [Thèse, Université d'Angers.]. <https://theses.hal.science/Tel-03738036>
120. Lamdan, N.-L., Shalaby, S., Ziv, T., Kenerley, C. M., et Horwitz, B. A. (2015). Secretome Of Trichoderma Interacting With Maize Roots : Role In Induced Systemic Resistance*,. *Molecular etCellular Proteomics*, 14(4), 1054-1063. <https://doi.org/10.1074/Mcp.M114.046607>
121. Lal, R. (2001). Soil degradation by erosion. *Land Degradation et Development*, 12(6), 519-539.
122. Lee Jungmyung, L. J., etOda, M. (2003). Grafting Of Herbaceous Vegetable And Ornamental Crops.
123. Leslie, J. F., et Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual* (1st Ed). Blackwell Pub.
124. Lian, H., Li, R., Ma, G., Zhao, Z., Zhang, T., et Li, M. (2023). The Effect Of Trichoderma Harzianum Agents On Physiological-Biochemical Characteristics Of Cucumber And The Control Effect Against Fusarium Wilt. *Scientific Reports*, 13(1), 17606. <https://doi.org/10.1038/S41598-023-44296-Z>
125. Lisiecka, J., Sobieralski, K., et Siwulski, M. (2014). Trichoderma Spp. Â Application And Prospects For Use In Organic Farming And Industry. *Journal Of Plant Protection Research*, 54(4).
126. Liu, S., Saha, S., Stelly, D., Burr, B., et Cantrell, R. G. (2000). Chromosomal Assignment Of Microsatellite Loci In Cotton. 91, 326-332. <https://doi.org/10.1093/Jhered/91.4.326>
127. López-Bellido, L., López-Bellido, F. J., et Rodríguez, A. (2010). Impact of plasticulture on soil health. *Soil Use and Management*, 26(2), 174-182.
128. Lücking, R., Aime, M. C., Robbertse, B., Miller, A. N., Ariyawansa, H. A., Aoki, T., Cardinali, G., Crous, P. W., Druzhinina, I. S., et Geiser, D. M. (2020). Unambiguous Identification Of Fungi : Where Do We Stand And How Accurate And Precise Is Fungal DNA Barcoding? *IMA Fungus*, 11(1), 14.
129. MADR. (2021). *Serie B: Statistiques De l'Agriculture*, Ministère De L'agriculture Et Du Développement Rural.
130. Makal, H. V. G., Ratulangi, M. M., et Sualang, D. S. (2020). Exploration And Identification Trichoderma Spp. As Abiological Control Agents To Plant Pathogens

- And Startermaking Biological Fertilizers. *International Journal Of Chemtech Research*, 13(1), 222-226. <https://doi.org/10.20902/IJCTR.2019.130127>
131. May, T. W., Redhead, S. A., Bensch, K., Hawksworth, D. L., Lendemer, J., Lombard, L., et Turland, N. J. (2019). Chapter F Of The International Code Of Nomenclature For Algae, Fungi, And Plants As Approved By The 11th International Mycological Congress, San Juan, Puerto Rico, July 2018. *IMA Fungus*, 10, 1-14.
132. Mazrou, Y. S. A., Makhoulf, A. H., Elseehy, M. M., Awad, M. F., et Hassan, M. M. (2020). Antagonistic Activity And Molecular Characterization Of Biological Control Agent *Trichoderma Harzianum* From Saudi Arabia. *Egyptian Journal Of Biological Pest Control*, 30(1), 4. <https://doi.org/10.1186/S41938-020-0207-8>
133. Mbofung, G. Y., Hong, S. G., et Pryor, B. M. (2007). Phylogeny Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lactucae* Inferred From Mitochondrial Small Subunit, Elongation Factor 1-D, And Nuclear Ribosomal Intergenic Spacer Sequence Data. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-0087>
134. Merdaci, I. S. (2020). La Modélisation De La Gestion D'irrigation Dans La Région De Biskra En Utilisant Le Traitement Des Images Satellitaires (La Télédétection). Thèse, Université Mohamed Khider De Biskra.
135. Miller, T. A., Zasada, I. A., et M. J. (2008). Plant-parasitic nematodes in agriculture: The role of monoculture. *Journal of Nematology*, 40(3), 167-176.
136. Mincuzzi, A., Sanzani, S. M., Palou, L., Ragni, M., et Ippolito, A. (2022). Postharvest Rot Of Pomegranate Fruit In Southern Italy : Characterization Of The Main Pathogens. *Journal Of Fungi*, 8(5), 475. <https://doi.org/10.3390/Jof8050475>
137. Moine, L. (2013). Identification Et Détection D'une Nouvelle Espèce De *Fusarium* Pathogène Sur La Tomate De Serre En Amérique Du Nord. Université Laval. <https://books.google.dz/books?id=Eakswweacaj>
138. Morales-Rodríguez, C., Bastianelli, G., Aleandri, M., Chilosi, G., et Vannini, A. (2018). Application Of *Trichoderma* Spp. Complex And Biofumigation To Control Damping-Off Of *Pinus Radiata* D. Don Caused By *Fusarium Circinatum* Nirenberg And O'Donnell. *Forests*, 9(7), 421. <https://doi.org/10.3390/F9070421>
139. Moreno-Ruiz, D., Lichius, A., Turrà, D., Di Pietro, A., et Zeilinger, S. (2020). Chemotropism Assays For Plant Symbiosis And Mycoparasitism Related Compound Screening In *Trichoderma Atroviride*. *Frontiers In Microbiology*, 11, 601251. <https://doi.org/10.3389/Fmicb.2020.601251>
140. Moumni, M., Allagui, M. B., Mancini, V., Murolo, S., Tarchoun, N., et Romanazzi, G. (2020). Morphological And Molecular Identification Of Seedborne Fungi In Squash (*Cucurbita Maxima*, *Cucurbita Moschata*). *Plant Disease*, 104(5), 1335-1350. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0741-RE>
141. Moussa, T. A. A., Al-Zahrani, H. S., Kadasa, N. M. S., Ahmed, S. A., De Hoog, G. S., et Al-Hatmi, A. M. S. (2017). Two New Species Of The *Fusarium*

- Fujikuroi Species Complex Isolated From The Natural Environment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 110(6), 819-832. <https://doi.org/10.1007/S10482-017-0855-1>
142. Muhammad-Lawal, A., Amolegbe, K., Oloyede, W., et Lawal, O. (2014). Assessment Of Commercialization Of Food Crops Among Farming Households In Southwestern, Nigeria. *Ethiopian Journal Of Environmental Studies And Management*, 7(5), 520. <https://doi.org/10.4314/Ejesm.V7i5.6>
143. Mukherjee, M., Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Zachow, C., Berg, G., et Zeilinger, S. (2012). Trichoderma–Plant–Pathogen Interactions: Advances In Genetics Of Biological Control. *Indian Journal Of Microbiology*, 52, 522-529.
144. Mukherjee, P. K., et Kenerley, C. M. (2010). Regulation Of Morphogenesis And Biocontrol Properties In Trichoderma Virens By A VELVET Protein, Vell1. *Applied And Environmental Microbiology*, 76(7), 2345-2352.
145. Mukhopadhyay, R., et Kumar, D. (2020). Trichoderma: A Beneficial Antifungal Agent And Insights Into Its Mechanism Of Biocontrol Potential. *Egyptian Journal Of Biological Pest Control*, 30(1), 133. <https://doi.org/10.1186/S41938-020-00333-X>
146. Mullis, K. B., et Faloona, F. A. (1987). [21] Specific Synthesis Of DNA In Vitro Via A Polymerase-Catalyzed Chain Reaction. In *Methods In Enzymology* (Vol. 155, P. 335-350). Elsevier.
147. Naher, L., Syawani, N., Amieza, N., Kamarudin, A. B., et Karim, S. M. R. (2019). Trichoderma Species Diversity In Rhizosphere Soils And Potential Antagonism With Fusarium Oxysporum. *Bioscience Journal*, 13-26. <https://doi.org/10.14393/BJ-V35n1a2019-41605>
148. Nikiema, F. W., Zida, E. P., Keita, I., Koita, O. A., Thio, G. I., Nitiema, L. W., Koita, K., et Sawadogo, M. (2023). Molecular Identification Of Fusarium Species Associated With Rice Seeds Produced In Burkina Faso. <https://doi.org/10.15640/Jaes.V12n12a2>
149. Nouredine, S., Brahim, D., et Adel, S. (2021). Analyse De L'évolution Récente Des Cultures Maraichères En Algérie Analysis Of Recent Trends In Market Gardening In Algeria. *Revue Cahiers Economiques*, 12(02), 487-496.
150. Nonnecke, I. L. (1989). *Vegetable Production*, Springer US.
151. Nuangmek, W., Kumla, J., Khuna, S., Lumyong, S., et Suwannarach, N. (2023). Identification And Characterization Of Fusarium Species Causing Watermelon Fruit Rot In Northern Thailand. *Plants*, 12(4), 956. <https://doi.org/10.3390/Plants12040956>
152. O'Donnell, K., Humber, R. A., Geiser, D. M., Kang, S., Park, B., Robert, V. A., Crous, P. W., Johnston, P. R., Aoki, T., et Rooney, A. P. (2012). Phylogenetic Diversity Of Insecticolous Fusaria Inferred From Multilocus DNA Sequence Data

- And Their Molecular Identification Via FUSARIUM-ID And Fusarium MLST. *Mycologia*, 104(2), 427-445.
153. O'Donnell, K., Sutton, D. A., Rinaldi, M. G., Gueidan, C., Crous, P. W., et Geiser, D. M. (2009). Novel Multilocus Sequence Typing Scheme Reveals High Genetic Diversity Of Human Pathogenic Members Of The *Fusarium Incarnatum*—*F. Equiseti* And *F. Chlamydosporum* Species Complexes Within The United States. *Journal Of Clinical Microbiology*, 47(12), 3851-3861. <https://doi.org/10.1128/JCM.01616-09>
154. O'Donnell, K., Ward, T. J., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Geiser, D. M., et Kang, S. (2015). DNA Sequence-Based Identification Of *Fusarium* : Current Status And Future Directions. *Phytoparasitica*, 43(5), 583-595. <https://doi.org/10.1007/S12600-015-0484-Z>
155. Oskiera, M., Szczech, M., et Bartoszewski, G. (2015). Molecular Identification Of *Trichoderma* Strains Collected To Develop Plant Growth-Promoting And Biocontrol Agents. *Journal Of Horticultural Research*, 23(1), 75-86. <https://doi.org/10.2478/Johr-2015-0010>
156. OEPP/EPP. 1982 - Fiches informatives sur les organismes de quarantaine n° 70, *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. Bulletin 12 (1).
157. Parmar, D. M., et Gohel, N. M. (2023). Effect Of Culture Filtrate Of Seed Mycoflora On Seed Health In Respect To Seed Germination, Seedling Length And Seedling Vigour In Fennel Cultivars.
158. Pegg, G. F., et Brady, B. L. (2002). *Verticillium Wilts*. CABI Publishing.
159. Pérez-Hernández, A., Porcel-Rodríguez, E., et Gómez-Vázquez, J. (2017). Survival Of *Fusarium Solani* F. Sp. *Cucurbitae* And Fungicide Application, Soil Solarization, And Biosolarization For Control Of Crown And Foot Rot Of Zucchini Squash. *Plant Disease*, 101(8), 1507-1514. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0883-RE>
160. Petkar, A., Harris-Shultz, K., Wang, H., Brewer, M. T., Sumabat, L., et Ji, P. (2019). Genetic And Phenotypic Diversity Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Niveum* Populations From Watermelon In The Southeastern United States. *PLOS ONE*, 14(7), E0219821. <https://doi.org/10.1371/Journal.Pone.0219821>
161. Pfeufer, E. (2021). *Fruit Diseases Of Cucurbits*. College Of Agriculture, Food And Environment Cooperative Extension Service, PPFS-VG-07, 5.
162. Pinaria, A. G., Laurence, M. H., Burgess, L. W., et Liew, E. C. Y. (2015). Phylogeny And Origin Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Vanillae* In Indonesia. *Plant Pathology*, 64(6), 1358-1365. <https://doi.org/10.1111/Ppa.12365>
163. Rahman, M. Z., Ahmad, K., Siddiqui, Y., Saad, N., Hun, T. G., Mohd Hata, E., Rashed, O., et Hossain, M. I. (2022). First Report Of *Fusarium Equiseti* Causing Fruit

- Rot Disease Of Watermelon In Malaysia. *Plant Disease*, 106(1), 326.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-21-1027-PDN>
164. Raja, H. A., Miller, A. N., Pearce, C. J., et Oberlies, N. H. (2017). Fungal Identification Using Molecular Tools : A Primer For The Natural Products Research Community. *Journal Of Natural Products*, 80(3), 756-770.
165. Rapilly, F. (1968). *Les Techniques De Mycologie En Pathologie Végétale*. Institut National De La Recherche Agronomique.
<https://books.google.dz/books?id=Z0XDPAAACAAJ>
166. Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. Á., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Varela-Romero, A., Gutiérrez-Millán, L. E., et Meza-Moller, A. D. C. (2018). Análisis Filogenético Multilocus Del Complejo Fúngico Asociado A Pudrición Radicular De Sandía En Sonora, México. *Revista Mexicana De Fitopatología, Mexican Journal Of Phytopathology*, 36(2).
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1710-1>
167. Rentería-Martínez, M. E., Meza-Moller, A., Guerra-Camacho, M. A., Romo-Tamayo, F., Ochoa-Meza, A., et Moreno-Salazar, S. F. (2015). First Report Of Watermelon Wilting Caused By *Fusarium Brachygibbosum* In Sonora, Mexico. *Plant Disease*, 99(5), 729-729. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-14-1073-PDN>
168. Rini, C. R., et Sulochana, K. K. (2007). Usefulness Of *Trichoderma* And *Pseudomonas* Against *Rhizoctonia Solani* And *Fusarium Oxysporum* Infecting Tomato. *Journal Of Tropical Agriculture*, 45(1), 21-28.
169. Sahouli, S., Sanchez, J., Gallego, E., et Khelil, A. O. E. H. (2020). CHARACTERIZATION AND PATHOGENICITY OF *FUSARIUM PROLIFERATUM* ON DATE PALMS IN ALGERIA. *Pakistan Journal Of Phytopathology*, 32(1). <https://doi.org/10.33866/Phytopathol.032.01.0546>
170. Salem, I. B., Correia, K. C., Boughalleb, N., Michereff, S. J., León, M., Abad-Campos, P., García-Jiménez, J., et Armengol, J. (2013). *Monosporascus Eutypoides* , A Cause Of Root Rot And Vine Decline In Tunisia, And Evidence That *M. Cannonballus* And *M. Eutypoides* Are Distinct Species. *Plant Disease*, 97(6), 737-743.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0464-RE>
171. Salhi, N., Terzi, V., Goumni, Z., Salhi, A., et Mehani, M. (2015). Evaluation De L'activité Antifongique In Vitro Des Huile Essentielles De *Laurus Nobilis* L. Sur La Croissance Mycélienne De *Fusarium Sporotrichoide*. 34. *مجلة الواحات للبحوث والدراسات*, 34.
<https://doi.org/10.54246/1548-008-002-031>
172. Savitha, M. J., et Sriram, S. (2015). Morphological And Molecular Identification Of *Trichoderma* Isolates With Biocontrol Potential Against *Phytophthora* Blight In Red Pepper. *Pest Management In Horticultural Ecosystems*, 21(2), 194-202.
173. Scherm, H., (2014). The role of soil microbial communities in regulating plant diseases. *Soil Biology and Biochemistry*, 68, 253-263.

174. Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., Consortium, F. B., List, F. B. C. A., et Bolchacova, E. (2012). Nuclear Ribosomal Internal Transcribed Spacer (ITS) Region As A Universal DNA Barcode Marker For Fungi. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 109(16), 6241-6246.
175. Schroers, H.-J., Samuels, G. J., Zhang, N., Short, D. P., Juba, J., et Geiser, D. M. (2016). Epitypification Of *Fusarium* (*Fusarium*) *Solani* And Its Assignment To A Common Phylogenetic Species In The *Fusarium Solani* Species Complex. *Mycologia*, 108(4), 806-819. <https://doi.org/10.3852/15-255>
176. Schuster, A., et Schmoll, M. (2010). Biology And Biotechnology Of *Trichoderma*. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 87, 787-799. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2632-1>
177. Seo, Y., et Kim, Y. H. (2017). Potential Reasons For Prevalence Of *Fusarium* Wilt In Oriental Melon In Korea. *The Plant Pathology Journal*, 33(3), 249-263. <https://doi.org/10.5423/ppj.oa.02.2017.0026>
178. Shamkhi, I. J., et Al-Aaraji, A. M. (2021). Investigation Of Emodin-Producing *Trichoderma* Isolates By High-Performance Liquid Chromatography(HPLC).
179. Sharma, A., Katoch, V., et Rana, C. (2016). Important Diseases Of Cucurbitaceous Crops And Their Management. Première Edition: Chapter 18. (Mohammad Pessaraki). CRC Press. https://www.researchgate.net/publication/297555928_Important_Diseases_Of_Cucurbitaceous_Crops_And_Their_Management
180. Sharma, I. P., et Sharma, A. K. (2020). *Trichoderma–Fusarium Interactions : A Biocontrol Strategy To Manage Wilt*. In A. K. Sharma et P. Sharma (Éds.), *Trichoderma* (P. 167-185). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-3321-1_9
181. Shi, M., Chen, L., Wang, X.-W., Zhang, T., Zhao, P.-B., Song, X.-Y., Sun, C.-Y., Chen, X.-L., Zhou, B.-C., et Zhang, Y.-Z. (2012). Antimicrobial Peptaibols From *Trichoderma pseudokoningii* Induce Programmed Cell Death In Plant Fungal Pathogens. *Microbiology*, 158(1), 166-175.
182. Shirazi, K., Ramesh, N. K., et Asef, M. R. (2022). Chitosan And *Trichoderma harzianum* A New Challenge For Managing *Fusarium* Crown And Root Rot In Asparagus Plant. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*, 68(2), 75-86. <https://doi.org/10.2478/agri-2022-0007>
183. Shores, M., Harman, G. E., et Mastouri, F. (2010). Induced Systemic Resistance And Plant Responses To Fungal Biocontrol Agents. *Annual Review Of Phytopathology*, 48(1), 21-43.
184. Siddiquee, S. (2017). *Practical Handbook Of The Biology And Molecular Diversity Of Trichoderma Species From Tropical Regions*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-64946-7>

185. Silou, T., Tsieri, M. M., Makany, R., Tremolieres, A., Heron, S., et Tchaplal, A. (2008). Composition Et Variabilité De La Fraction Glycéridique Des Lipides De Quatre Espèces De Cucurbitacées Alimentaires Du Congo–Brazzaville.
186. Smolińska, U., et Kowalska, B. (2018). Biological Control Of The Soil-Borne Fungal Pathogen *Sclerotinia Sclerotiorum*—A Review. *Journal Of Plant Pathology*, 100, 1-12.
187. SN, 1995 - Décret exécutif n 95- 387 - du 28 Novembre 1995, fixant la liste des ennemis des végétaux et les mesures de surveillance et de lutte qui leur sont applicables. 07 p.
188. Soudani, N., Toumi, K., et Boukhalfa, H. (2022). Estimation Of The Phytosanitary Pressure And The Environmental Impact Related To The Use Of Pesticides. *Egyptian Journal Of Agricultural Research*, 0(0), 0-0. <https://doi.org/10.21608/Ejar.2022.98149.1157>
189. Stefan Van Dongen, T., et Winnepeninckx, B. (1996). Multiple UPGMA And Neighbor-Joining Trees And The Performance Of Some Computer Packages. *Mol. Biol. Evol.*, 13(2), 309-313.
190. Stępień, Ł. (2020). *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy, Pathogenicity*. *Microorganisms*, 8(9), 1404. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms8091404>
191. Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium* : Current Status Of The Genus. *Annual Review Of Phytopathology*, 57(1), 323-339. <https://doi.org/10.1146/Annurev-Phyto-082718-100204>
192. Summerell, B. A., Laurence, M. H., Liew, E. C. Y., et Leslie, J. F. (2010). Biogeography And Phylogeography Of *Fusarium* : A Review. *Fungal Diversity*, 44(1), 3-13. <https://doi.org/10.1007/S13225-010-0060-2>
193. Summerell, B. A., et Leslie, J. F. (2011). Fifty Years Of *Fusarium* : How Could Nine Species Have Ever Been Enough? *Fungal Diversity*, 50(1), 135-144. <https://doi.org/10.1007/S13225-011-0132-Y>
194. Tamura, K., Stecher, G., et Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology And Evolution*, 38(7), 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/Molbev/MSAB120>
195. Taribuka, J., Wibowo, A., Widyastuti, S. M., et Sumardiyono, C. (2017). Potency Of Six Isolates Of Biocontrol Agents Endophytic *Trichoderma* Against *Fusarium* Wilt On Banana. *Journal Of Degraded And Mining Lands Management*, 4(2), 723. <https://doi.org/10.15243/Jdmlm.2017.042.723>
196. Taylor, J. W. (2011). One Fungus= One Name: DNA And Fungal Nomenclature Twenty Years After PCR. *IMA Fungus*, 2, 113-120.
197. Tsalidis, G. A. (2022). Human Health And Ecosystem Quality Benefits With Life Cycle Assessment Due To Fungicides Elimination In Agriculture. *Sustainability*, 14(2), 846. <https://doi.org/10.3390/Su14020846>

198. Tuttle Mcgrath, M. (2004). Diseases Of Cucurbits And Their Management. In S. A. M. H. Naqvi (Éd.), Diseases Of Fruits And Vegetables Volume I (P. 455-510). Kluwer Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/1-4020-2606-4_12
199. Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., et Jaroszuk-Ściśeł, J. (2022). Trichoderma: The Current Status Of Its Application In Agriculture For The Biocontrol Of Fungal Phytopathogens And Stimulation Of Plant Growth. *International Journal Of Molecular Sciences*, 23(4), 2329. <https://doi.org/10.3390/Ijms23042329>
200. UNCCD. (2017). The Global Land Outlook. United Nations Convention to Combat Desertification.
201. Verma, N. P., Kaur, I., Masih, H., Singh, A. K., et Singla, A. (2017). Efficacy Of Trichoderma In Controlling Fusarium Wilt In Tomato (*Solanum Lycopersicum L.*). *Res Environ Life Sci*, 10(7), 636-639.
202. Verma, N. P., Kuldeep, Y. K., et Sinha, B. K. (2018). Efficacy Of Indigenous Trichoderma Strain Bio-Control Against Of Fusarium Sp. Tomato Plant Causal Agent Of (*Solanum Lycopersicon L.*) In Vitro Condition. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 7(3), 1578-1584.
203. Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S., et Lorito, M. (2009). Factors Affecting The Production Of Trichoderma Harzianum Secondary Metabolites During The Interaction With Different Plant Pathogens. *Letters In Applied Microbiology*, 48(6), 705-711.
204. Vu, D., Groenewald, M., De Vries, M., Gehrman, T., Stielow, B., Eberhardt, U., Al-Hatmi, A., Groenewald, J. Z., Cardinali, G., et Houbraeken, J. (2019). Large-Scale Generation And Analysis Of Filamentous Fungal DNA Barcodes Boosts Coverage For Kingdom Fungi And Reveals Thresholds For Fungal Species And Higher Taxon Delimitation. *Studies In Mycology*, 92(1), 135-154.
205. Wafi AL-Taae, H. H., et Al-Taae, A. K. (2019). First Molecular Identification Of Fusarium Oxysporum Causing Fusarium Wilt Of Armenian Cucumber In Iraq. *IOP Conference Series: Earth And Environmental Science*, 388(1), 012005. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/388/1/012005>
206. Wang, H., Li, Y., Li, W., Cai, L., Meng, J., Xia, G., Yin, J., et Liu, X. (2022). Morphological And Molecular Identification Of Fusarium Ipomoeae As The Causative Agent Of Leaf Spot Disease In Tobacco From China. *Microorganisms*, 10(10), 1890. <https://doi.org/10.3390/Microorganisms10101890>
207. Wang, H., Tang, W., Mao, Y., Ma, S., Chen, X., Shen, X., Yin, C., et Mao, Z. (2022). Isolation Of Trichoderma Virens 6PS-2 And Its Effects On Fusarium Proliferatum F. Sp. Malus Domestica MR5 Related To Apple Replant Disease (ARD) In China. *Horticultural Plant Journal*. <https://doi.org/10.1016/J.Hpj.2022.09.007>
208. Wang, H., Xiao, M., Kong, F., Chen, S., Dou, H.-T., Sorrell, T., Li, R.-Y., et Xu, Y.-C. (2011). Accurate And Practical Identification Of 20 Fusarium Species By Seven-Locus Sequence Analysis And Reverse Line Blot Hybridization, And An In

- Vitro Antifungal Susceptibility Study. *Journal Of Clinical Microbiology*, 49(5), 1890-1898. <https://doi.org/10.1128/JCM.02415-10>
209. Wang, M. M., Chen, Q., Diao, Y. Z., Duan, W. J., et Cai, L. (2019). *Fusarium Incarnatum-Equiseti Complex From China. Persoonia-Molecular Phylogeny And Evolution Of Fungi*, 43(1), 70-89.
210. Wani, A. H., et Mir, R. A. (2009). Biological Control Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Lycopersici* On Tomato With Fungal Antagonists. *Journal Of Biological Control*, 169-173. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0434.2009.01635.X>
211. W.Gams et J.Bissett. (2002). *Trichoderma And Gliocladium, Volume 1 : Basic Biology, Taxonomy And Genetics*.
212. White, T. J., Bruns, T., Lee, S., et Taylor, J. (1990). Amplification And Direct Sequencing Of Fungal Ribosomal RNA Genes For Phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications*, 18(1), 315-322.
213. WM, J. (2009). European Species Of *Hypocrea* Part I. The Green-Spored Species. *Stud Mycol*, 63, 1-91.
214. Xu, H., Yan, L., Zhang, M., Chang, X., Zhu, D., Wei, D., Naeem, M., Song, C., Wu, X., Liu, T., Chen, W., et Yang, W. (2022). Changes In The Density And Composition Of Rhizosphere Pathogenic *Fusarium* And Beneficial *Trichoderma* Contributing To Reduced Root Rot Of Intercropped Soybean. *Pathogens*, 11(4), 478. <https://doi.org/10.3390/Pathogens11040478>
215. Yadav, G. K., Dadhich, S. K., et Bhatshwar, M. C. (2022). *Recent Innovative Approaches In Agricultural Science*. Bhumi Publishing: Maharashtra, India.
216. Yedia, I., Benhamou, N., et Chet, I. (1999a). Induction Of Defense Responses In Cucumber Plants (*Cucumis Sativus* L.) By The Biocontrol Agent *Trichoderma Harzianum*. *Applied And Environmental Microbiology*, 65(3), 1061-1070. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.3.1061-1070.1999>
217. YEZLI, W. (2017). *Biodiversité Et Écologie De Fusarium*. Thèse, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella.
218. Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., et Mukherjee, P. K. (2016). Secondary Metabolism In *Trichoderma*—Chemistry Meets Genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90.
219. Zhang, F., Yang, X., Ran, W., et Shen, Q. (2014). *Fusarium Oxysporum* Induces The Production Of Proteins And Volatile Organic Compounds By *Trichoderma Harzianum* T-E5. *FEMS Microbiology Letters*, 359(1), 116-123.
220. Zheng, H., Qiao, M., Lv, Y., Du, X., Zhang, K.-Q., et Yu, Z. (2021). New Species Of *Trichoderma* Isolated As Endophytes And Saprotrophs From Southwest China. *Journal Of Fungi*, 7(6), 467. <https://doi.org/10.3390/Jof7060467>
221. Zhou, X. G., et Everts, K. L. (2007). Characterization Of A Regional Population Of *Fusarium Oxysporum* F. Sp. *Niveum* By Race, Cross Pathogenicity,

And Vegetative Compatibility. *Phytopathology*®, 97(4), 461-469.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-4-0461>

Annexes



Annexe 01 Chapitre 01 : Statistiques montrants l'importance économique de la culture des cucurbitacées au niveau nationale et régionale (Cas de Biskra)

Biskra

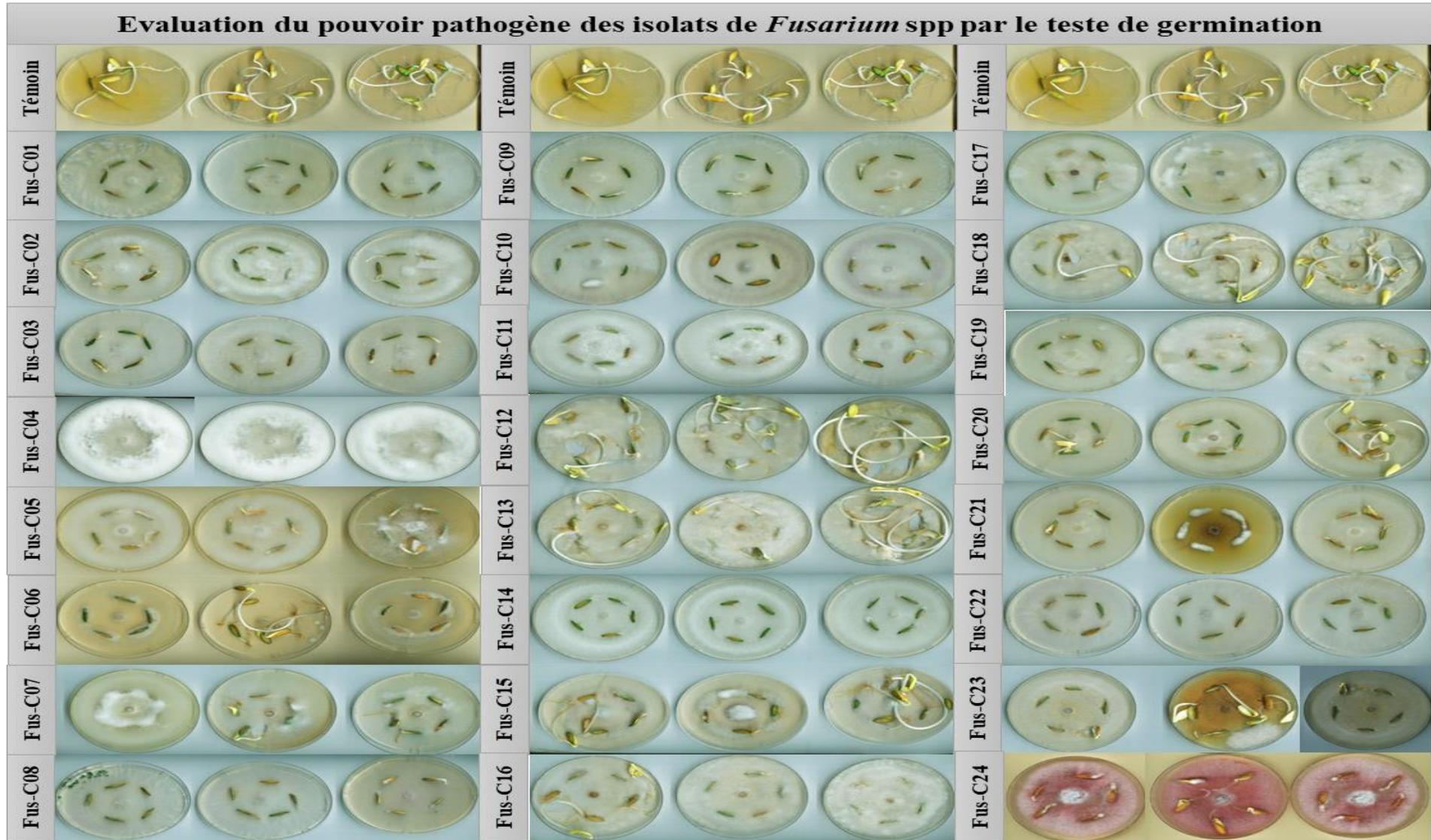
Algérie

Années	La culture des Cucurbitacées			Les cultures maraîchères			La culture des Cucurbitacées			Les cultures maraîchères		
	Superficie (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)	Superficie (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)	Superficie (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)	Superficie (ha)	Production (Qx)	Rendement (Qx/ha)
2000	26160	502130	/	12140	1951910	/	35160	5043650	/	262170	33081560	/
2001	34119	448030	/	12884	2132660	/	43140	6108250	/	268760	33622030	/
2002	42253	433030	/	13606	2256260	/	40560	6268030	/	270490	38374160	/
2003	61212	371400	/	15259	2770770	/	46670	8233690	/	298280	49088610	/
2004	103769	439500	/	13841	2407400	/	52717	9714060	/	317608	54800000	/
2005	102161	446875	/	14005	2233055	/	57345	11441785	/	335877	59265500	/
2006	107863	519425	/	14711	2902709	/	58967	10361749	/	344359	59291430	/
2007	118938	499143	/	14266	2645561	/	59332	10695716	/	327857	55242790	/
2008	107884	425343	/	13853	2463830	/	59313	10845520	/	327949	60681320	/
2009	93160	348142	/	12754	2696091	/	60820	13263948	/	348774	72912950	/
2010	145524	529140	/	14880	3866072	/	54400	13535816	/	375718	86404430	/
2011	77591	175183	1644	15020	3959800	264	66994	16088193	705	388785	95692325	213
2012	170098	721495	824	15365	4269233	278	72797	18380266	717	403027	104023180	222
2013	111814	614130	1795	17362	5743160	331	73531	19022449	805	440325	118664440	235
2014	170958	645856	1966	19415	7600800	391	71610	20798345	922	432516	122977470	246
2015	222397	985054	1688	20084	8107546	404	77193	22712223	862	431151	124693277	244
2016	205147	1427531	1533	20401	8091645	397	75449	22872114	879	435469	130826802	256
2017	274359	1207618	1593	21062	8529850	405	74995	23707450	941	435098	130202950	259
2018	629942	2588165	1894	21548	10206025	414	78285	26782800	1079	445797	136570863	268
2019	758445	3082167	1453	23488	10797289	451	81128	27930476	1052	446586	146700413	275
2020	762230	3298699	1314	27635	12398730	441	81028	29064976	1067	466158	150703070	283
2021	527721	2605305	1095	31627	12595840	393	79090	26636150	1037	457521	146085194	283

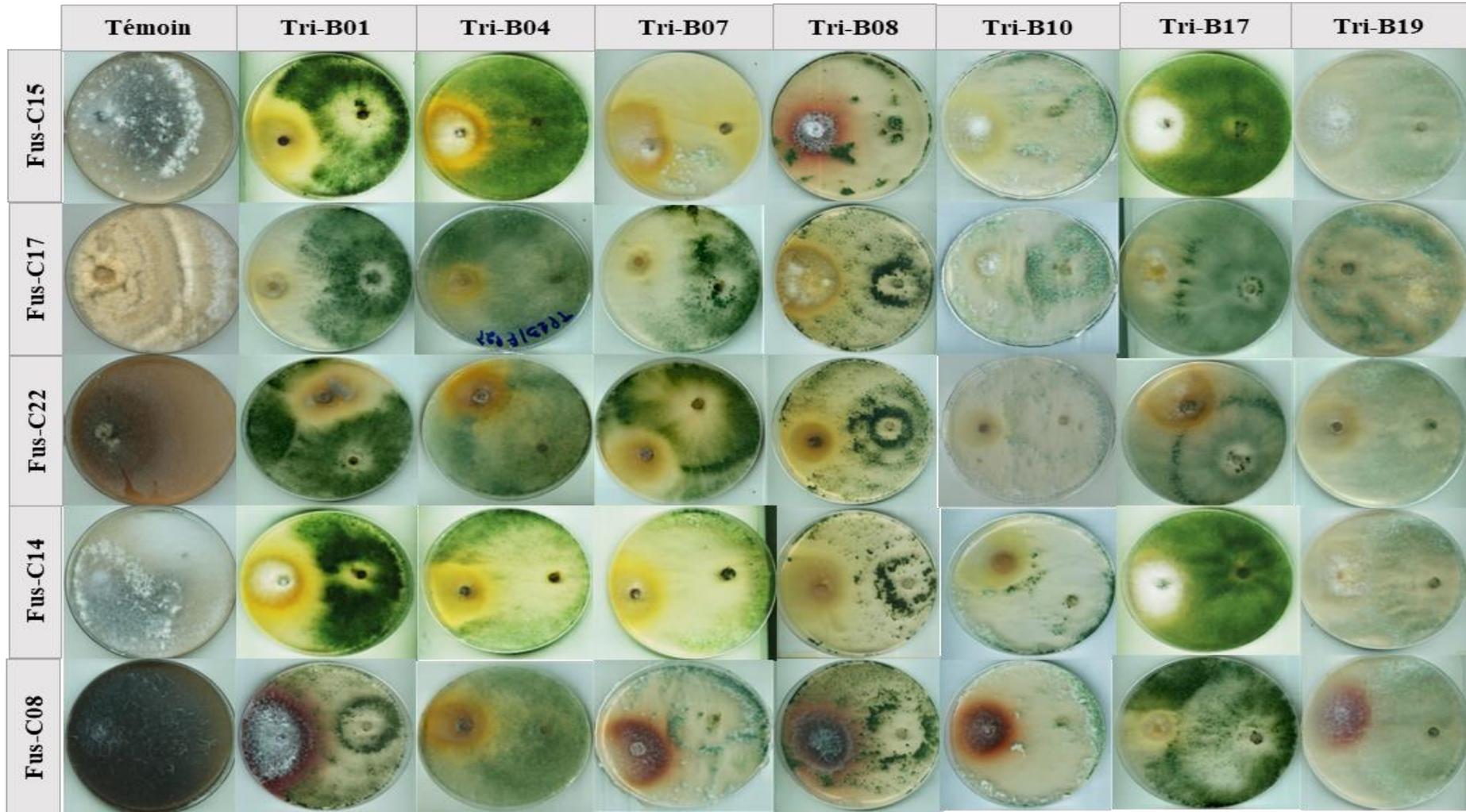
Annexe 02 Chapitre 03 : Tableau analyse de la variance ANOVA à 95%

	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	F	Sig.
Vitesse de croissance des Fusarium (mm/24h)	23,765	24	0,990	17,052	0,000***
Taux d’Inhibition de la germination%	88192,000	24	3674,667	43,063	0,000***
Taux d’Inhibition de la longueur de la coléoptiles%	43539,495	24	1814,146	13,281	0,000***
Vitesse de croissance des Trichoderma (mm/24h)	4,680	6	0,780	78,000	0,000***
Inhibition de Fus-C15 par les 07 Trichoderma	7733,143	6	1288,857	1288,857	0,000***
Inhibition de Fus-C17 par les 07 Trichoderma	5690,571	6	948,429	1327,800	0,000***
Inhibition de Fus-C22 par les 07 Trichoderma	9358,286	6	1559,714	2183,600	0,000***
Inhibition de Fus-C14 par les 07 Trichoderma	764,476	6	127,413	12,107	0,000***
Inhibition de Fus-C08 par les 07 Trichoderma	236,571	6	39,429	3,273	0,032

Annexe 03 Chapitre 03 : Evaluation du pouvoir pathogène es isolats de *Fusarium*spp. Par le teste de germination.



Annexe 04 Chapitre 03 : Evaluation du pouvoir antagoniste des isolats de *Trichodermaspp.* Par le teste de confrontation



Study of antagonistic microorganisms (*Trichoderma* spp.) of fusariosis (*Fusarium* spp.), the main fungal disease of cucurbits in the Biskra region.

Abstract: *The cultivation of cucurbits is of great economic importance in Algeria, particularly in the Biskra region, where it makes a substantial contribution to the local and national agricultural economy. However, this sector has been weakened by fusariosis caused by the fungus *Fusarium* spp. The aim of this thesis is to study this pathosystem in order to identify effective biocontrol agents in the form of antagonistic strains of the *Trichoderma* genus, with a view to proposing sustainable control solutions for this disease.*

*A diagnosis of the situation was carried out via surveys of the DSA, MADR, farmers and seed growers in the region, in order to analyze the economic importance of the crop, the socio-economic situation of growers and the current state of infection. Samples of diseased plants and soil were then collected from different areas to isolate the fungi present (*Fusarium* and *Trichoderma*). The fungal strains isolated were morphologically characterized and molecularly identified by amplification and sequencing of the ITS and TEF-1 gene, followed by phylogenetic analysis using the UPGMA method and MEGA 11 software.*

*The pathogenicity of *Fusarium* spp. isolates and the antagonism of *Trichoderma* spp. isolates were assessed by studying mycelial growth rate, the pathogenicity test of *Fusarium* spp. on melon seeds in Petri dishes and the direct confrontation test of *Trichoderma* spp. isolates against different *Fusarium* species.*

*Twenty-five *Fusarium* isolates and seven *Trichoderma* isolates were isolated. Eight species of *Fusarium* spp. and four species of *Trichoderma* spp. were identified. Results showed that 16% of *Fusarium* species were *F. solani*, 4% *F. f. falciforme*, 20% *F. oxysporum*, 28% *F. equiseti*, 12% *F. nygamai*, 8% *F. proliferatum* and 4% *F. brachygibbosum*. *Trichoderma* species included two isolates of *T. virens*, one isolate of *T. harzianum*, one isolate of *T. asperellum* and three isolates of *T. rifaii*. The latter is reported for the first time in Algeria. The results also showed the pathogenicity of certain *Fusarium* isolates, inhibiting over 53% of germination. *Trichoderma* species proved highly effective as biocontrol agents against *Fusarium*, with an inhibition rate of over 70%.*

*This work made it possible to characterize the *Fusarium* infecting cucurbits in the Biskra region and to propose promising biocontrol agents from the *Trichoderma* genus on the basis of their in vitro performance. The use of selected *Trichoderma* strains as biopesticides opens up prospects for more sustainable control of this major pest.*

Keywords: *Cucurbits, *Fusarium*, *Trichoderma*, Pathogenicity, Biocontrol, Algeria.*

Etude des microorganismes antagonistes (*Trichoderma* spp.) du fusariose (*Fusarium* spp.), principale maladie fongique des cucurbitacées dans la région de Biskra

*Résumé : La culture des cucurbitacées revêt une grande importance économique en Algérie, notamment dans la région de Biskra où elle contribue de manière substantielle à l'économie agricole locale et nationale. Cependant, cette filière est fragilisée par la fusariose causée par le champignon *Fusarium* spp. L'objectif de cette thèse est d'étudier ce pathogène afin d'identifier des agents de biocontrôle efficaces sous forme de souches antagonistes du genre *Trichoderma*, dans le but de proposer des solutions de lutte durable contre cette maladie.*

*Un diagnostic de la situation a été réalisé via des enquêtes menées auprès de la DSA, du MADR, des agriculteurs et des grainetiers de la région afin d'analyser l'importance économique de la culture, la situation socio-économique des producteurs et l'état actuel de l'infection. Des échantillons de plantes malades et des sols ont ensuite été collectés dans différentes zones pour isoler les champignons présents (*Fusarium* et *Trichoderma*). Les souches fongiques isolées ont été caractérisées morphologiquement et identifiées moléculairement par amplification et séquençage de l'ITS et du gène TEF-1 suivi d'une analyse phylogénétique par la méthode UPGMA à l'aide du logiciel MEGA 11. Le pouvoir pathogène des isolats de *Fusarium* spp. et le pouvoir antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. ont été évalués en étudiant la vitesse de croissance mycélienne, le test de pathogénicité des *Fusarium* spp sur des grains de melon dans des boîtes de Petri et le test de confrontation directe des isolats de *Trichoderma* spp. contre différentes espèces de *Fusarium*.*

*Vingt-cinq isolats de *Fusarium* et sept isolats de *Trichoderma* ont été isolés. Huit espèces de *Fusarium* spp et quatre espèces de *Trichoderma* spp. ont été identifiées. Les résultats ont montré que 16% des espèces de *Fusarium* étaient *F. solani*, 4% *F. f. falciforme*, 20% *F. oxysporum*, 28% *F. equiseti*, 12% *F. nygamai*, 8% *F. proliferatum* et 4% *F. brachygibbosum*. Les espèces de *Trichoderma* comprenaient deux isolats de *T. virens*, un isolat de *T. harzianum*, un isolat de *T. asperellum* et trois isolats de *T. rifaii*. Cette dernière est signalée pour la première fois en Algérie. Les résultats ont également montré la pathogénicité de certains isolats de *Fusarium* inhibant plus de 53% de la germination. Les espèces de *Trichoderma* ont démontré une grande efficacité en tant qu'agents de biocontrôle contre le *Fusarium*, avec un taux d'inhibition supérieur à 70%.*

*Ce travail a permis de caractériser les *Fusarium* infectant les cucurbitacées dans la région de Biskra et de proposer des agents de biocontrôle prometteurs du genre *Trichoderma* sur la base de leurs performances in vitro. L'utilisation de souches sélectionnées de *Trichoderma* comme biopesticides ouvre des perspectives pour une lutte plus durable contre cette contrainte majeure*

Mots-clés : *Cucurbitacées, *Fusarium*, *Trichoderma*, Pathogénicité, Biocontrôle, Algérie.*

دراسة الكائنات الحية الدقيقة المضادة (*Trichoderma ssp*) لمرض الفيوزاريوم (*Fusarium spp*)، المرض الفطري الرئيسي للقرعيات في منطقة بسكرة.

المخلص: تعتبر زراعة القرعيات ذات أهمية اقتصادية كبيرة في الجزائر، خاصة في منطقة بسكرة، حيث تساهم بشكل كبير في الاقتصاد الزراعي المحلي والوطني. الهدف من هذه الأطروحة هو دراسة هذا النظام المرضي من أجل تحديد عوامل مكافحة الحيوية الفعالة في شكل سلالات مضادة من جنس التريكوثيرما، بهدف اقتراح حلول مستدامة لمكافحة هذا المرض تم تقييم الوضع عن طريق إجراء دراسات استقصائية لمديرية المصالح الفلاحية ووزارة الفلاحة والمزارعين ومزارعي البذور في المنطقة، من أجل تحليل الأهمية الاقتصادية للمحصول، والوضع الاجتماعي والاقتصادي للمزارعين والحالة الراهنة للعدوى. ثم جُمعت عينات من النباتات المريضة والتربة في مناطق مختلفة لعزل الفطريات الموجودة (الفيوزاريوم والتريكوثيرما). تم توصيف السلالات الفطرية المعزولة شكلياً وتحديدها جزيئياً من خلال تضخيم وتسلسل الجين ITS وTEF-1، ثم إجراء تحليل الجينات باستخدام طريقة UPGMA وبرنامج MEGA 11 تم تقييم القدرة الإراضية لعزلات الفيوزاريوم الفطري ومضادة عزلات التريكوثيرما الفطري عن طريق دراسة معدل نمو الفطريات واختبار الإراضية لعزلات الفيوزاريوم الفطري على بذور البطيخ في أطباق بترى واختبار المواجهة المباشرة لعزلات التريكوثيرما الفطري ضد أنواع مختلفة من الفيوزاريوم تم عزل خمس وعشرين عزلة من الفيوزاريوم وسبع عزلات من التريكوثيرما. تم التعرف على ثمانية أنواع من فصيلة الفيوزاريوم وأربعة أنواع من فصيلة التريكوثيرما. أظهرت النتائج أن 16% من أنواع الفيوزاريوم كانت *F. solani* و 4% *F. falciforme* و 20% *F. oxysporum* و 28% *F. trifaii*. تم عزل هذه الأخيرة لأول مرة في الجزائر. كما أظهرت النتائج أيضاً القدرة الإراضية لبعض عزلات الفيوزاريوم، حيث منعت أكثر من 53% من الإنبات. كانت أنواع التريكوثيرما فعالة للغاية كعوامل مكافحة حيوية ضد الفيوزاريوم، بمعدل تثبيط يزيد عن 70%. وقد أتاح هذا العمل إمكانية توصيف أنواع الفيوزاريوم التي تصيب القرعيات في منطقة بسكرة واقتراح عوامل واعدة للمكافحة الحيوية من جنس التريكوثيرما على أساس أدائها في المختبر. إن استخدام سلالات مختارة من التريكوثيرما كمبيدات حيوية يفتح آفاقاً لمكافحة أكثر استدامة لهذه الآفة الرئيسية.

كلمات المفتاحية: القرعيات، الفيوزاريوم، التريكوثيرما، الإراضية، المكافحة الحيوية، الجزائر

