

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

الجزائر-المدرسة الوطنية العليا للفلاحة الحراش

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL-HARRACH

- ALGER -

THESE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques

Présentée par

BELHADJ BENYAHIA Fayza



Etude de l'effet de *Trichoderma atroviride* sur les paramètres biochimiques et physiologiques liés à la résistance de quelques variétés de blé à l'égard de *Fusarium culmorum*, l'agent causal de la pourriture du collet

Devant le jury composé de :

Président : Pr. TAOUTAOU Abdelmoumen

ENSA (Alger)

Directrice de thèse : Pr. BOUREGHDA Houda

ENSA (Alger)

Examineurs : Pr. BENZINA-TIHAR Farida

UMBB (Boumerdes)

Pr. MOUMENE Saida

Université Saad Dahleb (Blida)

Année universitaire 2023-2024

Dédicaces

Je dédie cette thèse

*À mes chers parents, qui ont lutté pour me voir toujours
réussie dans ma vie, que Dieu les garde pour moi.*

*À mon cher mari, qui m'a aidée et encouragée à
poursuivre mes études, et qui m'a donné la volonté qu'il
m'inspire chaque jour."*

*À mes enfants bien-aimés, Walid, Mohamed Moad,
Mohamed Diaa, Hiba et Ahmed, qui sont pour moi
l'essence de la vie, l'inspiration qui me guide et la
motivation qui m'encourage à avancer chaque jour.*

*A mon frère Mohamed et son épouse Khadîdja, à mes
sœurs Aïcha, Fatima et Noura et mon frère Khaled et
son épouse Imane pour leur amour et leur présence
dans ma vie.*

*À mon beau-père, Dr Walid, à ma belle-mère, Amel,
ainsi qu'à toute ma belle-famille, je leur adresse mes
sincères remerciements pour leur encouragement*

Remerciements

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à ma promotrice, Pr. BOUREGHDA Houda, pour son intérêt et son accompagnement tout au long de ce travail. Votre soutien et vos conseils ont été déterminants dans l'avancement de ma recherche, et j'apprécie énormément votre disponibilité et votre expertise.

Un grand merci à Dr. Hamada Walid et Kthiri Zayneb de l'Institut National Agronomique de Tunis. Je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté de réaliser une partie de mon travail de doctorat et pour votre aide précieuse tout au long de ma période de stage.

Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude envers Pr. TAOUTAOU Abelmoumen, d'avoir accepté de présider le jury

Pr. MOUMENE Saida et Prof. BENZINA Farida pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Résumé

Notre étude vise à évaluer l'impact de *Trichoderma atroviride* sur différents paramètres liés à la résistance de la plante au pathogène *Fusarium culmorum*. Les résultats obtenus ont montré une variabilité dans l'efficacité de la protection par l'agent antagoniste *Trichoderma* selon les variétés de blé testées, où le taux de réduction de la maladie le plus élevée (56%) a été observé chez la variété Waha. De plus, nous avons noté des changements physiologiques spécifiques selon les variétés, avec les variétés Ain Abid et Waha présentant des taux plus élevés de poids frais, poids sec, taux d'émergence et taux de chlorophylle chez les plants co-inoculés par rapport à ceux inoculés uniquement par le pathogène. Nous avons étudié l'effet de l'agent antagoniste sur différents paramètres biochimiques liés à la résistance des plantes, tels que les activités des enzymes antioxydantes (peroxydase et catalase), le contenu phénolique et protéique des trois variétés de blé, ainsi que le dosage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Nos résultats ont montré que l'application de *T. atroviride* a induit des niveaux systémiques plus élevés de ces facteurs. En particulier, la variété Waha qui a enregistré les niveaux d'induction les plus élevés, suivie par la variété Ain Abid, lorsque les plants de blé ont été co-inoculés à la fois par Ta13 et *Fusarium culmorum*, par rapport à ceux inoculés uniquement par le pathogène. Par ailleurs, les niveaux les plus bas de ces facteurs ont été observés chez la variété Vitron. Nous avons noté une forte accumulation de phénols dans les parties basales des plants de la variété Waha, avec une augmentation allant jusqu'à 1400% chez les plants co-inoculés par rapport à ceux inoculés uniquement par le pathogène. De plus, la variété Waha a montré la plus grande augmentation de l'activité de la peroxydase dans les tissus foliaires, atteignant jusqu'à 282% par rapport au témoin. Le contenu protéique des collets des plants de la variété Waha co-traités avec Ta.13 et *F. culmorum* a également été augmenté de 66%. Par ailleurs, les plus fortes augmentations de l'activité catalase ont été observées dans les parties basales et les feuilles de la variété Ain Abid co-inoculée avec Ta.13 et *F. culmorum*, avec des taux d'augmentations respectives de 641% et 788% par rapport aux plants inoculés seulement par le pathogène. Ta13 a réduit le niveau de peroxyde d'hydrogène chez les plants co-inoculés des variétés marquées comme tolérantes.

Les mots clés : *Trichoderma atroviride* ; *Fusarium culmorum* ; protection des plantes, induction de la croissance des plantes, protéines totales ; phénols ; peroxydase ; catalase, peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Abstract

Our study aimed to evaluate the impact of *Trichoderma atroviride* on various parameters related to plant resistance to the pathogen *Fusarium culmorum*. The results showed variability in the protective efficiency of *Trichoderma* depending on the tested wheat varieties, notably with the highest disease reduction (56%) observed in the Waha variety. Furthermore, we noted specific physiological changes depending on the varieties, with the Ain Abid and Waha varieties showing higher rates of fresh weight, dry weight, germination rate, and chlorophyll content in plants co-inoculated compared to those inoculated only with the pathogen. We studied the effect of the antagonist on different biochemical parameters related to plant resistance, such as the activities of antioxidant enzymes (peroxidase and catalase), phenolic and protein content of three wheat varieties, as well as hydrogen peroxide (H₂O₂) levels. Our results showed that the application of *T. atroviride* induced higher systemic levels of these factors. In particular, the Waha variety recorded the highest induction levels, followed by Ain Abid, when plants were co-inoculated with both Ta.13 and *F. culmorum*, compared to those inoculated only with the pathogen. Additionally, the lowest levels of these factors were observed in the Vitron variety. We noted a strong accumulation of phenols in the basal parts of Waha variety plants, with an increase of up to 1400% in plants co-inoculated compared to those inoculated only with the pathogen. Furthermore, the Waha variety showed the biggest increase in peroxidase activity in leaf tissues, reaching up to 282% of the control. The protein content in the collars of Waha variety plants also increased by 66% when co-treated with Ta.13 and *F. culmorum*. Furthermore, the strongest increases in catalase activity were observed in the basal parts and leaves of the Ain Abid variety when co-inoculated with Ta.13 and *F. culmorum*, with respective increases of 641% and 788% compared to plants inoculated only with the pathogen. Ta13 reduced the level of hydrogen peroxide in co-inoculated plants of varieties marked as tolerant.

Keywords: *Trichoderma atroviride*; *Fusarium culmorum*; plant protection, plant growth promotion, total proteins; phenols; peroxidase; catalase, Hydrogen Peroxide (H₂O₂).

ملخص

تهدف دراستنا إلى تقييم تأثير فطر *Trichoderma atroviride* على مختلف المعايير المتعلقة بمقاومة النبات المسبب للمرض *Fusarium culmorum*. أظهرت النتائج تبايناً في كفاءة حماية *Trichoderma* حسب الأصناف المختبرة من القمح، النسبه الأعلى في انخفاض المرض لوحظت عند الصنف Waha (56%) علاوة على ذلك، لاحظنا تغيرات فسيولوجية لدى كل صنف للقمح ، حيث أظهرت أصناف Ain Abid و Waha معدلات أعلى من الوزن الطازج والوزن الجاف ومعدل الانبات ومحتوى الكلوروفيل في النباتات المعالجه بمسبب المرض و الفطر المكافح في نفس الوقت مقارنة بتلك النباتات المعالجه بمسبب المرض فقط. درسنا تأثير الفطر المضاد على معايير بيوكيميائية مختلفة متعلقة بمقاومة النباتات للمرض، مثل أنشطة الإنزيمات المضادة للأكسدة (Catalase, Peroxydase)، ومحتوى phenols والبروتين في ثلاثة أصناف من القمح، بالإضافة إلى تركيز بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). أظهرت نتائجنا أن المعالجه ب *T. atroviride* تسبب في زيادة مستويات أعلى لهذه العوامل على وجه الخصوص، سجل الصنف Waha أعلى مستويات التحفيز، تليها Ain Abid ، بالنسبه للنباتات المعالجه ب T Ta.13 و *Fusarium culmorum*، مقارنة بتلك المعالجه بمسبب المرض فقط. علاوة على ذلك، لوحظت أدنى مستويات هذه العوامل في الصنف Vitron. لاحظنا تراكمًا قويًا للفينولات في الأجزاء القاعدية لنباتات الصنف Waha ، مع زيادة تصل إلى 1400% في النباتات المعالجه بالفطرين مقارنة بتلك المعالجه بمسبب المرض فقط. وايضا، أظهر الصنف Waha أكبر زيادة في نشاط البيروكسيداز في أنسجة الأوراق بنسبه 282%، كما ارتفع محتوى البروتين في الأجزاء القاعدية لنباتات الصنف Waha بنسبة 66% عند معالجتها مع Ta.13 و *F. culmorum*. علاوة على ذلك، لوحظت أعلى زيادات في نشاط الكاتالاز في الأجزاء القاعدية والأوراق لصنف Ain Abid عند معالجتها مع Ta.13 و *F. culmorum*، بزيادات تصل إلى 641% و 788% على التوالي مقارنة بالنباتات المعزولة فقط بالمسبب. قامت Ta13 بتخفيض نسبه بيروكسيد الهيدروجين لدى النباتات المعالجه بالفطرين خاصه عند التي سجلت مقاومه عاليه ضد المرض.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma atroviride*, *Fusarium culmorum* حماية النبات، تعزيز نمو النبات، البروتينات الكلية؛ الفينولات؛ البيروكسيداز؛ الكاتالاز، بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)

LISTE DES ABREVIATIONS

APX: l'ascorbate peroxydase

CWDEs: Cell Wall Degrading Enzymes

DAB: 3,3'-Diaminobenzidine

DON: Désoxynivalénol

CAT: catalase

ETI: The effector triggered immunity

ETS: Effector triggered susceptibility

GSTs: Glutathion-S-transferases

HCN: Hydrogen cyanide synthesis

J.-C: Jésus-Christ.

ISR: Induced Systemic Resistance

ONS: Office National des Statistiques

OAIC: Office Algérien Interprofessionnel des Céréales

PAMPs: Pathogen-Associated Molecular Patterns

PDA: Potato Dextrose Agar

PGPR: Plant Growth-Promoting Rhizobacteria

PGPF: Plant Growth-Promoting Fungi

PRRs: Pattern Recognition Receptors

POX: peroxidase

ROS: Reactive Oxygen Species

RT-PCR: Reverse transcription polymerase chain reaction

SAR: Systemic Acquired Resistance

SAU: la Superficie Agricole Utile.

SOD: Superoxyde dismutase

SPAD: Soil Plant Analysis Development

USDA: United States Department of Agriculture

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Cycle de développement du blé.....	5
Figure 2. Symptômes de la pourriture du collet sur le blé.....	10
Figure 3. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) à faibles concentrations (H_2O_2 et O_2 , $O\bullet-2$, $OH\bullet$) et leurs rôles dans la signalisation suite à une exposition de la plante à un stress.....	19
Figure 4. Les systèmes de production et de nettoyage des ROS dans la plante lors d'une attaque pathogénique.....	22
Figure 5. Modèle en zig-zag illustrant la coévolution des mécanismes de défense des plantes et d'attaque des agents pathogènes.	25
Figure 6. Echelle de notation des symptômes de la pourriture du collet chez le blé.	34
Figure 7. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le taux d'émergence des trois variétés de blé inoculées avec <i>Fusarium culmorum</i> comparée aux témoins non inoculés.....	42
Figure 8. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur Le taux d'émergence des graines de blé des variétés inoculées par le pathogène par rapport au témoin inoculé.....	43
Figure 9. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le taux de chlorophylle des trois variétés sous différents traitements, par rapport aux témoins non inoculés.....	45
Figure 10. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le taux de chlorophylle des trois variétés co-inoculées par rapport aux témoins inoculés par le pathogène seul.....	45
Figure 11. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le poids frais : taux de variation du poids frais total des plants du blé (feuille, tige et racine) des trois variétés de blé sous différents traitements par rapport aux témoins non inoculés.....	46
Figure 12. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le poids sec : taux de variation du poids sec total des plants du blé (feuille, tige et racine) des trois variétés de blé sous différents traitements par rapport aux témoins non inoculés.....	46

Figure 13. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le poids sec des trois variétés du blé co-inoculées, par rapport aux plants inoculés par le pathogène seul.....	47
Figure 14. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur le taux d'humidité (H%) et de la matière sèche des trois variétés du blé sous différents traitements par rapport au témoin non inoculé (T).....	49
Figure 15. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (<i>T. atroviride</i>) sur la surface foliaire des trois variétés inoculées sous différents traitements par le pathogène par rapport aux témoins non inoculés.....	50
Figure 16. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 de <i>T. atroviride</i> sur la surface foliaire des trois variétés inoculées par le pathogène par rapport aux plants inoculés par le pathogène seul.....	51
Figure 17. Evaluation de l'effet de <i>T. atroviride</i> (Ta.13) sur l'induction des protéines totales (a) et des polyphénols (b) dans les feuilles et les parties basales des variétés de blé à l'égard <i>F. culmorum</i>	52
Figure 18. Evaluation de l'effet de <i>T. atroviride</i> sur l'induction de l'activité de peroxydase (a) et de la catalase (b) dans les feuilles et dans les parties basales des variétés de blé contre <i>F. culmorum</i>	66
Figure 19. La coloration par le DAB qui montre les différents degrés d'accumulation de H ₂ O ₂ dans les feuilles de blé des trois variétés.....	74
Figure 20. Variation du taux de peroxyde d'hydrogène sous l'effet de l'isolat Ta.13 de <i>T. atroviride</i> dans les feuilles et les parties basales des variétés de blé.....	76
Figure 21. La relation entre le taux du peroxyde d'hydrogène et l'activité de l'enzyme de peroxydase chez les trois variétés de blé.....	82
Figure 22. La relation entre le taux du peroxyde d'hydrogène et l'activité de l'enzyme de cataase chez les trois variétés de blé.....	83
Figure 23. Les corrélations entre le taux de peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et l'indice de la maladie chez les trois variétés du blé.....	83

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Indice et pourcentage de réduction de la maladie chez les variétés de blé témoins.....	39
--	----

Table des matières

Dédicaces	I
Remerciements	II
Résumé	III
Abstract	IV
ملخص.....	V
Liste des abreviations	VI
Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux	IX
Introduction générale.....	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique.....	4
1. Pathosystème blé– <i>F. culmorum</i>	
1.1 Le blé.....	4
1.1.1 Classification et historique	4
1.1.2 Le cycle de croissance du blé	4
1.1.3 Importance économique du blé.....	5
1.1.3.1 Dans le monde.....	5
1.1.3.2 En Algérie.....	6
1.1.4 Etat phytosanitaire du blé en Algérie.....	6
1.2 Aperçu sur la pourriture du collet	8
1.2.1 Distribution de la maladie et des agents pathogènes responsables.....	8
1.2.2 Taxonomie de <i>F. culmorum</i>	9
1.2.3 Développement de la maladie et symptomatologie	9
1.2.4 Les facteurs de pathogenèse chez les agents pathogènes associés à la pourriture du collet	10
1.2.4.1 Les enzymes dégradant la paroi cellulaire (CWDEs).....	10
1.2.4.2 Les Mycotoxines.....	11
1.2.5 Effet de la maladie sur l'état physiologique et biochimique de la plante	11
1.2.5.1 Effet sur la translocation de l'eau et des éléments nutritifs.....	11
1.2.5.2 Effet sur la photosynthèse et la translocation des nutriments résultants.....	11
1.2.5.3 Effet sur la respiration.....	12
1.2.6 Les moyens de lutte.....	12

1.2.6.1	Les pratiques culturales	12
1.2.6.2	La lutte chimique	13
1.2.6.3	La lutte biologique.....	13
1.2.6.4	Utilisation des variétés tolérantes	14
1.2.6.5	La lutte intégrée.....	15
1.2.7	Mécanismes de défense de la plante à la pourriture du collet	15
1.2.7.1	Les mécanismes de défenses constitutives (passives).....	15
1.2.7.1.1	Les barrières structurales.....	16
1.2.7.1.2	Les substances biochimiques.....	16
a)	Les phytoanticipines.....	16
b)	Absence chez la plante des nutriments stimulateurs de l'attaque pathogénique.	16
1.2.8	Expression de la résistance lors de l'interaction plante-agent pathogène (modèle zig-zag)	24
1.2.7.2	Les mécanismes de défenses inductibles (actives).....	17
1.2.7.2.1	Structurelle.....	17
a)	Le dépôt de callose (1,3 - β -glucan)	17
1.2.7.2.2	Biochimique	18
a)	Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) à faible concentration et leur importance dans l'induction de la défense chez la plante	18
b)	Les protéines relatives à la pathogenèse (protéines PR)	19
c)	Les phytoalexines	19
d)	Les enzymes antioxydantes et leur rôle dans la régénération et l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules végétales.....	21
e)	La réaction d'hypersensibilité (HR).....	22
f)	L'induction des deux réactions de résistances systémiques : SAR et ISR.....	23
I.	Induction de la résistance systémique acquise (SAR).....	23
II.	La résistance systémique induite (ISR).....	23
1.2.8	Expression de la résistance lors de l'interaction plante-agent pathogène (Modèle zig-zag).....	E
	rrreur ! Signet non défini.	24
1.2.8.1	Réaction de défense suite à la reconnaissance du pathogène	24
1.2.8.2	Contournement de la première résistance par les effecteurs de l'agent pathogène.....	24
1.2.8.3	Activation de la deuxième résistance de la plante.....	25
2.	Généralités et bénéfices de l'agent de lutte biologique.....	25

2.1	L'induction des mécanismes de défense chez la plante à l'égard du pathogène.....	26
2.2	Effet de <i>Trichoderma</i> sur la nutrition et la régulation de la croissance et du développement des plantes	27
2.3	La résistance au stress abiotique	27
Chapitre II : Effet de <i>Trichoderma atroviride</i> (Ta.13) sur la protection du blé à l'égard de la pourriture du collet causée par <i>F. culmorum</i>		
	Introduction	29
1.	Matériel et méthodes	30
1.1	Matériel	30
1.1.1	Matériel végétal.....	30
1.1.2	Matériel fongique.....	30
1.2	Méthodes	31
1.2.1	Traitement de la semence du blé par l'agent antagoniste.....	31
1.2.2	Préparation de la suspension des spores de <i>T. atroviride</i> (Ta.13).....	31
1.2.3	Traitement de la semence du blé par la suspension de spores de <i>T. atroviride</i>	31
1.2.4	Préparation du sol pour le semis.....	32
1.2.5	Préparation de l'inoculum de <i>F. culmorum</i>	32
1.2.6	Le semis et l'inoculation par l'agent pathogène	32
1.2.7	Le dispositif expérimental	32
1.2.8	Le suivi des symptômes et le calcul de l'indice de maladie	33
2.	Résultats	34
	Discussion	36
	Conclusion.....	37
Chapitre III : Effet de <i>Trichoderma atroviride</i> sur les paramètres de croissance des plants de blé et sur la teneur en chlorophylle.....		
	Introduction	38
1.2.1	Le taux d'émergence.....	39
1.2.2	Mésure de la teneur relative en chlorophylle	39
1.2.3	Mésure de la biomasse et de la surface foliaire.....	40
2	Résultats	41
2.1	Le taux d'émergence	41
2.2	La teneur en chlorophylle	43
2.3	Poids frais et poids sec.....	44

2.4.	Le rapport entre le taux d'humidité et le taux de matière sèche (l'humidité pondérale).....	47
2.5	La surface foliaire	50
Chapitre IV : Effet de <i>Trichoderma atroviride</i> (Ta.13) sur les activités enzymatiques et les composés liés a la résistance de la plante contre le pathogène		
	Introduction	56
1.1	Matériel fongique	57
1.2	Méthodes	57
1.2.1	Traitement de la semence par l'agent antagoniste et inoculation par l'agent pathogène 57	
1.2.2	Préparation du matériel végétal pour les analyses biochimiques	57
1.2.3	L'extraction et le dosage des protéines totales.....	57
1.2.4	Détermination du contenu phénolique.....	58
1.2.5	Extraction et détermination des activités des enzymes antioxydantes.....	58
	A. Peroxydase.....	58
	b. Catalase.....	59
2.	Résultats	60
2.1	La teneur en protéines.....	61
2.2	La teneur en phénols	61
2.3	L'activité peroxydase.....	62
2.4.	L Activité catalase	63
	Discussion	67
	Conclusion.....	70
Chapitre V : Effet de <i>Trichoderma atroviride</i> sur le niveau du peroxyde d'hydrogène et son histolocalisation dans la plante		
	Introduction	71
1.	Matériel et méthodes	72
1.1	Détection histochimique du peroxyde d'hydrogène dans les feuilles de blé.....	72
1.2	Estimation de la teneur en peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et les parties basales de la plante	72
2.	Résultats	73
2.1	Histolocalisation du peroxyde d'hydrogène.....	73
2.2	Le taux du peroxyde d'hydrogène.....	75

Discussion	76
Conclusion.....	78
Chapitre VI : l'interaction entre les parametres physiologiques et biochimiques etudies	80
Introduction	80
1.Résultats	81
Conclusion.....	86
Conclusion générale	87
References bibliographiques.....	91
Annexes	

Introduction générale

Le blé est la culture céréalière qui occupe la plus grande surface des terres emblavées dans le monde, vue son importance dans la nourriture de l'homme. En 2022, la production mondiale du blé a atteint les 808 millions de tonnes, le classant en deuxième position après le maïs. Pour la même année, la production en Algérie a atteint 3 millions de tonnes (**FAOSTAT, 2024**). Cependant, cette production ne satisfait pas les besoins d'une population en croissance et elle est comblée par les importations.

Malgré la stratégie du gouvernement algérien visant à contrôler les importations et à réduire les dépenses tout en encourageant la production du blé, l'Algérie se classe en cinquième position parmi les pays importateurs du blé. Les importations du blé sont estimées à atteindre 7,8 de tonnes pour la campagne 2023/2024 (**Imadalou, 2024**)

Ces dernières années, les chiffres de la production du blé en Algérie ont subi des fluctuations en raison de l'exposition de la culture à diverses contraintes biotiques, abiotiques et techniques. Parmi les contraintes biotiques, les maladies fongiques associées au genre *Fusarium*, à savoir la pourriture du collet et la fusariose de l'épi qui sont parmi les maladies les plus redoutables et répandues mondialement sur blé et qui entraînent des pertes considérables de rendement. En Algérie, la pourriture du collet a été rencontrée dans la plupart des zones céréalières du Nord du pays (**Laraba et al., 2017a ; Abdallah-Nekache et al., 2019 ; Bouaicha et al., 2022**). Les recherches menées ont montré que l'espèce dominante associée à la pourriture du collet est *Fusarium culmorum* (**Laraba et al., 2017a; Abdallah-Nekache et al., 2019**), avec la présence d'autres espèces également importantes, telles que *F. pseudograminearum*, *Microdochium majus* et *M. nivale* (**Abdallah-Nekache et al., 2019; Bouaicha et al., 2022**). Les prospections réalisées en Algérie ont abouti à la description d'une nouvelle espèce *F. algeriense* Laraba & O'Donnell en tant qu'agent causal de la pourriture du collet sur le blé (**Laraba et al., 2017b**).

Les estimations des pertes dues à la pourriture du collet n'ont jamais été évaluées en Algérie. Cependant, certaines données sont disponibles pour d'autres pays. Par exemple, dans la région Nord-Ouest du pacifique des États-Unis, les pertes de rendement ont atteint 61% de la production du blé d'hiver (**Smiley et al., 2005**). En Australie, les pertes de rendement ont été chiffrées à environ 97 millions de dollars pour le blé et l'orge (**Alahmad et al., 2018**).

Plusieurs méthodes sont adoptées pour atténuer l'impact de la pourriture du collet. Parmi ces méthodes, l'utilisation de plantes non-hôtes dans les systèmes de rotation des cultures peut réduire la présence des agents pathogènes dans le sol. L'application de fongicides pour lutter contre la pourriture du collet n'est possible qu'en traitement de la semence, avec une efficacité limitée uniquement au début du cycle de la culture (**Miedaner, 1997 ; Spanu, 2011 ; Scherm et al., 2013**). Concernant la résistance génétique, seules quelques variétés de blé présentant une résistance partielle ont été identifiées, et aucun cultivar de blé n'a été identifié et diffusé avec une résistance complète à la pourriture du collet (**Alahmad et al., 2018; Kazan et Gardiner, 2018**).

Plusieurs micro-organismes antagonistes ont montré leur efficacité à l'égard de *F. culmorum*, notamment *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, et *Gliocladium roseum* (**Scherm et al., 2013**). En effet, l'efficacité de ces agents antagonistes à l'égard de *F. culmorum* et d'autres espèces de *Fusarium* a été évaluée dans des travaux antérieurs réalisés en Algérie (**Dendouga et al., 2016 ; Lounaci et al., 2016**). Les espèces du genre *Trichoderma* sont considérées parmi les agents les plus efficaces contre plusieurs agents phytopathogènes (**Harman et al., 2005 ; Shores et al., 2010; Guzmán-Valle et al., 2014**). Ces agents antagonistes utilisent différents mécanismes à l'égard des agents pathogènes, à savoir le mycoparasitisme, l'antibiose, la compétition pour les nutriments et l'espace, ainsi que l'induction de la résistance chez les plantes (**Harman et Shores, 2007**).

Les plantes peuvent se défendre contre les stress biotiques par différentes réactions. Le premier mécanisme de défense qui peut être déclenché est un épaissement des parois cellulaires de la plante pour limiter la pénétration de l'agent pathogène, ainsi que l'accumulation des phénols et la production de faibles concentrations des espèces réactives d'oxygène (ROS) (**Benhamou et al., 2012**). Cependant, une production excessive de radicaux libres due à la consommation d'oxygène peut être toxique pour la plante, entraînant ainsi un stress oxydatif. Néanmoins, la plante active les systèmes enzymatiques antioxydants, tels que la peroxydase (POX) et la catalase (CAT), ainsi que les systèmes non enzymatiques, tels que la production de polyphénols et des protéines solubles. Grâce à cette activation, les cellules éliminent les radicaux libres, limitant ainsi le potentiel du dommage oxydatif (**Kotchoni et Gachomo, 2006**).

La production des ROS est un facteur essentiel dans la réponse des plantes aux différents stress, entre autres aux attaques par les agents pathogènes. Plusieurs études ont montré que l'application d'espèces de *Trichoderma* et d'autres agents de biocontrôle améliore la production

de ces métabolites de défense dans plusieurs pathosystèmes (**Yedidia et al., 2004 ; Harman, 2006 ; Guzmán-Valle et al., 2014 ; Mustafa et al., 2017 ; Rais et al., 2017**). Cependant, une accumulation excessive de ROS dans les plantes peut poser un problème, car ces molécules réactives peuvent endommager les composants cellulaires essentiels (lipides, protéines, ADN), menant à un stress oxydatif, une altération de la membrane cellulaire et, dans les cas graves, à la mort cellulaire programmée. Cela compromet la croissance, la productivité et la survie de la plante. C'est pourquoi les plantes ont développé des mécanismes de défense, incluant des enzymes et des composés antioxydants, pour neutraliser l'excès de ROS. La gestion de ces niveaux est essentielle pour l'adaptation et la tolérance des plantes face aux stress biotiques et abiotiques.

Dans ce contexte, le potentiel de l'agent antagoniste *Trichoderma atroviride* à diminuer l'incidence de la pourriture du collet chez le blé a été rapporté par plusieurs travaux antérieurs, parmi lesquels nous citons ceux réalisés au laboratoire de Phytopathologie et biologie moléculaire de l'ENSA, **Abdallah (2013), Chihat et al. (2021) et Chihat (2022)**. Cependant, ces travaux n'ont pas investigué les réactions de défense induite par cet agent antagoniste chez le blé.

Ainsi, cette étude vise à poursuivre ces travaux en se concentrant sur les objectifs suivants:

- Évaluation de l'effet variétal chez le blé sur l'effet protecteur de *T. atroviride* à l'égard de *F. culmorum*, la principale espèce associée à la pourriture du collet en Algérie.
- Évaluation de l'effet de *T. atroviride* sur la croissance des différentes variétés de blé utilisées dans la présente étude.
- Évaluation des paramètres biochimiques associés à la résistance du blé induits par le traitement avec l'agent antagoniste *T. atroviride*, à savoir les activités des enzymes antioxydants (Peroxydase, Catalase), les polyphénols, les protéines totales dans les parties basales et les feuilles.
- La mise en évidence de l'effet de *T. atroviride* dans la régulation du niveau du peroxyde d'hydrogène chez les plants de blé inoculés. L'approche utilisée est la détection de cette molécule dans les tissus foliaires des plants de blé co-inoculés par le pathogène et l'antagoniste, et la comparaison avec les plants témoins inoculés seulement par l'agent pathogène. Cette mise en évidence est complétée par le dosage du H₂O₂ dans les parties basales et les feuilles des plants de blé.

Chapitre I. Synthèse bibliographique

1. Pathosystème blé–*F. cumlorum*

1.1 Le blé

1.1.1 Classification et historique

Le blé est une plante céréalière monocotylédone, appartenant à la famille des *Poaceae* (*Gramineae*), sous-famille des *Pooideae* (Festucoidées), au genre *Triticum*. Ce genre comprend plusieurs espèces dont les plus importantes sont le blé tendre (*Triticum aestivum* L.) et le blé dur (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* Desf.) Husn (**Boulal et al., 2007 ; Jemmali, 2015**). Le blé a été cultivé depuis 5000 à 6000 ans avant J.-C dans le croissant fertile par l'homme néolithique (**DORE et VAROQUAUX, 2006 ; Khaldoun et al., 2006**). La route la plus ancienne de diffusion des céréales vers les pays du Maghreb fut à partir de la péninsule italienne et de la Sicile (**Boulal et al., 2007**).

1.1.2 Le cycle de croissance du blé

Le cycle de développement du blé peut être résumé en trois phases (**Fig.1**), la première phase correspond à la levée et le tallage (la phase végétative), qui se déroule du début de l'automne jusqu'à la fin de l'hiver. Pendant cette période, la plante installe ses capteurs foliaires (les talles) et racinaires pour intercepter le rayonnement solaire, absorber l'eau et les éléments minéraux.

La deuxième correspond à la phase reproductive (montaison, épiaison et floraison), durant laquelle la plante met en place ses organes reproducteurs. À l'issue de cette dernière, le nombre potentiel de grains est fixé.

A la fin du cycle, la troisième phase qui correspond au remplissage et à la maturation du grain, nécessitant de la chaleur et un climat sec. Durant cette phase, le grain profite des assimilés provenant de la remobilisation de l'azote et des dernières feuilles photosynthétiquement actives. Ensuite, le grain se déshydrate partiellement et prend une couleur jaune doré, indiquant le moment optimal pour la récolte (**Gate et Giban, 2003 ; Egli, 2017**).

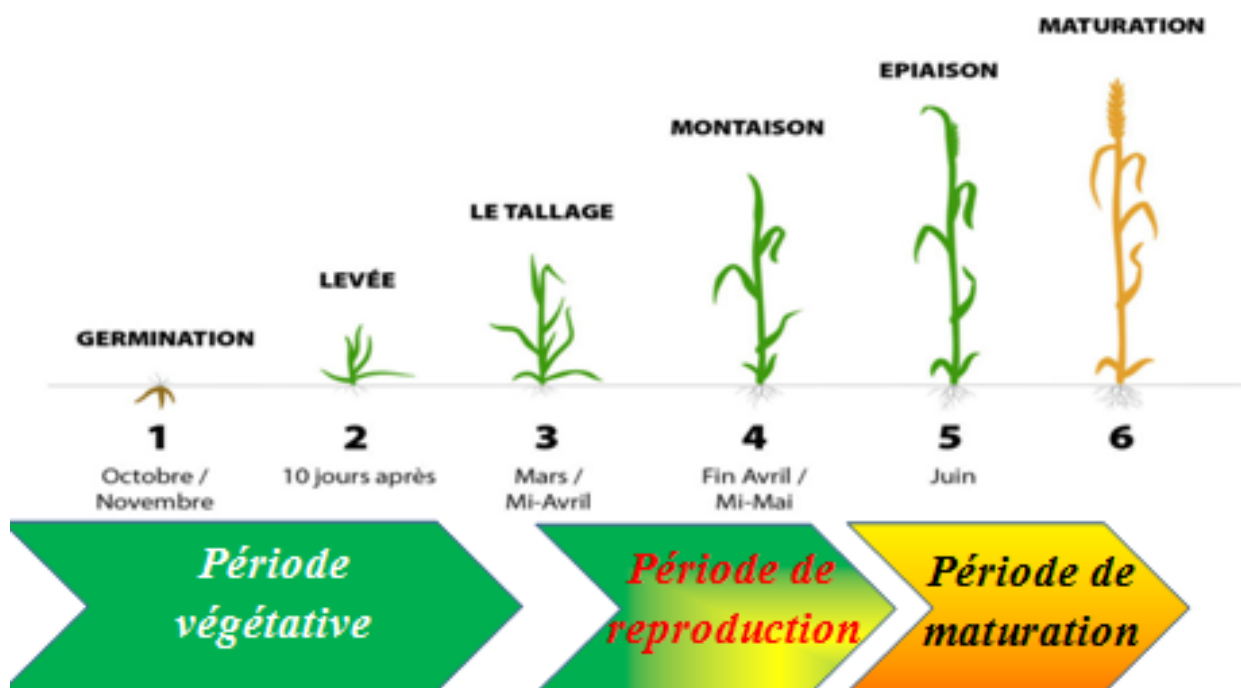


Figure 1. Cycle de développement du blé (Gate et Giban, 2003)

1.1.3 Importance économique du blé

1.1.3.1 Dans le monde

L'histoire de la domestication et de l'utilisation du blé est étroitement liée aux efforts déployés par l'homme pour se protéger de la faim et contrôler son alimentation. Aujourd'hui, le blé est cultivé dans le monde entier sur une plus grande superficie des terres emblavées, parce qu'il a l'avantage de nécessiter moins d'eau pour sa culture que d'autres cultures comparables, tout en étant l'ingrédient principal de l'alimentation humaine. Il est devenu l'aliment de base des principales civilisations d'Europe, d'Asie occidentale et d'Afrique du Nord. Sa production dans le monde a atteint 808 millions de tonnes en 2022, dépassant celle de toutes les autres cultures, y compris le riz et la pomme de terre (FAOSTAT, 2024).

La guerre en Ukraine, les changements de politique commerciale dans plusieurs pays et les prix internationaux élevés ont largement influencé les perspectives du marché du blé. Les prix internationaux du blé sont à des niveaux qui n'ont pas été atteints depuis 2008, suite à une saison où les disponibilités mondiales ont été limitées en raison de la réduction des récoltes

dans certains grands pays exportateurs et de la suspension des exportations par d'autres, notamment l'Ukraine (un exportateur important) et l'Inde (un exportateur émergent) (**Devadoss et Ridley, 2024**).

1.1.3.2 En Algérie

Les céréales constituent l'aliment majeur du peuple algérien, avec le blé comme l'ingrédient principal dans la préparation des pâtes alimentaires, du couscous, des gâteaux et du pain. Durant la période 2010-2019, la superficie dédiée à la culture des céréales représentait en moyenne annuelle près de 32% de la Superficie Agricole Utile (SAU). Cette superficie répartie entre trois zones agro-écologiques à savoir : les plaines littorales, le sub-littoral et les hauts plateaux, et elle varie entre 2,8 et 3,2 millions d'hectares. Parmi ces cultures, le blé dur occupe 47% de la surface avec un rendement de 17,93 qx/ha, suivi par l'orge et le blé tendre respectivement avec 33% et 17%. L'avoine, quant à elle, ne représente que 3% de la surface dédiée aux céréales (**ONS, 2019**).

Malgré la stratégie du gouvernement algérien qui vise à contrôler les importations en réduisant les dépenses et encourageant la production de blé, l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (OAIC) n'a pu collecter que 13 millions de quintaux (1,3 million de tonnes métriques) de blé. Les factures d'importation du blé tendre et dur ont atteint environ 2,25 milliards \$ en 2021, soit le quart de la facture totale des importations alimentaires (**USDA, 2022**).

1.1.4 Etat phytosanitaire du blé en Algérie

Le blé peut être affecté par plusieurs complexes d'agents pathogènes (champignons, virus, bactéries et nématodes) ainsi que par des ravageurs (insectes et pucerons). Ces bioagresseurs sont capables d'attaquer le blé à tous les stades de son développement et pendant la conservation.

La conservation post-récolte est le seul moyen d'assurer le lien entre la récolte de l'année et la consommation permanente. Cependant, la prolifération des champignons et d'autres agents sur les plants ou sur les produits récoltés, conservés généralement dans des conditions inadéquates, engendre une altération de la qualité du grain. Cela se répercute sur la valeur nutritionnelle des produits dérivés et favorise la production de mycotoxines (**ONS, 2024**).

Les agents fongiques qui attaquent le blé sont très dommageables et peuvent engendrer des pertes annuelles comprise entre 15 et 20% à l'échelle mondiale (**Figueora et al., 2017**). Ces maladies sont répertoriées selon les parties qu'elles affectent : les maladies qui causent des symptômes localisés sur le feuillage, celles qui causent des pourritures sur le collet et les racines, et celles qui causent des symptômes sur les épis (**Aouali et Douici-Khalfi, 2009**).

Les rouilles, les septorioses, l'oïdium et les Helminthosporioses sont les principales maladies qui touchent le feuillage du blé. En Algérie, les rouilles détectées sont présentées par deux espèces : *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* Hend, qui cause la rouille brune, et *Puccinia striiformis* Westend, responsable de la rouille jaune (**Aouali et Douici-Khalfi, 2009**). Selon **Meamiche Neddaf et al. (2016)**, la tache septorienne causée par *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt., (anamorph : *Zymoseptoria tritici* (Roberge ex Desm.) Quaedvl. & Crous est largement répandue dans toute la région nord du pays.

Parmi les autres maladies fongiques touchant le feuillage, la tache auréolée «tan spot», causée par *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler (Anamorph: *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoem.), est l'une des plus répandues, affectant le blé dans le monde. En Algérie, cette maladie est largement présente sur le blé dur et le blé tendre (**Lamari et al., 2010 ; Ouaar et al., 2021**). Par ailleurs, l'oïdium sur blé causé par *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* et ayant un impact persistant sur sa production (**Tünde et al., 2015**), est rencontré annuellement sur blé en Algérie (**Aouali et Douici-Khalfi, 2009**).

Les charbons, les caries et la fusariose de l'épi sont les maladies les plus connues pour leurs dégâts sur les épis du blé. Ces maladies causent des pertes redoutables sur la production céréalière en Algérie et dans le monde (**Aouali et Douici-Khalfi, 2009; Figueora et al., 2017**).

En effet, la fusariose de l'épi du blé a fait objet de plusieurs travaux en Algérie qui ont montré son occurrence (**Touati- Hattab et al., 2016; Laraba et al., 2017a ; Abdallah-Nekache et al., 2019**), sa distribution (**Laraba et al., 2017a ; Abdallah-Nekache et al., 2019**) ainsi que les principales espèces pathogènes qui lui sont associées, leur agressivité et leur pouvoir toxigène (**Abdallah-Nekache et al., 2019; 2021**).

Les maladies bactériennes (les glumes noires, la strie bactérienne) affectant le blé, ainsi que plusieurs bactéries phytopathogènes *Rathayibacter tritici*, *Erwinia rhaonhici*, *Pseudomonas viridiflava*, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* ont été signalées en Algérie (**Djebari, 2005 ; Khenfous-Djebari et al., 2019; Khenfous-Djebari, 2021**). **Khenfous -**

Djebari (2021) a signalé pour la première fois la présence des souches de *Xanthomonas translucens* qui causent des symptômes atypiques sur blé en Algérie.

Boubetra et al. (2023) ont rapporté la présence de la jaunisse nanisante de l'orge, la mosaïque en strie de l'épi et le virus de la mosaïque de l'orge. Beaucoup de travaux ont également fait l'objet des nématodes affectant le blé en Algérie (nématodes à kystes *Heterodera* spp.) (**Hadadi et al. 2013 ; Smaha et al., 2018 ; Mehline et al. 2020**). Ces maladies peuvent occasionner des pertes considérables dans des conditions environnementales favorables pour les pathogènes, ainsi que lorsque les variétés utilisées sont sensibles.

1.2 Aperçu sur la pourriture du collet

1.2.1 Distribution de la maladie et des agents pathogènes responsables

La pourriture du collet est mondialement répandue sur les cultures céréalières, principalement dans les zones caractérisées par la sécheresse et les hautes températures (**Siou, 2013 ; Scherm et al., 2013**). Cette maladie a été rapportée dans plusieurs régions du monde, notamment en Australie, dans le Nord-Ouest du pacifique des Etats-Unis d'Amérique (USA), en Afrique du Nord (Algérie, Maroc et Tunisie), en Afrique du Sud, en Moyen-Orient (Turquie, Syrie, Irak et Iran), en Chine et dans le sud de l'Italie (**Smiley et al., 2005 ; Murray et Brennan, 2009 ; Chekali et al., 2013 ; Laraba et al., 2017a ; Alahmad et al., 2018 ; Abdallah-Nekache et al., 2019 ; Matny et al., 2019 ; Qosta et al., 2019**).

La pourriture du collet est principalement causée par des espèces du genre *Fusarium*, dont les plus importantes sont *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc., *F. pseudograminearum* Aoki et O'Donnell (teleomorphe : *Gibberella coronicola*) et *F. graminearum* Schwabe (teleomorphe: *G. zaeae* (Schwein.) Petch) (**Scherm et al., 2013 ; Beccari et al., 2018**), *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I. C. Hallett (**Smiley et Patterson, 1996 ; Burgess et al., 2001**).

En Algérie, une enquête réalisée ces dernières années, a montré que *F. culmorum* est l'espèce dominante associée à la pourriture du collet sur blé, avec un pourcentage de 68%. Toutefois, d'autres espèces étaient également impliquées dans la pourriture du collet sur blé, comme *F. pseudograminearum* (10%), *F. verticillioides* (3%), *F. avenaceum* (2%), *M. majus* (13%) et *M. nivale* (4%) (**Abdallah-Nekache et al., 2019**). Récemment, une nouvelle espèce *Fusarium algeriense* Laraba & O'Donnell a été décrite pour la première fois comme agent de la

pourriture du collet sur blé en Algérie (**Laraba et al., 2017b**). *F. culmorum* a été signalé comme l'espèce dominante en Turquie, en Tunisie, dans le sud de l'Italie et en Irak (**Tunali et al., 2008 ; Chekali et al., 2013 ; Chekali et al., 2016 ; Shikur-Gebremariam et al., 2017 ; Qosta et al., 2019 ; Matny et al., 2019**). *F. culmorum* est également parmi les principaux agents causaux de la maladie aux États-Unis, en Australie, en Syrie et en Iran (**Cook, 1980 ; Backhouse et al., 2004 ; Smiley, 2005 ; El-Khalifeh et al., 2006 ; Eslahi, 2012**).

1.2.2 Taxonomie de *F. culmorum*

L'espèce *F. culmorum* appartient au règne Fungi; Phylum: *Ascomycota*; sous-Phylum: *Pezizomycotina*; Classe: *Sordariomycetes*; sous-classe: *Hypocreomycetidae*; ordre: *Hypocreales*; Famille *Nectriaceae*; Genre: *Fusarium*. Ce pathogène peut attaquer toutes les céréales, particulièrement le blé dur, le blé tendre, l'orge et le maïs (**Scherm et al., 2013**).

1.2.3 Développement de la maladie et symptomatologie

La pourriture du collet est une maladie transmise par le sol et par les semences contaminées par le pathogène. L'agent causal infecte la racine, le collet et la base de la plante. Les semences infectées pourrissent ou les plantules meurent avant même leur levée (**Fig.2**). Lorsque la graine germe, le champignon pénètre par les lésions qui se forment pendant l'émergence de la racine primaire, puis progresse systématiquement à travers les apoplastes et les symplastes vers la tige et les autres organes. Les symptômes les plus courants sont ceux initialement observés sur l'entre-nœud de la sous-couronne. Ce sont de petites lésions nécrotiques brunes de forme ovale qui, au fur et à mesure que la plante mûrit, peuvent fusionner pour englober l'ensemble de l'entre-nœud de la sous-couronne. La nécrose peut s'étendre vers le haut dans la couronne de la plante, englobant la base des feuilles et des talles. En cas d'attaque sévère renforcée par des conditions climatiques favorables, la production d'épis blanchâtres prématurés ou bien la mort des plants, avant l'épiaison, peut survenir dans le temps (**Mathre et al., 2003 ; Smiley et al., 2009 ; Alexander et al., 2011 ; Saremi et al., 2011 ; Scherm et al., 2013**).

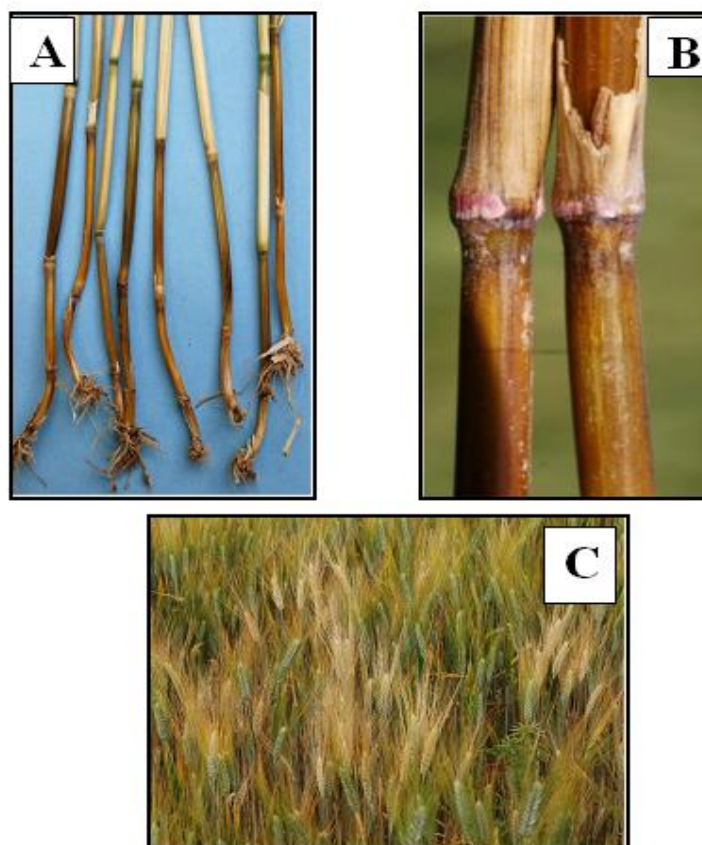


Figure 2. Symptômes de la pourriture du collet sur le blé. A: brunissement sur la base de la tige; B: coloration rose-rougeâtre sur les nœuds de la base de la tige. C: présence des épis blancs (dessèchement avant maturité) (Scherm *et al.*, 2013).

1.2.4 Les facteurs de pathogenèse chez les agents pathogènes associés à la pourriture du collet

1.2.4.1 Les enzymes dégradant la paroi cellulaire (CWDEs)

Le rôle des enzymes impliquées dans la dégradation des parois cellulaires (CWDEs) en tant que facteurs de virulence chez *F. culmorum* a été largement étudié (Cooper *et al.*, 1988 ; Miedaner *et al.*, 1997 ; Hestbjerg *et al.*, 2002). En effet, des différences dans l'intensité de la maladie et la colonisation des tissus entre les isolats pathogènes et non pathogènes de *F. culmorum* ont été liées à la différence dans l'efficacité des enzymes impliquées dans la dégradation des parois cellulaires CWDE (Jaroszuk-Scisel et Kurek, 2012).

1.2.4.2 Les Mycotoxines

Le rôle du désoxynivalénol (DON) (trichothécène) dans la virulence des agents pathogènes associés à la pourriture du collet a été rapporté chez *F. pseudograminearum* par **Kazan et Gardiner (2018)**. Ces mêmes auteurs ont rapporté l'existence, dans certaines situations, d'une relation entre l'agressivité des souches du pathogène et l'accumulation de mycotoxines. Les travaux entrepris ont également montré que le DON avait un rôle dans l'invasion des tissus de l'hôte par le pathogène en agissant par l'inhibition des mécanismes de défense des plants de blé, en inhibant des protéines essentielles dans la réponse immunitaire.

1.2.5 Effet de la maladie sur l'état physiologique et biochimique de la plante

1.2.5.1 Effet sur la translocation de l'eau et des éléments nutritifs

Le rôle principal des racines est d'absorber l'eau et les éléments nutritifs trouvés dans le sol. Ces éléments sont transportés par le xylème vers les autres parties de la plante pour assurer les différents processus physiologiques, comme la croissance végétative, la fructification, la photosynthèse. La destruction totale ou partielle du xylème des racines séminales par le pathogène affecte directement l'absorption de ces éléments. En traversant le xylème, le pathogène interfère avec la translocation des substances organiques et des nutriments vers le haut, ce qui affecte différents paramètres physiologiques et morphologiques de la plante (**Fitt et Hornby, 1978 ; Sharma, 2004**).

1.2.5.2 Effet sur la photosynthèse et la translocation des nutriments résultants

L'infection par l'agent pathogène peut entraîner une inhibition complète de l'activité métabolique, ainsi qu'une perturbation prononcée des performances photosynthétiques. Ceci est traduit par une accumulation des produits photosynthétiques et nutriments inorganiques dans les zones infectées, caractérisées par une photosynthèse réduite et une respiration accrue (**Yang et al., 2016**). Cependant, la synthèse de l'amidon augmente temporairement dans les zones infectées, ce qui indique une translocation d'éléments nutritifs organiques provenant de zones non infectées des feuilles vers les zones infectées. De plus, les toxines produites par le pathogène peuvent aussi réduire la photosynthèse en inhibant l'activité de certaines enzymes impliquées dans ce processus. Les stomates restent partiellement fermés, la chlorophylle est réduite et la photosynthèse s'arrête avant même que la plante ne se flétrisse (**Sharma, 2004**).

1.2.5.3 Effet sur la respiration

Lorsque les plantes sont infectées par des agents pathogènes, le taux de respiration augmente. Cette augmentation est due à une consommation accrue des glucides par les tissus infectés, elle est plus importante que celle des tissus sains. Elle survient peu de temps après l'infection, probablement au moment de l'apparition des symptômes visibles, et continue d'augmenter pendant la croissance et la sporulation de l'agent pathogène. Par la suite, le niveau de respiration revient à la normale ou même devient inférieur à celui des plantes saines. Ce processus se déroule plus rapidement chez les variétés résistantes, qui nécessitent de grandes quantités d'énergie pour une réaction rapide ou une mobilisation des mécanismes de défense des cellules. Toutefois, chez ces mêmes variétés, la respiration décline aussi rapidement après avoir atteint son maximum. En revanche, chez les variétés sensibles où aucun mécanisme de défense ne peut être rapidement mobilisé contre un agent pathogène spécifique, la respiration augmente lentement après l'inoculation mais continue d'augmenter et reste à un niveau élevé pendant une période beaucoup plus longue (Agrios, 2005 ; Moore *et al.*, 2020).

Plusieurs changements dans le métabolisme de la plante malade accompagnent l'augmentation de la respiration après infection. En effet, l'activité ou la concentration de plusieurs enzymes des voies respiratoires semble être accrue ainsi que l'accumulation et l'oxydation de composés phénoliques, dont beaucoup sont associés (Agrios, 2005 ; Li *et al.*, 2020).

1.2.6 Les moyens de lutte

La pourriture du collet est causée par des agents pathogènes transmis par le sol et la semence, elle est donc difficile à combattre et plusieurs méthodes sont recommandées :

1.2.6.1 Les pratiques culturales

D'après McMullen *et al.* (2012), les stratégies les plus importantes pour contrôler la pourriture du collet du blé consistent à limiter voire éviter l'exposition des plants aux spores. Pour cela, l'utilisation de plantes non-hôtes dans le système de rotation des cultures peut naturellement minimiser la présence de l'agent pathogène dans le sol. Malheureusement, cette méthode de lutte peut avoir moins d'effets sur *F. culmorum*, car les chlamydospores peuvent résister plusieurs années dans le sol par rapport au mycélium dans le chaume (Smiley, 2009). L'amendement du sol par le biochar ou le compost présente une grande opportunité pour dégrader ou diminuer le pouvoir infectieux des chlamydospores et d'inhiber le développement

de *Fusarium*. Cette protection est expliquée par la stimulation des défenses naturelles des plantes et/ou par la stimulation de la microflore et de son activité enzymatique dans le sol (Bhattacharyya *et al.*, 2005 ; Pérez-Piqueres *et al.*, 2006 ; Akhter *et al.*, 2016).

1.2.6.2 La lutte chimique

Le traitement des semences à l'aide d'un fongicide systémique permet de protéger la culture du blé de la maladie transmise par les graines (Regnault et Coord, 2005). Le difenoconazole–mefenoxam, le thiophanate-méthyle, le tébuconazole et le fludioxonil à-cyclodextrin sont couramment utilisés pour réduire l'incidence de la pourriture du collet (Balmas *et al.*, 2006 ; Hellin *et al.*, 2017; Na *et al.*, 2018; Shah *et al.*, 2018). Toutefois, l'efficacité de la lutte chimique est limitée aux premiers stades du cycle de croissance du blé, car les traitements fongicides des semences ne conservent pas leur efficacité bien au-delà du stade plantule. Cela peut être dû à différents facteurs, notamment la dégradation rapide de la matière active par la microflore du sol (Balmas *et al.*, 2006).

1.2.6.3 La lutte biologique

La lutte biologique avec des antagonistes naturels s'appuie sur différents mécanismes, à savoir le mycoparasitisme, la compétition, l'antibiose et la résistance induite. Cette approche est efficace et respectueuse de l'environnement dans la gestion des maladies causées par les espèces du genre *Fusarium*.

Le prétraitement de la semence avec des bactéries et des champignons rhizosphériques est l'une des stratégies de lutte biologique qui s'avère compatible avec le système de culture du blé (Paulitz *et al.*, 2009). De plus, l'application de stimulateurs de défense comme produits contenant des matières actives extraites d'agents de lutte biologique vise à déclencher les mécanismes de défense naturelle de la plante (Mustapha, 2015).

Ce qui est important dans la stratégie de lutte biologique à l'égard de *F. culmorum* est de minimiser la quantité de l'inoculum, plus particulièrement le nombre de chlamydospores qui peuvent persister dans le sol plusieurs années et infecter les cultures dès que les conditions deviennent favorables. Cependant, certaines études se sont basées sur la recherche des antagonistes de ce type de conidies. L'utilisation de trois espèces de *Pythium* (*P. acanthophoron*, *P. oligandrum* et *P. periplocum*) *in vitro* a entraîné une diminution importante

de la sporulation de *F. culmorum* en dégradant le cytoplasme des macroconidies et des chlamydospores du pathogène (**Davanlou et al., 1999**).

L'utilisation des éliciteurs de nature biologique s'est avérée être une alternative précieuse aux pesticides chimiques dans la lutte contre les maladies des plantes. Ces produits ont la capacité d'induire une résistance localisée ou systémique chez un grand nombre de pathosystème plante - pathogène. Les travaux de **Shcherbakova et al. (2018)** ont montré que le prétraitement du blé par un métabolite purifié d'une souche de *F. sambucinum*, induit la résistance au flétrissement de la tomate et a diminué de 37 à 50 % la sévérité de la pourriture racinaire du blé causée par *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. gibbosum* et *Bipolaris sorokiniana*.

Par ailleurs, l'application du jasmonate de méthyle ou d'acibenzolar-S-méthyle a également prouvé son efficacité dans le renforcement de la résistance et la retardation du développement des symptômes de la pourriture du collet causée par *F. pseudograminearum* (**Desmond et al., 2006**). De même, le traitement des semences de blé par l'acide salicylique ou par ses analogues synthétiques a montré son efficacité comme protecteur de la plante contre la pourriture du collet. De plus, **Lastochkina et al. (2020)** ont signalé que le traitement de la semence du blé avec l'acide salicylique en combinaison ou non avec *Bacillus subtilis* a diminué jusqu'à 80 % les symptômes de la pourriture du collet.

1.2.6.4 Utilisation des variétés tolérantes

Selon les auteurs, aucun cultivar de blé disponible ne présente une immunité totale à l'égard de la pourriture du collet, bien que des différences de sensibilité soient observées. Les sources de résistance à cette maladie demeurent limitées, et la base génétique de la résistance reste encore mal comprise (**McMullen et al., 2008 ; Alahmad et al., 2018 ; Kazan et Gardiner, 2018**).

La capacité d'un cultivar à tolérer une infection pathogénique plus que d'autres de la même espèce végétale a une relation avec l'expression de certains gènes spécifiques. Ces gènes induits comprennent principalement ceux ayant des fonctions défensives, tels que les gènes codant pour les protéines PR (Pathogenesis-Related Genes), ainsi que ceux liés aux stress oxydatif, aux molécules de signalisation et aux protéines impliquées dans le métabolisme primaire et secondaire (**Adhikari et al., 2007**). Ainsi, l'amélioration génétique d'une variété de blé est donc une stratégie importante dans la lutte contre une large gamme de pathogènes.

Desmond *et al.* (2008) ont réalisé une analyse détaillée de l'expression de certains gènes induits par le *Fusarium pseudograminearum* en utilisant la RT-PCR quantitative en temps réel sur deux cultivars de blé : Kennedy (très sensible à la pourriture du collet) et Sunco (tolérant à la maladie). Leur étude a révélé que la différence de la résistance entre ces deux cultivars est due à l'induction précoce d'un grand nombre des PR chez le cultivar Sunco.

1.2.6.5 La lutte intégrée

L'absence de variétés de blé complètement immune, le manque des fongicides économiques et efficaces, ainsi que la difficulté d'éradiquer les formes résistantes des pathogènes telluriques nécessitent l'adoption d'une stratégie de lutte efficace, économique et respectueuse de l'environnement. L'intégration de différents moyens de lutte s'est avérée être l'approche la plus durable pour gérer ces maladies. Cependant, ce concept requiert une gestion et une planification rigoureuses afin de sélectionner les moyens de lutte les plus appropriés et de déterminer les conditions optimales pour leurs application (**Paulitz *et al.*, 2002 ; Moya et Jacobsen, 2015**).

1.2.7 Mécanismes de défense de la plante à la pourriture du collet

Les mécanismes impliqués dans la défense des plantes contre l'agent pathogène et le développement de la maladie sont classés en deux catégories :

1.2.7.1 Les mécanismes de défenses constitutives (passives)

Pour accéder aux nutriments ou à d'autres substances disponibles dans les cellules hôtes, les agents pathogènes doivent d'abord envahir les barrières naturelles des plantes saines. Ces dernières agissent comme un rempart naturel contre un large éventail d'agresseurs. Les barrières naturelles peuvent être structurales (par exemple, rhizoderme des racines, la paroi cellulaire) ou chimiques (tels que les composés inhibiteurs ou l'absence de composés stimulateurs nécessaires au développement de l'agent pathogène) (**Mahawer *et al.*, 2022**). En effet, les microbes incapables de développer des stratégies adaptées pour contourner la paroi cellulaire des plantes hôtes restent soit non-pathogènes, soit mal adaptés en tant qu'agents pathogènes (**Kaur *et al.*, 2022**). Parmi les mécanismes permettant aux agents pathogènes de surmonter ces barrières, on peut citer :

1.2.7.1.1 Les barrières structurales

Les barrières structurales, telles que l'architecture des racines avec des épidermes riches en callose, lignine, silice ou subérine, ainsi que la paroi pectocellulosique et les cuticules épidermiques cireuses chez les parties aériennes de la plante, représentent le premier obstacle qu'un agent pathogène rencontre avant son contact avec les parois des cellules épidermiques de la plante où s'effectuera le premier niveau de reconnaissance responsable du devenir de l'interaction (**Kaur et al., 2022**).

La paroi végétale constitue une seconde barrière de la plante. Elle est composée de polymères polysaccharidiques, comme la cellulose, la pectine et l'hémicellulose. Ces polymères sont associés à des composés phénoliques qui vont former des complexes structuraux importants pour la résistance des tissus végétaux (**Dibyajyoti et Parul, 2024**).

1.2.7.1.2 Les substances biochimiques

a. Les phytoanticipines

Les phytoanticipines sont des molécules à faible poids moléculaire, produites naturellement pendant la croissance de la plante. Elles sont stockées dans les cellules végétales sous forme de précurseurs inactifs, mais peuvent être facilement converties en substances antimicrobiennes biologiquement actives par les enzymes végétales en réponse à une attaque par des agents pathogènes (**Gascuel, 2014**). Les phytoanticipines proviennent généralement des voies métaboliques des isoprénoïdes, phénylpropanoïdes, des alcaloïdes ou des acides gras/polykétides (**Pedras et Yaya 2015 ; Oros et Kállai, 2019**).

Chez le blé et certaines espèces de *Poaceae*, on trouve des composés hydroxamiques appelés les benzoxazolinones. La production de ces molécules atteint un pic durant la germination précoce des semis de blé, ce qui suggère qu'elles peuvent contribuer activement à la défense de la plante contre les pathogènes telluriques (**KETTLE et al., 2015**). Cependant, des études récentes ont montré que certaines espèces de *Fusarium*, responsables de la pourriture racinaire et de la fusariose de l'épi comme *F. pseudograminearum*, sont soit insensibles à ces composés, soit capables de surmonter leur activité antimicrobienne (**KETTLE et al., 2015**).

b. Absence chez la plante des nutriments stimulateurs de l'attaque pathogénique

En fonction de la disponibilité des nutriments, les agents pathogènes adoptent différentes stratégies pour coloniser leurs hôtes et en tirer profit (**Urooj et Senthil-Kumar, 2015**). Il est également important de noter que certaines formes de résistance des pathogènes

peuvent dépendre de substances nutritives spécifiques provenant de la plante pour germer. Cela signifie que des éléments tels que les acides aminés ou les sucres peuvent être indispensables pour initier le processus de germination des spores des pathogènes. Ainsi, les plantes qui ne produisent pas ces stimulateurs nutritifs sont considérées comme résistantes par défaut (**Guest et Brown, 2001**).

1.2.7.2 Les mécanismes de défenses inductibles (actives)

Par la pression mécanique, à l'aide de l'appressorium, ou par l'hydrolyse enzymatique, le pathogène est capable de rompre les premières barrières de défense et de coloniser la plante avec succès. Dans ce cas, la plante devient son hôte et « la compatibilité basale » est obtenue. Après la détection et la reconnaissance plus ou moins spécifique d'un agent pathogène, la plante déclenche une résistance à certaines races ou à certaines souches pathogènes (résistance spécifique). Cette résistance est toujours basée sur des mécanismes de défenses actives, qui peuvent être de nature structurelle ou biochimique induits par une infection (**Moerschbacher et Mendgen, 2001**).

1.2.7.2.1 Structurelle

a. Le dépôt de callose (1,3 - β -glucan)

La déposition de callose est l'une des réponses rapides de la plante suite à une attaque fongique ou à une blessure. Il s'agit d'un composant végétal polysaccharidique de haut poids moléculaire. Sa production est due à la glucane-synthase, se produisant dans les papilles ou dans les membranes cellulaires, pour participer à la réparation des dommages physiques (**Millet et al., 2010**).

En général, le dépôt de callose aux sites de pénétration des agents pathogènes contribue à l'immunité innée de la plante. Selon **Jones et Dangl (2006)**, il existe une corrélation entre le dépôt de callose et la résistance du blé au *F. graminearum*, l'agent causal de la fusariose de l'épi. Chez les plantes sensibles, cette molécule de défense peut être dégradée ou sa synthèse peut-être inhibée par des substances spécifiques sécrétées par le pathogène, comme la libération d'acides gras libres polyinsaturés dans le cas de *F. graminearum* (**Ellinger et al., 2014**).

1.2.7.2.2 Biochimique

a. Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) à faible concentration et leur importance dans l'induction de la défense chez la plante

Les espèces réactives d'oxygène à faibles concentrations constituent l'un des premiers mécanismes de défense déclenchés chez la plante en réponse à une infection par un agent pathogène. Ces espèces incluent principalement l'oxygène singulet ($^1\text{O}_2$), l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (OH°). Lors d'une interaction incompatible plante-pathogène, les ROS peuvent induire la sécrétion de certaines substances hormonales responsables de la limitation de propagation du pathogène, par la fermeture des stomates, l'activation de la réponse hypersensible, la destruction des cellules infectées et/ou le renforcement de la paroi cellulaire dans les cellules, entourant des cellules infectées (**Fig.3**).

La reconnaissance du pathogène conduit à l'initiation ou à la maintenance de la signalisation systémique de résistance des plantes. Cela se fait par le déclenchement des cascades de signalisation qui induisent et régulent de nombreux gènes de défense, notamment les protéines chaperons (protéines de choc thermique), les enzymes antioxydants telles que l'ascorbate peroxydase (APX) et les glutathion-S-transférases (GSTs), ainsi que les gènes codant pour les protéines PR. Ces processus contribuent à renforcer la réponse de défense des plantes contre les infections par les pathogènes (**Parent *et al.*, 2008 ; Vlot *et al.*, 2008 ; Zago *et al.*, 2006 ; Kovalchuk, 2011 ; Sharma *et al.*, 2012**)(**Fig.3**).

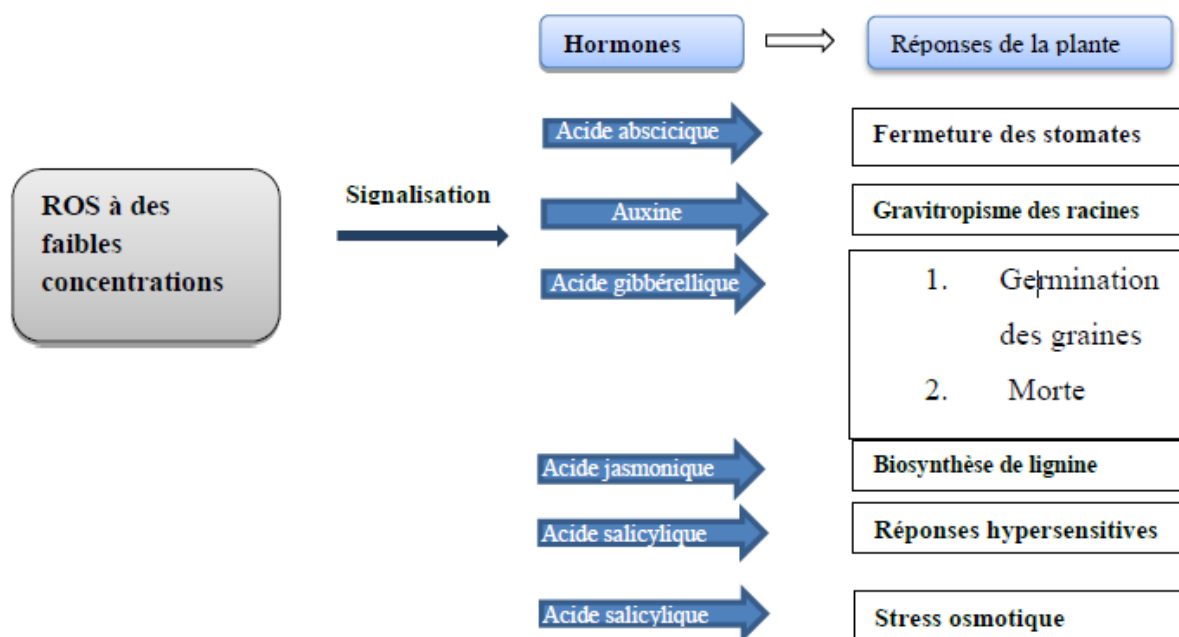


Figure 3. Les espèces réactives de l’oxygène (ROS) à faibles concentrations (H_2O_2 et O_2 , $O^{\bullet-2}$, OH^{\bullet}) et leurs rôles dans la signalisation suite à une exposition de la plante à un stress (Krishnamurthy et Rathinasabapathi, 2013).

b. Les protéines relatives à la pathogénèse (protéines PR)

Les protéines PR constituent un groupe de protéines végétales toxiques pour les agents pathogènes. Elles sont largement distribuées dans les plantes en quantités infimes, mais leur production augmente significativement suite à une attaque par un agent pathogène ou à un stress (Agrios, 2005). Les protéines PR ont été classées, en fonction de la similarité des séquences et de l'activité biologique, en 19 familles, y compris les β -1,3-glucanases (PR-2), les chitinases (PR-3), les protéines analogues à la thaumatine, les peroxydases (PR-9), les thionines, les protéines de transfert de lipides non spécifiques et des protéines de type oxalate-oxydase (Shetty *et al.*, 2009 ; Kaur *et al.*, 2022). Les deux hydrolases végétales PR-2 (β -1, 3 glucanase) et PR-3 (chitinase) sont les protéines les plus importantes qui dégradent les parois des cellules fongiques et peuvent donc inhiber directement la croissance de l’agent pathogène (Kini *et al.*, 2000).

c. Les phytoalexines

Les phytoalexines sont des produits naturels antimicrobiens qui sont produits chez les plantes après une agression par des agents biotiques ou abiotiques. Ces métabolites jouent un

rôle dans la défense de l'hôte. Ils s'accumulent rapidement à des concentrations inhibitrices sur le site du développement de l'agent pathogène (**Pedras et Abdoli, 2017**). Parmi ces métabolites, les composés phénoliques représentent un large groupe de molécules avec une variété de fonctions dans la croissance, le développement et la défense des plantes. Ces composés peuvent être produits et s'accumulent à une vitesse plus rapide après l'infection d'une variété résistante par rapport à une variété sensible d'une plante donnée. Les paramètres qui déterminent l'induction de la synthèse de phytoalexines chez les plantes semblent donc être liés à une perturbation du système métabolique plutôt qu'à la structure ou la nature même de l'éliciteur (**Pedras et Abdoli, 2017**).

Les phytoalexines sont principalement synthétisées par la voie de l'acide shikimique. Cependant, deux autres voies peuvent néanmoins conduire à leur synthèse: la voie de l'acétate-mévalonate et celle de l'acétate-malonate (**Sharma et al., 2022**). D'une manière générale, l'effet antifongique des phytoalexines peut se manifester par l'inhibition de la germination des spores, de l'élongation du tube germinatif ou de la croissance mycélienne (**Mazaro et al., 2013**). Certaines phytoalexines exercent également un effet antibactérien notable (**Gnanamanickam et Patil 1977**). **Cavalcanti et al., (2005)** affirment que le mode d'action des phytoalexines sur les champignons comprend une granulation cytoplasmique, une désorganisation du contenu cellulaire, la rupture de la membrane plasmique et l'inhibition des enzymes fongiques, se traduisant par l'inhibition de la germination des spores et l'allongement du tube germinatif ainsi que la réduction ou l'inhibition de la croissance mycélienne. Si les phytoalexines jouent un rôle indiscutablement important dans la défense chimique des plantes à une agression microbienne, il n'en reste pas moins vrai que l'agent pathogène va tenter de contourner cette barrière chimique de différentes façons. Il peut ainsi, (i) supprimer la synthèse des phytoalexines grâce à des suppresseurs (oligosaccharides ou glycopeptides de la paroi fongique) (**Yamada et al., 1989**); (ii) détoxifier certaines phytoalexines; (iii) et acquisition de la capacité de tolérer des doses toxiques de phytoalexines (**VanEtten et al., 2001**). Les phytoalexines présentent une grande diversité, et plus de 300 types ont été caractérisés parmi différentes classes de composés chimiques tels que les coumarines, les diterpènes, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les composés phénoliques, la lutéolinidine, l'apigénidine et l'apigéninidine (**Calvalcante, 2005**). En effet, les mécanismes de défense des plantes à base de composés phénoliques comprennent des modifications physiques telles que la lignification et la subérisation des parois cellulaires des plantes. Les composés phénoliques les plus rencontrés chez les cultivars de blé qui interviennent

dans la défense à l'égard de la fusariose sont les acides féruliques, p-coumariques, et syringiques (McKeehen *et al.*, 1999 ; Boulenouar, *et al.*, 2011).

d. Les enzymes antioxydantes et leur rôle dans la régénération et l'élimination des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules végétales.

Les principaux ROS sont les radicaux superoxydes (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), les radicaux hydroxyles (OH) et l'oxygène singulet (1O_2). Ils sont essentiellement générés dans chaque organite cellulaire (les chloroplastes, les mitochondries et les peroxysomes). Ces radicaux se transforment spontanément par l'activité de la superoxyde-dismutase (SOD), en H_2O_2 . En effet, plusieurs systèmes enzymatiques sont responsables de la production directe du H_2O_2 au sein de ces organites (Corpas, 2015). Parmi les systèmes fongiques producteurs de ROS, la NADPH oxydase (Nox) est la plus largement caractérisée. Le NADPH Oxydase (Nox) est composée de plusieurs sous-unités et se localise généralement au niveau de la membrane plasmique ou du réticulum endoplasmique. Elle transporte les électrons à travers les membranes en réduisant la molécule d'oxygène en anion superoxyde (O_2^*) en utilisant le NADPH comme donneur d'électrons. Ensuite, la superoxyde-dismutase (SOD) catalyse l' O_2 en H_2O_2 (Fig.4).

L'augmentation rapide des concentrations des ROS liée à la consommation d'oxygène moléculaire est appelée «stress oxydatif», durant lequel l'état redox des cellules est profondément modifié, le rendant toxique pour la plante. Par la suite, la plante peut mobiliser plusieurs systèmes enzymatiques comme la peroxydase (POX), la catalase (CAT), ainsi que des systèmes non enzymatiques tels que l'acide ascorbique (AA), les flavinoides, le glutathion (GSH), les carotenoides (CAR). Ces mécanismes permettent aux cellules d'éliminer les radicaux libres et le H_2O_2 , limitant ainsi le potentiel de dommages oxydatifs (Kotchoni, 2004 ; Corpas *et al.*, 2017).

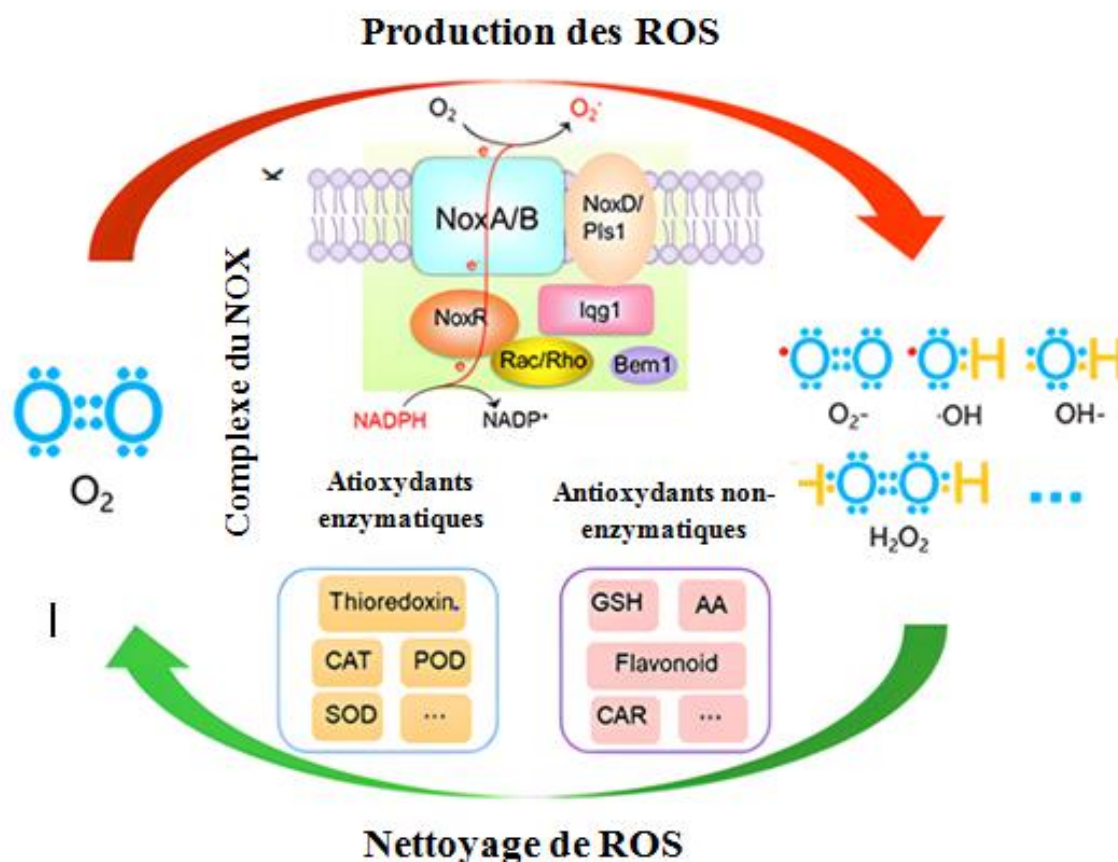


Figure 4. Les systèmes de production et de nettoyage des ROS dans la plante lors d’une attaque pathogénique, NOX (NADPH Oxydase), GSH: glutathione, AA (acide ascorbique), CAR (caroténoïdes) (Zhang *et al.*, 2020).

La catalase est une enzyme clé dans la dégradation du peroxyde d’hydrogène (H_2O_2), elle est principalement localisée dans le peroxydosome où se produit la synthèse du H_2O_2 . Cette enzyme catalyse la dismutation du H_2O_2 , transformant cette molécule qui s’accumule à des niveaux toxiques dans les tissus malades en eau et en oxygène, avant qu’elle ne puisse s’écouler dans d’autres parties de la cellule (Desikan *et al.*, 2004). La dismutation représente donc une défense antioxydante importante dans les cellules photosynthétiques. Par ailleurs, la SOD constitue la première ligne de défense contre les ROS, protégeant les cellules et les tissus de la destruction oxydative (Arias *et al.*, 2011).

e. La réaction d’hypersensibilité (HR)

La réaction d’hypersensibilité est une sorte de défense locale de la plante suite à la première reconnaissance d’un pathogène biotrophe ou héli-biotrophe ou un de ses métabolites,

souvent médiée par des protéines de résistance telle que les NBS-LRR (Nucleotide-Binding Site- Leucine-Rich Repeat). Elle vise à empêcher la pénétration et la propagation du pathogène vers les tissus sains de la plante en induisant une réaction de la mort des cellules qui entoure le site d'infection (mort cellulaire programmée). De plus, la réaction d'hypersensibilité peut également activer d'autres mécanismes de défense dans la plante, renforçant ainsi sa résistance systémique face à de futures infections (**Balint-Kurti, 2019**).

f. L'induction des deux réactions de résistances systémiques : SAR et ISR

Les défenses de la plante à l'égard des agents phytopathogènes ne se limitent pas seulement localement, autour de la zone d'infection ou au niveau de l'organe attaqué (résistance locale), mais elles peuvent s'étendre systématiquement dans tous les tissus sains. Cette généralisation est assurée par la voie de la résistance systémique acquise (SAR) et/ou par la résistance systémique induite (ISR).

i. Induction de la résistance systémique acquise (SAR)

La résistance systémique acquise est stimulée suite à une première attaque par un agent pathogène avirulent. Suite à cette interaction, la plante mémorise l'impact de l'agent pathogène, ce qui lui permet de développer une résistance pour contrer d'éventuelles attaques futures, en empêchant ainsi l'invasion des barrières initiales ou le développement dans les tissus. Cette résistance se caractérise par une accumulation de certaines molécules telles que l'acide salicylique et les protéines liées à la pathogénicité (PR). La résistance conférée par ce phénomène persiste dans le temps et est efficace sur une multitude de plantes et contre un large spectre de pathogènes, y compris les virus, les bactéries, les champignons et les nématodes (**Parh et al., 2008**).

ii. La résistance systémique induite (ISR)

La résistance systémique induite (ISR) est une résistance systémique généralisée à toutes les parties de la plante, qui est naturellement présente mais qui est induite ou bien renforcée par des bactéries et des champignons rhizosphériques (PGPR et PGPF) non pathogènes associés à la plante. Elle peut être différente de celle de la SAR par la nature des éliciteurs et des voies de sa régulation impliquées. Contrairement à la SAR, l'ISR n'implique pas l'accumulation de protéines liées à la pathogénèse ou d'acide salicylique, mais s'appuie sur des voies régulées par le jasmonate et l'éthylène (**Devendra et al., 2007**).

En effet, plusieurs espèces bactériennes (PGPR) ou fongiques (PGPF) ont été testées et elles ont prouvé leur rôle important dans la stimulation des mécanismes de défense systémique de la plante contre les pathogènes. Les espèces de *Trichoderma* sont parmi les PGPF qui ont acquis une grande importance dans des études visant à mettre en évidence leur effet dans l'induction systémique des systèmes immunitaires de différentes plantes contre les agents pathogènes (Devendra *et al.*, 2007).

1.2.8 Expression de la résistance lors de l'interaction plante-agent pathogène (Modèle zig-zag)

Jones et Dangl (2006) ont schématisé le système immunitaire des plantes contre les pathogènes sous forme de modèle dit «zig-zag» (Fig.5). Ce modèle est constitué de quatre étapes :

1.2.8.1 Réaction de défense suite à la reconnaissance du pathogène

Cette première étape consiste à la détection initiale du pathogène qui se manifeste par la reconnaissance extracellulaire des motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMPs) via des récepteurs spécifiques de la plante comme PRRs (Récepteurs de Reconnaissance de Modèles). En réponse à cette détection, la plante déclenche les mécanismes de défense généraux et de faible intensité (PTI). Cela inclut l'accumulation de molécules de défense, comme l'acide salicylique, et l'expression de gènes de défense (Gascuel, 2014).

1.2.8.2 Contournement de la première résistance par les effecteurs de l'agent pathogène

Après la reconnaissance intracellulaire, le pathogène peut évoluer des effecteurs de pathogénicité (ETS) qui peuvent interférer avec la résistance basale de la plante (PTI). Ces effecteurs peuvent cibler les PRRs ou les voies de signalisation internes pour diminuer la réponse immunitaire). La résistance peut de nouveau être contournée, ce qui diminue la défense et aboutit à la sensibilité de l'hôte au pathogène.

1.2.8.3 Activation de la deuxième résistance de la plante

Pendant cette phase, la plante peut activer des nouvelles protéines (R_2) qui sont capables de reconnaître ces nouveaux effecteurs, ce qui conduit à une nouvelle réponse immunitaire, connue sous le nom d'effector-triggered immunity (ETI) qui est généralement plus intense que la PTI (Mangin, 2012).

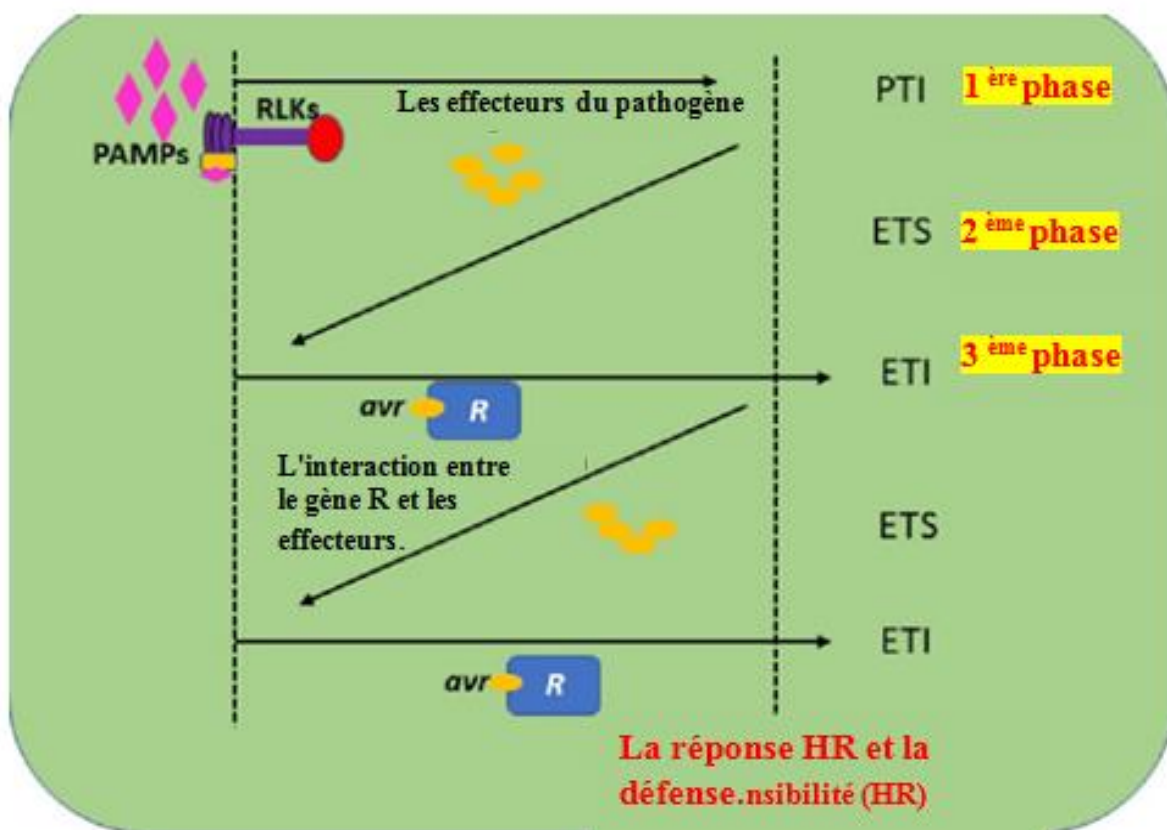


Figure 5. Modèle en zig-zag de Jones et Dangl (2006), légèrement modifié par Qari & Byung-Wook (2020), illustrant la coévolution des mécanismes de défense des plantes et des stratégies d'attaque des agents pathogènes.

2. Généralités et bénéfices de l'agent de lutte biologique *Trichoderma*

Par prise de conscience de la nocivité des pesticides, l'intérêt de l'utilisation des agents de lutte biologique est en augmentation. En effet, les champignons filamenteux, tels que *Trichoderma*, ont attiré l'attention des mycologues en raison de leur action contre divers agents phytopathogènes (Harman et al., 2005, Dubey et al., 2007). Ce genre de champignon est

présent dans le monde entier, sur différents substrats à savoir le sol, la rhizosphère et la matière organique en décomposition. Il se localise à proximité des racines des plantes et les protège contre les maladies, soit par une attaque directe ou par production de certaines substances toxiques pour l'agent pathogène (**Scheepens et Hoever, 2007**). Parmi les effets bénéfiques des espèces du genre *Trichoderma*, nous donnons les exemples cités ci-dessous :

2.1 L'induction des mécanismes de défense chez la plante à l'égard du pathogène

L'utilisation d'agents de lutte biologique, notamment les champignons filamenteux du genre *Trichoderma*, est de plus en plus demandée en raison de la prise de conscience des effets nocifs des pesticides. Les *Trichoderma* ont été remarqués pour leur action efficace contre divers agents phytopathogènes. Ils peuvent protéger les plantes contre les maladies et réduire la dépendance aux pesticides (**Meena et al., 2022**).

Parmi ces agents antagonistes, les espèces du genre *Trichoderma* sont connues pour leurs actions directes sur le pathogène (mycoparasitisme, antibiose et compétition), ou via la plante par l'induction des mécanismes de défense tels que l'ISR pour combattre les agents pathogènes et protéger les plantes (**Harman, 2006 ; Scheepens et Hoever, 2007**).

Ces actions successives impliquent une cascade de signalisation par l'acide salicylique, le jasmonate et l'éthylène, entraînant une induction de résistance répondant à des degrés divers dans toute la plante contre l'attaque du pathogène (**Shoresh et al., 2010 ; Salas-Marina et al., 2011 ; Bisen et al., 2016 ; Singh et al., 2018**). *Trichoderma* peut déclencher une surexpression durable de l'acide salicylique chez la plante même en absence de pathogène. Cependant, lorsqu'une infection par un pathogène se produit, *Trichoderma* entraîne une modulation dans l'expression des gènes liés à l'acide salicylique (SA-dépendant), suivie par la transduction du signal du jasmonate, ce qui entraîne une activation de l'ISR (**Tucci et al., 2011**).

Les espèces de *Trichoderma* ont marqué leur effet dans la modification de la structure et le renforcement de la paroi végétale, comme enregistré dans une étude immunochimique et microscopique réalisée par **Basińska-Barczak et al., (2020)**. Cette étude a noté une modification de la paroi végétale du blé tendre lors de son interaction avec *Trichoderma*, marquée par une accumulation de lignines faiblement méthylestérifiées ainsi que la réorganisation de la pectine et des protéines arabino-galactanes.

2.2 Effet de *Trichoderma* sur la nutrition et la régulation de la croissance et du développement des plantes

Les espèces du genre *Trichoderma* sont parmi les champignons qui forment avec les racines un pont de transfert des minéraux et des éléments nutritifs du sol vers la plante, augmentant ainsi sa capacité nutritionnelle (Yedidia *et al.*, 2000 ; Harman *et al.*, 2005). Ce champignon intervient également dans la solubilisation de certains nutriments insolubles et des éléments non absorbés qui existent dans le sol, tels que le phosphore, le fer, le cuivre, le zinc, et le manganèse (Altomer *et al.*, 1996). Certaines études montrent que les espèces de *Trichoderma* stimulent la croissance et la photosynthèse des plantes, en augmentant ainsi leur vigueur et leur productivité (Harman, 2005 ; Vurro et Gressel, 2006). Divers mécanismes ont été proposés pour expliquer la stimulation de la croissance, notamment la lutte contre les agents pathogènes mineurs, l'amélioration de l'absorption des nutriments, l'augmentation du métabolisme des glucides et de la photosynthèse, ainsi que la synthèse des phytohormones (Alison et Robert, 2014 ; Sivagami *et al.*, 2022).

2.3 La résistance au stress abiotique

Les changements climatiques tels que les sécheresses prolongées, les pluies intenses, les inondations, la salinité et la sodicité des sols, les vagues de chaleur et les dommages causés par le gel sont des facteurs majeurs qui agissent négativement sur la productivité et la qualité de la culture du blé. Par exemple, le stress salin peut provoquer un stress des ROS et un stress osmotique chez les plantes, entraînant une peroxydation accrue des lipides et une inactivation des enzymes antioxydantes qui affectent la morphologie, la physiologie et le métabolisme des plantes (Garg et Manchanda, 2009 ; Yantai Gan et Xu, 2016).

Des niveaux élevés de salinité du sol peuvent également inhiber la germination des graines et la croissance des semis en raison de l'effet combiné d'un potentiel osmotique élevé et d'une toxicité ionique spécifique, et même inhiber le processus de photosynthèse en agissant sur la croissance racinaire, qui est importante pour l'absorption de l'eau et des nutriments du sol (Grieve et Suarez, 1997).

De plus, le déficit accru en eau dans le sol est un autre facteur de stress important qui a un impact sur la productivité des cultures. La sécheresse provoque des changements physico-chimiques dans la plante, tels que la fermeture des stomates, la répression de la croissance et de la photosynthèse, ainsi que l'activation de la respiration. Cependant, la plante peut perdre cette

tolérance dans des degrés élevés de la sécheresse qui qui mettent fin à son cycle de vie. En effet, *Trichoderma* est capable de coloniser les racines et la rhizosphère de la plante, influençant ainsi le processus physiologique (cire épicuticulaire des feuilles et le changement de la morphologie des racines) et physico-chimique du sol (par la production d'exo-polysaccharides et la formation de biofilm). Il en résulte une induction de la tolérance de la plante au stress abiotique, par le biais de plusieurs mécanismes comme l'induction des osmo-protecteurs et des protéines de choc thermique (HSP) dans les cellules végétales (**Grover et al., 2011 ; Zaidi et al., 2013**).

Trichoderma peut retarder de nombreux aspects de la réponse aux stress de la sécheresse, de la salinité et d'autres facteurs stressants en favorisant une croissance accrue des racines et leur prolifération dans le sol pour assurer une meilleure absorption de l'eau et des nutriments (**Bae et al., 2009 ; Masunaka et al., 2011 ; Sharma et al., 2012 ; Wu and Zou, 2017**).

Chapitre II : Effet de *Trichoderma atroviride* (Ta.13) sur la protection du blé à l'égard de la pourriture du collet causée par *F. culmorum*

Introduction

Plusieurs méthodes sont appliquées pour limiter l'impact de la pourriture du collet. Parmi celles-ci, le traitement chimique des semences est un moyen de lutte efficace, mais il se limite généralement aux premiers stades du cycle du blé (**Scherm et al., 2013**). De nombreuses études ont également montré les avantages de la rotation des cultures non hôtes et des jachères dans la gestion de la pourriture du collet (**Chekali et al., 2016**). Cependant, la rotation des cultures peut aussi avoir des limites sur le plan économique (**Kazan et Gardiner 2018**).

L'utilisation des variétés plus tolérantes est un élément clé dans la gestion de la pourriture du collet. Bien que des efforts et des recherches soient entrepris pour identifier les gènes impliqués dans la résistance au FCR, seul un nombre limité de variétés présentant une résistance partielle ont été identifiées, et aucun cultivar de blé n'a été identifié et enregistré avec une résistance ou une immunité totale (**Wallwork et al., 2004 ; Al Ahmad et al., 2018; Kazan et Gardiner, 2018**).

Dans la stratégie de la gestion de la maladie, l'application d'un microorganisme antagoniste fongique ou bactérien par enrobage des graines peut réduire la sévérité de la pourriture du collet. Plusieurs travaux ont rapporté que *Trichoderma harzianum* a réduit la sévérité de la maladie au champ (**Roberti et al., 2000**) et sous serre (**Dendouga et al., 2016**). Une étude récente a également montré que la co-inoculation du blé avec *T. gamsii* A5MH et *T. harzianum* Tr906 réduit l'abondance de l'agent pathogène *F. pseudograminearum* et agit sur la microflore fongique au niveau de la rhizosphère du sol (**Stummer et al. 2022**).

Dans la même optique, des travaux récents ont rapporté que les espèces de *Trichoderma* ont la capacité d'établir une relation avirulente avec la plante et de susciter une défense durable (amorçage) qui renforce et accélère la réponse de défense de la plante (**Monte et Hermosa, 2022**). De plus, il a été démontré qu'en plus d'un contrôle biologique direct, *T. atroviride* était capable d'induire une résistance systémique sans établir de contact avec l'agent pathogène, et que la résistance induite chez les plants de tomates était transmise à la descendance (**Medeiros et al., 2017**). Ainsi, l'utilisation de micro-organismes antagonistes lors du traitement des semences peut permettre une protection par rapport aux fongicides chimiques dont l'efficacité est très limitée au début du cycle de la plante. Cela représente une voie prometteuse pour contrôler les pathogènes du sol difficiles à gérer.

Cependant, il est important de noter que chaque méthode de gestion des maladies présente ses limites, et que la stratégie la plus efficace est la combinaison de plusieurs méthodes de contrôle (produit chimique, biologique, résistance de l'hôte et pratiques culturales) dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée raisonnable.

Les espèces du genre *Trichoderma* sont largement reconnues pour leur capacité à se développer rapidement dans différents types de sols et conditions environnementales, ce qui en fait les agents de biocontrôle les plus utilisés contre les maladies fongiques des plantes, y compris celles affectant le blé (**Blaszczyk et al., 2014**).

L'objectif de ce chapitre est (i) d'évaluer l'effet de l'agent antagoniste *T. atroviride* dans la réduction de l'incidence de la pourriture du collet causée par *F. culmorum* sur le blé et (ii) d'évaluer l'influence de l'effet variétal (variété du blé) sur l'effet de *T. atroviride* dans la protection à l'égard de la pourriture du collet causée par *F. culmorum*.

1. Matériel et méthodes

1.1 Matériel

1.1.1 Matériel végétal

Les semences de deux variétés de blé dur (Waha et Vitron) ainsi que d'une variété de blé tendre (Ain Abid) ont été utilisées dans la présente étude. Ces variétés nous ont été gracieusement fournies par l'Institut Technique des Grandes cultures (ITGC) d'Oued Smar. La variété Vitron a été sélectionnée en raison de sa sensibilité à la fusariose, d'une part, et de son utilisation répandue parmi les variétés de blé dur dans le système de production national, d'autre part. En revanche, les variétés Waha et Ain Abid ont été choisies parmi les sept variétés de blé testées en raison des meilleurs résultats de protection qu'elles ont obtenus dans leur interaction avec *T. atroviride* à l'égard de *F. culmorum* dans notre travail de de magistère (**Belhadj Ben yahia, 2014**).

1.1.2 Matériel fongique

1.1.2.1 L'agent antagoniste

Dans la présente étude, nous avons utilisé l'isolat Ta13 de l'espèce *T. atroviride* provenant de la collection de *Trichoderma* du laboratoire de mycologie du département de botanique (ENSA). Cet isolat obtenu à partir de la semence du blé (**Bouregghda, 2009**), a été

sélectionné en raison de son potentiel antagoniste démontré dans des études antérieures à l'égard de *F. oxysporum* f. sp. *Ciceris* (Foc), l'agent causal du flétrissement du pois chiche (**Bouregghda et Bouznad, 2009**), ainsi qu'à l'égard de la fusariose de l'épi du blé (**Bouregghda et Renane, 2011 ; Belhadj Benyahya, 2014**). Cet isolat est conservé à 4°C dans des tubes inclinés contenant le milieu PDA, au sein du laboratoire de mycologie.

1.1.2.2 L'agent pathogène

L'agent pathogène *F.culmorum* (FC.09.11), utilisé dans la présente étude, a été sélectionné parmi une collection de 21 isolats de *F. culmorum* provenant de différentes régions de la région centre de l'Algérie, en raison de son agressivité élevée sur blé (**Belhaj Benyahya, 2014**). Cet isolat a été obtenu et identifié précédemment, et il est conservé au laboratoire de mycologie de l'ENSA dans des tubes inclinés contenant le milieu PDA, à 4 °C.

1.2 Méthodes

1.2.1 Traitement de la semence du blé par l'agent antagoniste

La technique adoptée pour l'apport de l'agent antagoniste *T. atroviride* est celle décrite par **Harman et al. (1989)**, qui consiste à traiter les graines de blé avec une suspension de spores de *Trichoderma* avant le semis.

1.2.2 Préparation de la suspension des spores de *T. atroviride* (Ta.13)

La suspension de spores a été préparée en prélevant des fragments de 8mm de diamètre de l'isolat Ta13 provenant d'une culture âgée de 7 jours cultivée sur milieu PDA et incubée à une température comprise entre 20 et 22°C sous lumière continue. Ces fragments sont ajoutés à 50 ml d'eau distillée stérile. La concentration en spores a été ajustée à 10^7 - 10^8 spores/ml à l'aide de la cellule de Malassez.

1.2.3 Traitement de la semence du blé par la suspension de spores de *T. atroviride*

La graines des variétés de blé utilisées sont préalablement désinfectées dans de l'hypochlorite de sodium à 2% (NaClO) pendant 5 minutes afin d'éliminer la flore saprophyte, puis elles sont rincées dans 3 bains d'eau distillée stérile (5 minutes chacun) et séchées sur du papier Joseph stérile. Après séchage, les graines de blé sont traitées avec la suspension de spores de *T. atroviride* d'une concentration de 10^7 - 10^8 spores/ml, à raison de 1 ml/4 grammes de blé.

Les graines ainsi traitées sont laissées pendant 2 heures à la température ambiante du laboratoire avant le semis.

1.2.4 Préparation du sol pour le semis

Le sol utilisé pour le semis a été obtenu de la station de l'ENSA et stérilisé à 105°C pendant 24h dans l'étuve. Ce sol stérilisé a été mélangé avec du terreau stérile commercialisé, à raison de 2/3 de terre et 1/3 de terreau, puis et réparti dans des pots en plastique de 1 litre de volume.

1.2.5 Préparation de l'inoculum de *F. culmorum*

L'isolat FC.09.11 de *F. culmorum* a été cultivé dans des boîtes de Petri (9cm Ø) contenant le milieu PDA, et les cultures ont été incubées pendant 7 jours à une température comprise entre 20 et 22°C sous lumière continue.

1.2.6 Le semis et l'inoculation par l'agent pathogène

Les graines de blé, préalablement désinfectées et traitées par l'agent antagoniste, ont été semées dans les pots contenant le mélange décrit au-dessus, à raison de 16 graines par pot. Chaque graine de blé a été mise en contact avec un fragment de mycélium (6 mm de diamètre) prélevé sur une culture âgée de 7 jours de l'agent pathogène. Ensuite, les graines ont été recouvertes par le sol. Le protocole d'inoculation par l'agent pathogène utilisé est celui décrit par **Demirci et Dane (2003)**.

1.2.7 Le dispositif expérimental

L'essai expérimental se compose de quatre traitements :

- Plants témoins non inoculés : Les graines de blé de chaque variété sont semées sans aucune inoculation par l'agent pathogène ou par l'agent antagoniste. Un fragment de 6 mm de diamètre de gélose est placé au contact de chaque graine de blé.
- Plants inoculés par l'agent pathogène seul : chaque graine de blé est mise en contact avec un disque mycélien de 6 mm de diamètre de la culture de *F. culmorum* âgée de 7 jours cultivée sur milieu PDA.

- Plants inoculés par l'agent antagoniste seul : les graines de blé sont traitées avec une suspension de spores de l'agent antagoniste Ta13 comme décrit précédemment, sans être inoculées par l'agent pathogène.
- Plants dont les graines sont co-inoculés par l'agent pathogène et l'antagoniste comme décrits précédemment.

Pour chaque traitement de chaque variété, trois répétitions ont été réalisées, une répétition correspondant à un seul pot dans lequel 16 graines ont été semées.

Les pots sont placés dans une serre où la température varie entre 20 °C et 28°C, l'essai a été réalisé du 20 mars au 19 Avril 2017.

1.2.8 Le suivi des symptômes et le calcul de l'indice de maladie

Après 30 jours de l'inoculation (semis), les plants de blé ont été arrachés puis rincés sous l'eau du robinet pour éliminer les particules du sol collées sur les racines. Par la suite, l'intensité des symptômes a été évaluée selon l'échelle de notation de 0 à 3 degrés de **Grey et Mathre (1984)** légèrement modifiée. L'intensité des symptômes est calculée selon la formule ci-dessous :

$$IM = (0 \times F_0 + 1 \times F_1 + 2 \times F_2 + 3 \times F_3) / N.$$

Où: **IM**: indice de la maladie ; **F**: nombre de plants pour chaque degré dans l'échelle de notation de 0 à 3 ; **N**: nombre total des plants utilisés dans l'essai ; 0: absence des symptômes ; 1: noircissement ou brunissement de 1 à 25% de la surface du collet ; 2: noircissement ou brunissement de 26 à 50% de la surface du collet ; 3: noircissement ou brunissement de plus de 50% de la surface du collet (**Fig.6**).

L'indice de réduction de la maladie par *Trichoderma* se calcule selon la formule :

IM plants traités par Ta13 et inoculés par *F. culmorum* = IM chez les plants co-inoculés - IM des plants inoculés par le pathogène seul



Figure 6. Echelle de notation des symptômes de la pourriture du collet chez le blé. 0: absence symptôme ; 1: noircissement ou brunissement de 1 à 25% de la surface du collet ; 2: noircissement ou brunissement de 26 à 50% de la surface du collet ; 3: noircissement ou brunissement de plus de 50% de la surface du collet (Belhadj Benyahia, 2014).

2. Résultats

Aucun symptôme n'a été observé ni chez les plants témoins ni chez ceux inoculés uniquement avec l'agent antagoniste.

En effet, les symptômes typiques de la pourriture du collet ont été observés chez les plants inoculés par le pathogène, par un brunissement ou noircissement et/ou apparition des nécroses au niveau du collet, des fontes de semis ont également été rapportées. Les premiers symptômes sont apparus vers le 15^{ème} jour chez les plants inoculés seulement par le pathogène,

tandis qu'un retard dans l'apparition des symptômes a été remarqué chez les plants co-inoculés, notamment chez les variétés Waha et Ain Abid.

Après 30 jours du semis, l'arrachage des plants a montré un rétrécissement des racines chez les plants inoculés par l'agent pathogène, ces racines sont apparues très fines et faciles à détacher, contrairement aux racines des plants témoins non inoculés. Concernant la notation des symptômes sur l'échelle de 0 à 3, les plants inoculés uniquement avec l'agent pathogène ont montré que la variété la plus sensible était *Vitron* (blé dur), avec un indice de maladie de 2,64, suivie de la variété *Waha* (blé dur) avec un indice de 1,83. En revanche, la variété la plus tolérante était *Ain Abid* (blé tendre), qui a enregistré un indice de maladie de 0,86 (**Tableau 1**). Cet essai a montré que l'application de l'agent antagoniste Ta.13 de *T. atroviride* a conduit à une réduction significative de l'intensité de la pourriture du collet causée par *F. culmorum* chez le blé, avec une différence significative entre les trois variétés ($p < 0,05$). Le potentiel de réduction de l'indice de maladie le plus élevé conféré par cet isolat a été marqué chez la variété *Waha*, avec 56,69 % suivi par la variété *Ain abid* (41,93 %), tandis que son efficacité avec la variété *Vitron* était très faible, ne dépassant pas 1,15 % (**Tableau 1**).

Tableau 1. Indice et pourcentage de réduction de la maladie chez les variétés de blé témoins et traitées par *T.atroviride* (Ta13).

Variétés	IM plants inoculés par <i>F.culmorum</i>	IM plants traités par Ta13 et inoculés par <i>F.culmorum</i>	% de réduction de l'indice de maladie
Ain Abid	0.86 ^{ab}	0.5 ^a	41.93
Waha	1,83 ^c	0.79 ^{ab}	56.69
Vitron	2.64 ^{de}	2.6 ^d	1.15

Les valeurs avec les mêmes lettres, dans les lignes et les colonnes, ne sont pas significativement différentes selon le test de HSD de Tukey à 5%. **IM**: Indice de maladie.

Discussion

Les tests réalisés *in vivo* ont montré que le traitement des semences de blé avec l'isolat Ta13 (*T. atroviride*), provoque une réduction significative de l'intensité de la maladie causée par *F. culmorum*. La réduction dans l'indice de maladie sur blé a atteint un taux de réduction de 56% chez la variété Waha. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (**Dendouga et al., 2016**), qui ont montré que le traitement de la semence avec *Trichoderma* spp. (*T. harzianum*, *T. viride* et *T. hamatum*) peut réduire l'incidence de la pourriture du collet chez le blé de plus de 70 .

De même, **Toghueo et al., (2016)** ont rapporté que le traitement des semences du haricot avec *T. atroviride* a réduit de 40% l'incidence de la pourriture brune causée par *Fusarium solani* (MART.) SACC.. Les résultats obtenus de cette étude sont aussi comparable à ceux de **Nandini et al., (2017)**, qui ont enregistré un niveau de protection élevé vis-à-vis *Sclerospora graminicola* (Sacc.) J. Schröt. (Le mildiou du millet) avec un taux de réduction de la maladie de 53,60% en utilisant des extraits protéiques bruts totaux de *T. atroviride*.

Dans ce travail, il a été également observé une différence importante dans le pourcentage de réduction de la maladie conférée par l'isolat Ta13 entre les trois variétés de blé utilisées. La variété Waha a enregistré le taux le plus élevé de réduction, atteignant 56,69%, suivie par la variété Ain Abid avec un taux de réduction de 41.93%. En revanche, chez la variété Vitron, un pourcentage de réduction insignifiant a été obtenu (1,15 %). Selon **Perello et al. (2007)**, la performance de *Trichoderma* diffère selon le cultivar testé en raison de variations de tolérance aux conditions microclimatiques pendant la période d'essai. Du point de vue génétique, **Jamali et al. (2009)** ont noté que le cultivar de petit pois influence l'expression du gène *hcnA-lacZ* de l'isolat CHAO de *Pseudomonas fluorescens* MIGULA (responsable de la sécrétion d'une substance antifongique HCN), ce qui entraîne une différence dans la protection contre *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn. entre les différentes variétés de la plante.

Par ailleurs, **Tucci et al., (2011)** ont également suggéré que le génotype de la tomate est un déterminant clé de l'effet des traitements à base de *Trichoderma* sur la résistance des plants au *Botrytis cinerea* PERS., notamment en ce qui concerne la colonisation de la rhizosphère par l'antagoniste, ce qui peut soutenir la transcription de certains gènes liés à la défense. En effet, cette modulation de l'efficacité de *Trichoderma* pour diminuer l'incidence de la pourriture du

collet peut être liée à la capacité des récepteurs et des gènes de résistance spécifiques de chaque variété à détecter de faibles niveaux de certaines enzymes sécrétées par *Trichoderma* comme des molécules fongiques étrangères. Par la suite, la plante active rapidement son système de défense avant ou immédiatement après l'attaque (Woo *et al.*, 2006).

Conclusion

Le test *in vivo* visant à évaluer l'efficacité de l'isolat Ta13 dans la réduction de la maladie causée par *F. culmorum* a révélé que l'agent antagoniste a diminué l'incidence de la maladie, avec des pourcentages variant entre 1,15% (pour Vitron), 41,93% (pour Ain Abid) et 56,69% (pour Waha).

Les résultats obtenus ont montré également l'effet génotype sur la performance de l'agent antagoniste, avec une différence significative dans la réponse entre les variétés. Waha était la variété qui a eu le niveau de protection le plus élevé par l'antagoniste. Cette différence pourrait s'expliquer par l'existence d'une interaction génétique entre l'agent antagoniste et le génotype de la plante. Cela souligne la nécessité d'explorer une gamme plus large de variétés de blé dur et de blé tendre utilisées dans le système agricole algérien.

En effet, le taux de réduction le plus élevé (56,69%) est observé chez la variété Waha. Ce résultat est prometteur, car nous soulignons que l'application de cet agent antagoniste est envisagée dans le cadre d'une lutte intégrée combinant différentes pratiques culturales, lutte chimique et génétique.

Chapitre III : Effet de *Trichoderma atroviride* sur les paramètres de croissance des plants de blé et sur la teneur en chlorophylle.

Introduction

Les bactéries et les champignons sont continuellement étudiés et exploités pour leur rôle potentiel dans la croissance et la santé des plantes. Alors que certaines de ces recherches en sont encore au stade préliminaire ou au laboratoire, d'autres font l'objet d'études sous serre et sur le terrain, certaines sont au stade de la commercialisation et d'autres sont déjà disponibles sur le marché (**Droby, 2016**).

De nombreux travaux portent sur les microorganismes stimulateurs de la croissance des plantes cultivées. Parmi eux, les espèces de *Trichoderma* sont actuellement utilisées comme des bio-fertilisants pour améliorer la vigueur et la croissance des plantes. Ces champignons établissent un lien avec les racines, formant un pont de transfert des minéraux et des éléments nutritifs du sol vers la plante, ce qui accroît sa capacité nutritionnelle. Cette interaction favorise une utilisation plus efficace de l'azote, du phosphore et du potassium.

De plus, *Trichoderma* participe à la solubilisation de certains nutriments insolubles et des éléments non absorbables présents dans le sol, tels que le phosphore, le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse. Ces champignons stimulent également la production d'hormones de croissance végétales (**Yedidia et al, 2000 ; Harman et al., 2005 ; Singh et al. 2019**).

L'amélioration de la vigueur de la plante par les agents biologiques est considérée comme l'un des paramètres qui ont un effet sur la tolérance des plantes aux stress biotiques. **Murphy et al. (2003)** ont constaté que l'amélioration de la croissance des plants de tomates, sous l'effet des *Bacillus* spp., entraînait également une protection contre le virus de la mosaïque du concombre (VMC). **Zhang et al. (2004)** ont aussi prouvé qu'il existe une relation entre la diminution de la sévérité de la moisissure bleue chez les plants de tabac traités par les PGPR et la stimulation de la croissance des plants. La même constatation a été rapportée par **Wang et al. (2009)** qui ont utilisé les *Bacillus* spp. à l'égard du virus de la mosaïque du tabac (VMT).

Les résultats obtenus dans le chapitre précédent ont montré que l'isolat Ta.13 de l'espèce *T. atroviride* est doté de la capacité à protéger le blé à l'égard de *F. culmorum* agent causal de la pourriture du collet et que son efficacité est liée à la variété de la plante. Ainsi, nous avons voulu vérifier dans ce chapitre si la variabilité dans la réduction de l'intensité de la maladie a une relation avec la stimulation de certains paramètres physiologiques liés à la résistance du blé, mettant également en évidence l'interaction avec la variété de la plante. Etant donné que *F. culmorum* est un pathogène tellurique, et du moment qu'il colonise les racines du blé, il peut

altérer le métabolisme de la plante par l'assimilation des carbohydrates et des éléments nutritifs essentiels à la synthèse de la chlorophylle de son hôte. Cette altération peut aboutir à une perturbation de la photosynthèse et à l'apparition de lésions et de taches nécrotiques dans les tissus de la plante (Berger *et al.*, 2007).

Dans ce chapitre, nous avons évalué l'effet de *T. atroviride* sur divers paramètres physiologiques des plants de blé, notamment la surface foliaire, l'humidité pondérale, le poids frais, le poids sec et la teneur relative en chlorophylle. Ces plants ont été soumis à l'essai décrit au chapitre III, portant sur l'effet de *Trichoderma* dans la protection du blé contre la pourriture du collet.

1.1 Matériel

Le matériel végétal et fongique sont les mêmes que ceux utilisés dans le chapitre précédent (description détaillée du matériel dans le chapitre III).

1.2 Méthodes

Les différents paramètres analysés dans ce chapitre ont été réalisés sur les plants de blé qui ont fait l'objet de l'étude de l'effet de *Trichoderma* sur la protection du blé à l'égard de la pourriture du collet dans le chapitre III comme mentionné ci-dessus.

Au 12^{ème} jour après le semis, une évaluation du taux d'émergence et de la teneur chlorophylle a été effectuée sans arracher les plants. Par la suite, au 30^{ème} jour, les plants soumis aux différents traitements (témoins, plants inoculés par le pathogène, les plants inoculés par l'antagoniste et les plants co-inoculés par le pathogène et l'antagoniste) ont été arrachés pour évaluer la biomasse et la surface foliaire.

1.2.1 Le taux d'émergence

Le taux d'émergence est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Emergence (\%)} = \frac{\text{Nombre des graines germées dans chaque pot}}{\text{Le nombre total des graines semées dans chaque po}} * 100$$

1.2.2 Mesure de la teneur relative en chlorophylle

Pour la mesure de la teneur en chlorophylle des plants de blé des différents traitements, nous avons utilisé le chlorophyllemètre Minolta SPAD 502 (Spectrum Technology Inc., IL,

USA) (**Fig.8**), qui a été gracieusement fourni par Institut National de la Recherche Agronomique (INRAA). Nous avons opté pour le chlorophyllemètre Minolta SPAD 502 afin de contourner les limitations de la méthode traditionnelle de mesure de la teneur en chlorophylle, qui est coûteuse, destructive pour la plante et consomme beaucoup de temps. Pour cela, cet appareil a été fabriqué pour pallier à ces contraintes (Manetas *et al.* 1998). En effet, des centaines d'études publiées antérieurement ont utilisé cet appareil dans la littérature scientifique et ont approuvé sa fiabilité dans l'estimation de la teneur en chlorophylle chez les plantes (Shibaeva *et al.*, 2020 ; Almansoori *et al.*, 2021; Villegas-Velázquez *et al.*, 2022). Le principe du SPAD-502 est basé sur la mesure de la transmission des rayonnements rouge (650 nm) et infrarouge (940 nm) à travers la feuille, avec un calcul par un microprocesseur pour obtenir une valeur relative de chlorophylle en mètre SPAD dans la feuille (Minolta, 1989 ; Uddling *et al.*, 2007). Les mesures ont été effectuées sur les feuilles étendards du blé sans les détacher. Après la calibration de l'appareil, trois mesures ont été prises par feuille pour avoir une moyenne, avec une feuille choisie par pot représentant une répétition.

1.2.3 Mesure de la biomasse et de la surface foliaire

Après l'arrachage des plants, les racines de l'ensemble des plants de chaque pot sont rincées sous l'eau du robinet afin d'éliminer toutes les particules du sol, comme décrit précédemment (Chapitre II). Les plants sont ensuite pesés pour mesurer leur poids frais. Pour la mesure de la surface foliaire, un plant est sélectionné au hasard à partir de chaque répétition d'un traitement (03 plants pour chaque traitement, un plant est considéré comme étant une répétition). La surface foliaire est estimée à l'aide d'un planimètre sur la feuille étendard après sa séparation du collet selon la technique de Barker (1968). Les plants de chaque pot sont placés dans des sacs en papier et séchés dans une étuve pendant 48 heures à 60°C afin de peser leur poids sec et de mesurer le rapport entre le taux d'humidité et le taux de la matière sèche (Humidité pondérale).

Le calcul du taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \times 100$$

Le taux de matière sèche est calculé selon la formule suivante :

$$MS\% = \frac{P_2}{P_1} \times 100$$

Le calcul de l'humidité pondérale est calculé selon la formule suivante

$$Hp = \frac{H\%}{MS\%}$$

H% : le taux d'humidité

MS% : le taux de matière sèche

P₁ : Le poids en gramme de l'échantillon avant la déshydratation (poids frais).

P₂ : Le poids en gramme de l'échantillon après la déshydratation (poids sec).

Hp : l'humidité pondérale.

Les analyses statistiques pour chaque paramètre de croissance ont été réalisées à partir de 3 répétitions, en comparant les données quantitatives par le test des comparaisons multiples (ANOVA) du logiciel STATISTICA version 6. La différence entre les comparaisons binaires a été déterminée selon le test de Tukey ($p \leq 0,05$).

2 Résultats

L'analyse de la variance des pourcentages d'émergence, de la teneur en chlorophylle, des poids frais et secs, de la plante en entier (plante entière: racines, tiges et feuilles), des surfaces foliaires, ainsi que le rapport entre le taux d'humidité et le taux de matière sèche a révélé des différences significatives entre les traitements pour chaque variété étudiée, entre les variétés pour chaque traitement, ainsi que dans l'interaction des deux facteurs (effet du traitement et effet de la variété). Les moyennes de chaque paramètre ont été comparées à l'aide du test HSD de Tukey ($P < 0,05$).

2.1 Le taux d'émergence

Au 12^{me} jour après le semis, le taux d'émergence des graines a été quantifié, mettant en évidence une variabilité notable entre les différents traitements. Cette variabilité était particulièrement marquée chez les plants inoculés avec le pathogène. *Fusarium culmorum* a significativement réduit le taux d'émergence des semences non traitées avec Ta.13 dans les trois variétés étudiées ($p < 0,001$). Les variétés Vitron et Waha ont montré une forte réduction du taux d'émergence, respectivement de -77% et -59%, tandis que la variété Ain Abid a enregistré une diminution moindre, de -33% (**Fig.7**).

Le traitement des semences avec Ta.13 seul a montré les taux d'émergence les plus élevés parmi les trois variétés, comparé à tous les autres traitements, y compris le témoin non inoculé. Le taux d'émergence le plus élevé a été observé chez la variété Ain Abid (33%), tandis que le plus faible a été enregistré chez la variété Vitron (10%) (**Fig.8**).

Pour évaluer l'effet de *T. atroviride* sur le taux d'émergence des semences de blé infectées par *F. culmorum*, nous avons déterminé le pourcentage de variation de leur taux d'émergence par rapport aux plants inoculés uniquement avec le pathogène. Les résultats ont montré que *Trichoderma* a significativement amélioré le taux d'émergence des graines, avec des différences très marquées entre les variétés ($p < 0,005$). Dans cette étude, l'augmentation du taux d'émergence était de 126% pour la variété Waha et de 122% pour la variété Vitron, tandis que la stimulation observée pour la variété Ain Abid était relativement faible, atteignant seulement 8% (**Fig.8**).

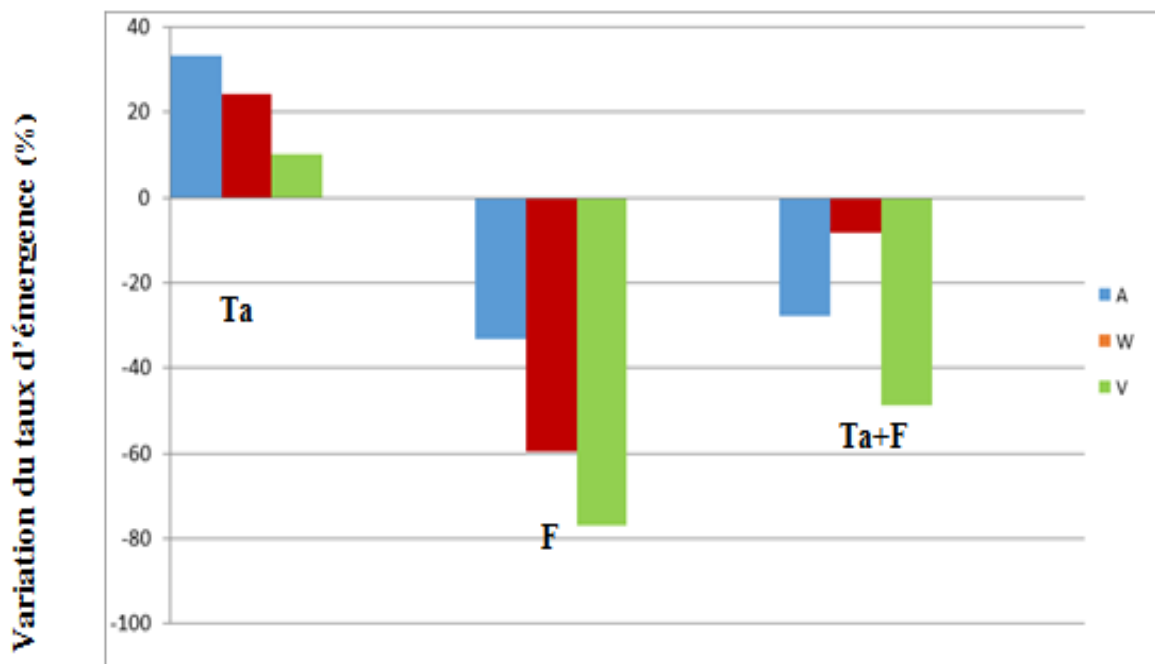


Figure 7. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le taux d'émergence des trois variétés de blé inoculées avec *Fusarium culmorum* comparée aux témoins non inoculés.

- Les plants traités avec Ta13 seul (Ta) ; les plants inoculés par *F. culmorum* (F) et les plants traités par Ta13 et inoculés par le pathogène (Ta+F).

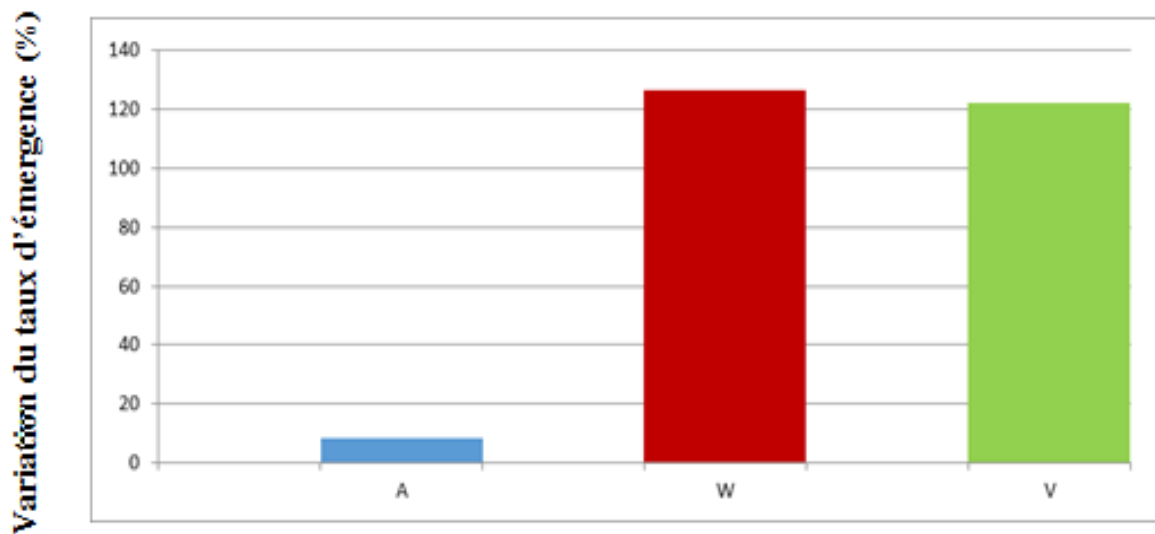


Figure 8. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur Le taux d'émergence des graines de blé des variétés inoculées par le pathogène par rapport au témoin inoculé.

- Ain abid (A) ; Waha (W) ; Vitron (V).

2.2 La teneur en chlorophylle

L'analyse de la teneur en chlorophylle des feuilles du blé indique qu'il existe une différence très hautement significative entre les témoins des trois variétés de blé ($P < 0,001$). Les variétés Vitron et Waha ont montré les valeurs de SPAD les plus élevées, atteignant respectivement 40 et 41,87 unités respectivement, tandis que la variété Ain abid a montré la teneur la plus faible en chlorophylle (24.47 SPAD). En outre, le traitement avec l'agent antagoniste *Trichoderma* seul a amélioré la synthèse chlorophyllienne de tous les plants, avec des pourcentages d'augmentation variant entre 15 et 16% par rapport aux témoins non inoculés (**Fig.9**), mais aucune différence significative n'a été détectée entre les trois variétés ($P > 0.05$).

Les teneurs en chlorophylle ont été significativement réduites ($P < 0,05$) sous l'effet du stress biotique causé par *F. culmorum*, par rapport aux témoins non inoculés. Toutes les variétés étudiées ont été affectées, mais avec des réductions plus prononcées chez la variété Ain Abid (-82%) suivie par la variété Waha (-72%) et enfin (-60%) chez la variété Vitron (**Fig.9**).

Par rapport aux plants inoculés par l'agent pathogène seul, *Trichoderma* a amélioré la synthèse chlorophyllienne des plants co-inoculés. Le pourcentage d'augmentation a atteint

(+40%) chez la variété Ain abid et (+43%) chez Waha. Cette amélioration est négligeable chez la variété Vitron (**Fig.10**).

2.3 Poids frais et poids sec

L'analyse de la variance des poids frais et des poids secs de la plante entière (racines, tiges et feuilles) révèle des différences significatives entre les traitements pour chaque variété étudiée, entre les variétés pour chaque traitement, ainsi que dans l'interaction des deux facteurs étudiés (effet de traitement et effet variété). Les moyennes de chaque paramètre sont comparées selon le test HSD de Tukey.

F. culmorum a significativement affecté le poids frais et le poids sec des trois variétés de blé par rapport à leurs témoins non inoculés. Concernant le poids frais, les variétés Vitron et Waha ont subi une diminution de -80% et -79% respectivement, tandis que la variété Ain Abid a montré une baisse la moins importante (-28%) (**Fig.11**). La diminution la plus marquée du poids sec est enregistrée chez les variétés Vitron et Waha à -88% et -79 % respectivement, suivies par la variété Ain Abid (-64%) (**Fig.13**).

Le traitement par *Trichoderma* seule a amélioré à la fois le poids frais et le poids sec chez les trois variétés de blé par rapport aux témoins non inoculés. Les taux d'induction du poids frais étaient de 63% et 67% chez Ain Abid et Vitron (**Fig.11**), respectivement, et de 48% chez la variété Waha (**Fig.11**). En ce qui concerne le poids sec, la meilleure augmentation a été observée chez la variété Ain Abid (102%) suivie par Vitron (57%), tandis que l'augmentation était plus faible chez Waha (15%)(**Fig.13**). Chez les plants de blé co-inoculés, l'antagoniste a stimulé le poids frais uniquement chez la variété Ain Abid (45%). Par contre, les variétés Vitron et Waha ont marqué une diminution de -56% et -71% respectivement, par rapport à leurs témoins non inoculés (**Fig.11**). Cependant, la comparaison des plants co-inoculés avec ceux inoculés par le pathogène seul confirme que l'antagoniste a induit une amélioration très significative du poids frais (**Fig.11**) et du poids sec (**Fig.12**) chez les trois variétés co-inoculées ($P < 0,001$). Dans ce cas, les variétés Ain Abid et Waha ont présenté des taux très élevés de poids

frais (309% et 115%, respectivement), tandis que la variété Vitron avait un taux de poids sec presque quadruplé par rapport aux autres variétés (628%).

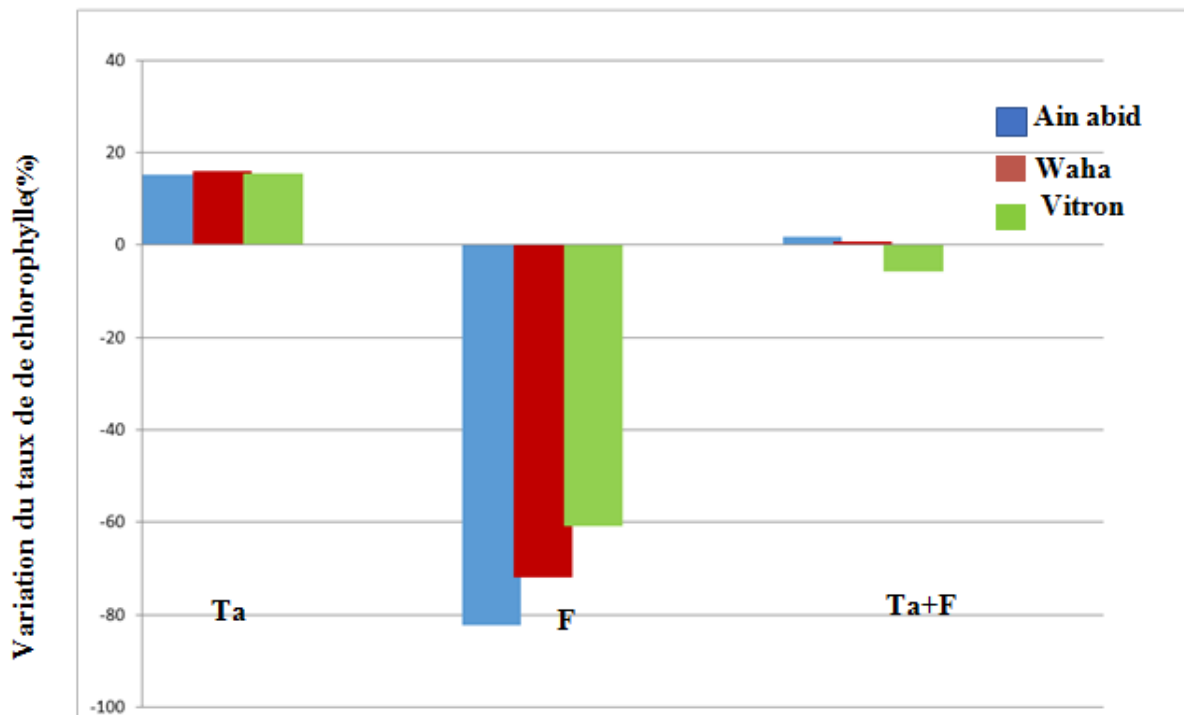


Figure 9. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le taux de chlorophylle des trois variétés sous différents traitements, par rapport aux témoins non inoculés.

- Les plants traités avec Ta13 seul (Ta) ; les plants inoculés par *F. culmorum* (F) et les plants traités par Ta13 et inoculés par le pathogène (Ta+F).

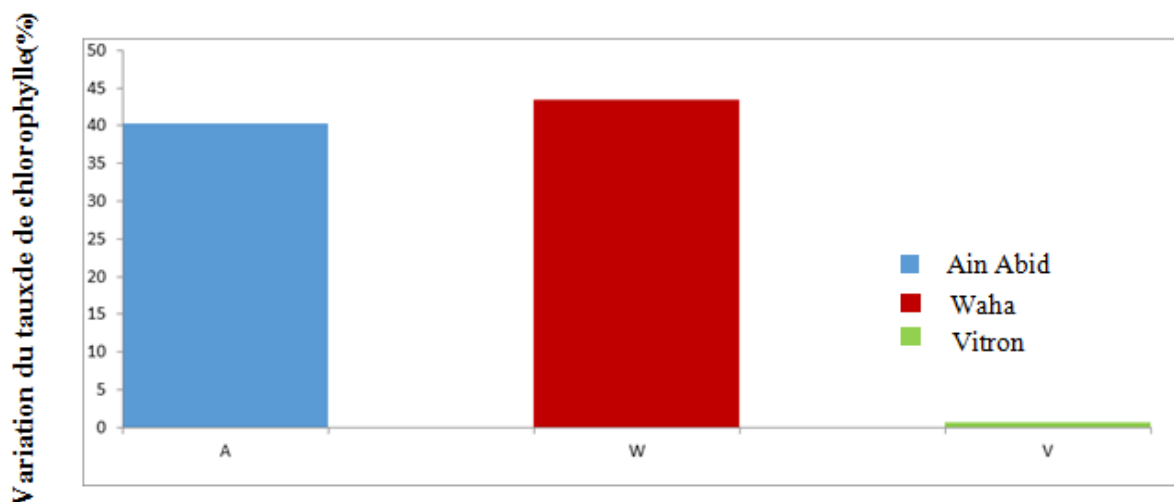


Figure 10. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le taux de chlorophylle des trois variétés co-inoculées par rapport aux témoins inoculés par le pathogène seul.

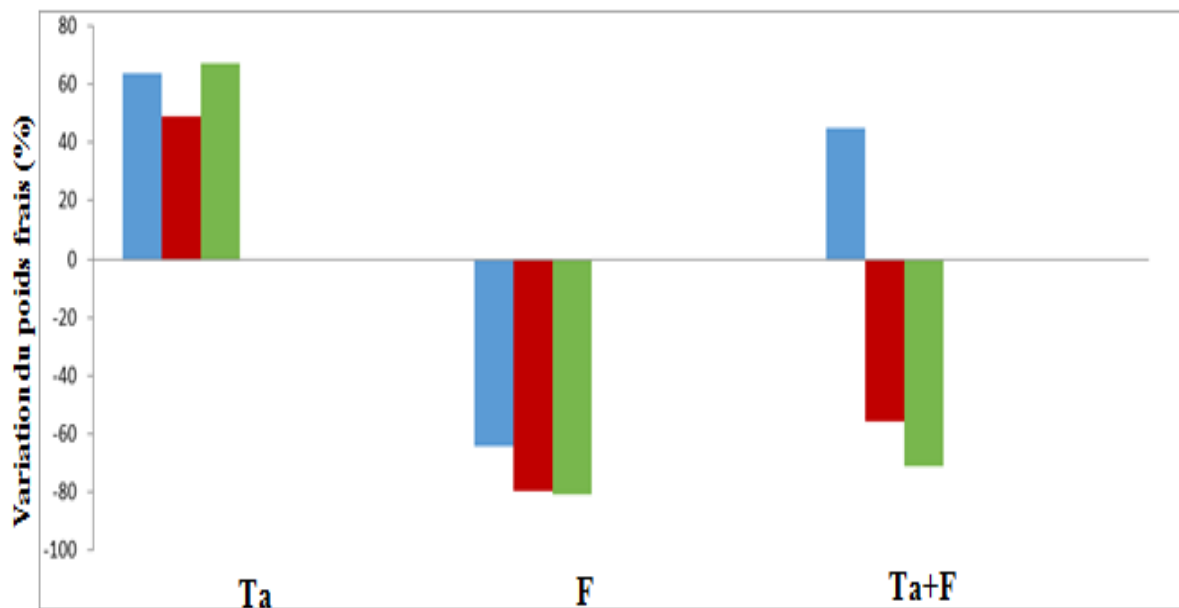


Figure 11. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le poids frais : taux de variation du poids frais total des plants du blé (feuille, tige et racine) des trois variétés de blé sous différents traitements par rapport aux témoins non inoculés.

- Les plants traités avec Ta13 seul (Ta) ; les plants inoculés par *Fusarium culmorum* (F) et les plants traités par Ta13 et inoculés par le pathogène (Ta+F).

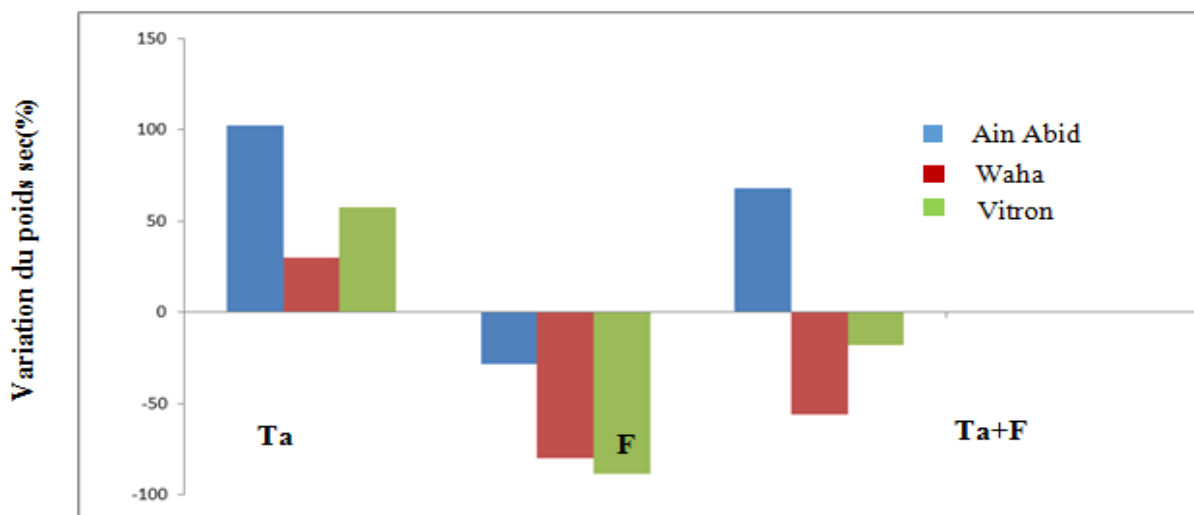


Figure 12. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le poids sec : taux de variation du poids sec total des plants du blé (feuille, tige et racine) des trois variétés de blé sous différents traitements par rapport aux témoins non inoculés.

- Les plants traités avec Ta13 seul (Ta) ; les plants inoculés par *Fusarium culmorum* (F) et les plants traités par Ta13 et inoculés par le pathogène (Ta+F).

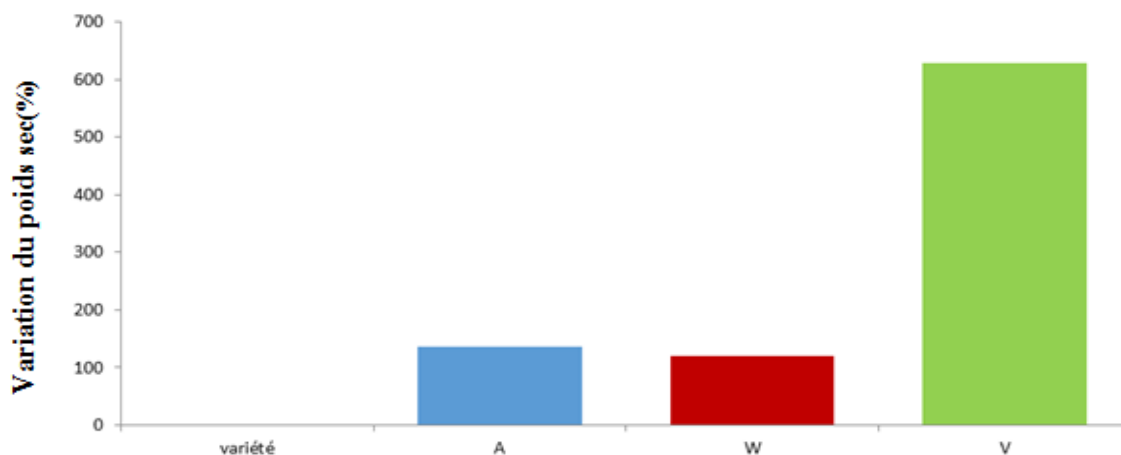


Figure 13. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le poids sec des trois variétés du blé co-inoculées, par rapport aux plants inoculés par le pathogène seul.

- Ain abid (A) ; Waha (W) ; Vitron (V).

2.4 Le rapport entre le taux d'humidité et le taux de matière sèche (l'humidité pondérale)

L'objectif de ce test est d'étudier l'efficacité de l'agent antagoniste à rétablir l'équilibre entre le taux d'humidité et le taux de la matière sèche (H/MS) des trois variétés de blé. En effet, l'ensemble des témoins des trois variétés, comparés entre eux, présentait des taux d'humidité chez les variétés Ain Abid et Vitron 4 fois plus élevés que le taux de matière sèche. Par contre, Waha avait un taux de matière sèche 1.77 fois de plus que son taux d'humidité (**Fig.14**).

L'infection des plants de blé par *F. culmorum* seul a déséquilibré le rapport H/MS chez les plants d'Ain Abid et Vitron, par rapport aux témoins non inoculés. Chez la variété Ain Abid, le rapport était 2,78 fois plus bas que celui de son témoin. En revanche, le déséquilibre chez Vitron était de 1.88 fois plus élevé que son témoin (**Fig.14**). En cherchant quel élément de ce rapport a créé le déséquilibre, nous avons remarqué que chez la variété Vitron c'est l'augmentation du taux d'humidité, tandis que chez Ain abid, c'est l'augmentation du taux de matière sèche, accompagnée d'une diminution du taux d'humidité. Cependant, chez la variété Waha, le pathogène n'a eu aucun effet sur ce rapport.

Le traitement par *T. atroviride* seule n'a eu aucun effet sur le rapport H/MS des trois variétés. En revanche, chez les plants co-inoculés, l'antagoniste a rétabli l'équilibre chez la variété Ain abid. Par ailleurs, malgré le traitement par l'antagoniste, les plants inoculés de la variété Vitron ont également subi un déséquilibre marqué par une diminution accrue, jusqu'à 5 fois inférieure au témoin.

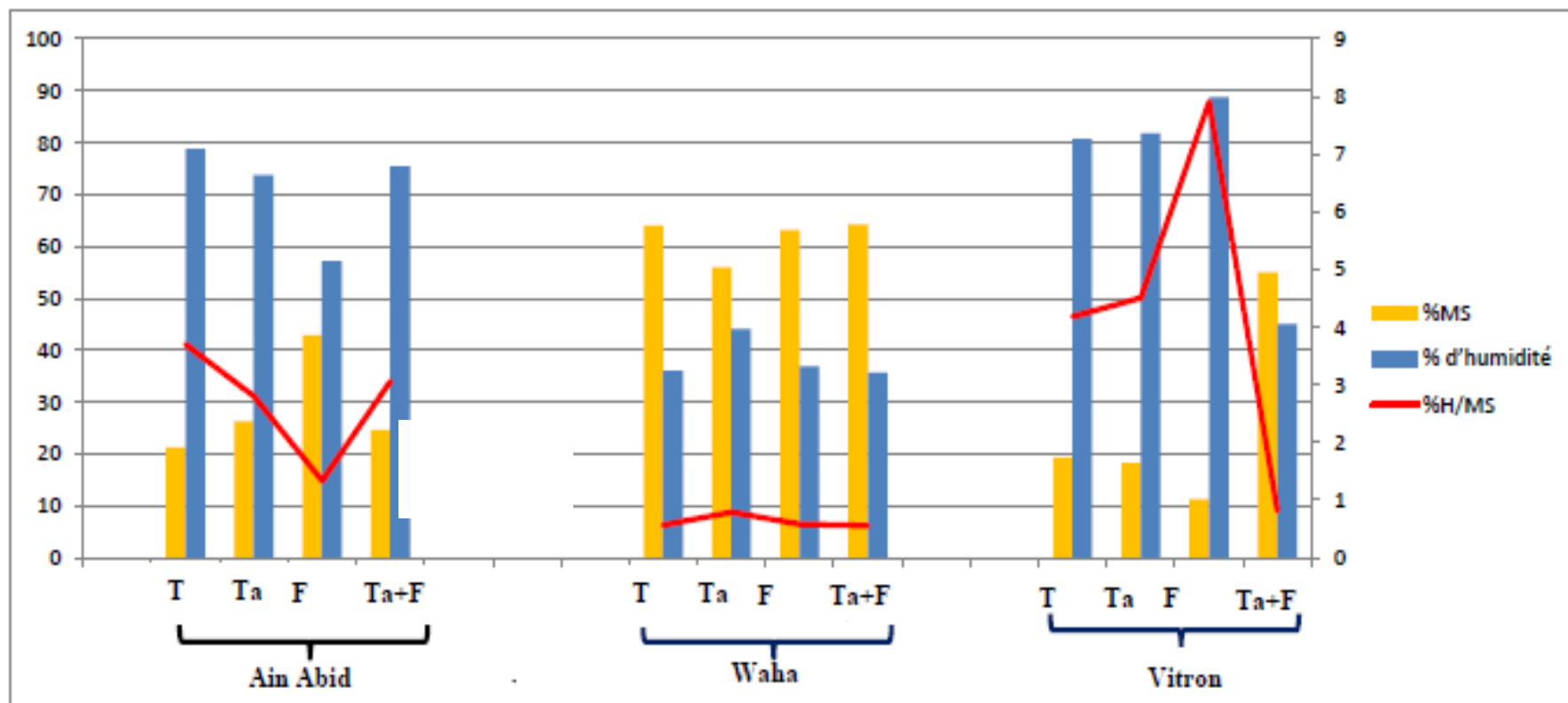


Figure 14. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T. atroviride*) sur le taux d'humidité (H%) et de la matière sèche des trois variétés du blé sous différents traitements par rapport au témoin non inoculé(T).

- Témoin non inoculé(T) ; les plants traités avec Ta13 seul (Ta) ; les plants inoculés par *F. culmorum* (F) et les plants traités par Ta13 et inoculés par le pathogène (Ta+F).

2.5 La surface foliaire

Par rapport au témoin non inoculé, le pathogène a entraîné des réductions significatives de la surface foliaire ($p < 0.01$), surtout chez la variété Vitron (-83%) suivi par Waha (-33%), tandis que chez Ain abid, aucune diminution n'a été observée. Le traitement par *Trichoderma* a amélioré, de manière générale, la surface foliaire des plants de blé. Cette amélioration dépend étroitement de la variété et de la présence ou absence du pathogène. Cependant, l'inoculation par *Trichoderma* seul a augmenté la surface foliaire de 67% chez la variété Ain abid et de 45% chez la variété Waha, mais aucun effet n'a été marqué chez les plants de la variété Vitron, tandis que dans la co-inoculation, l'induction de la surface foliaire était élevée chez Ain abid (60%) et faible chez Waha (14%). En revanche, Vitron a marqué une importante diminution de -83% (Fig.15).

En comparaison avec les plants inoculés seulement par le pathogène, *Trichoderma* a augmenté la surface foliaire des plants infectés d'Ain abid et Waha de +155% et +55 % respectivement et aucun effet n'a été enregistré chez la variété Vitron (Fig.16).

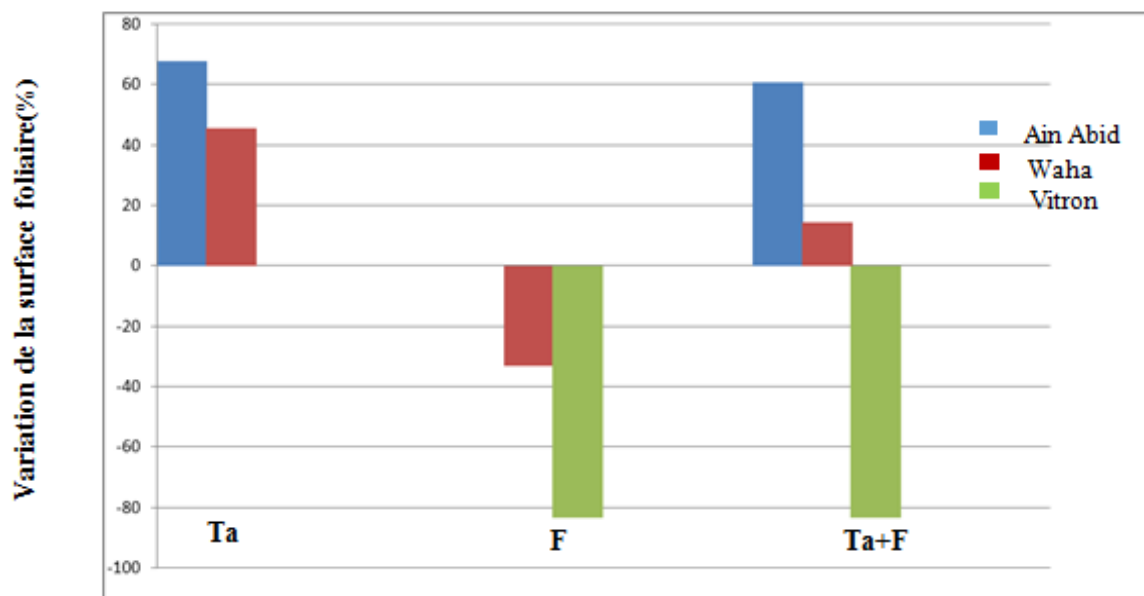


Figure 15. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 (*T.atroviride*) sur la surface foliaire des trois variétés inoculées sous différents traitements par le pathogène par rapport aux témoins non inoculés.

- Ain Abid (A) ; Waha (W) ; Vitron (V). Les plants traités avec Ta13 seul (Ta) ; les plants inoculés par *F. culmorum* (F) et les plants traités par Ta13 et inoculés par le pathogène (Ta+F).

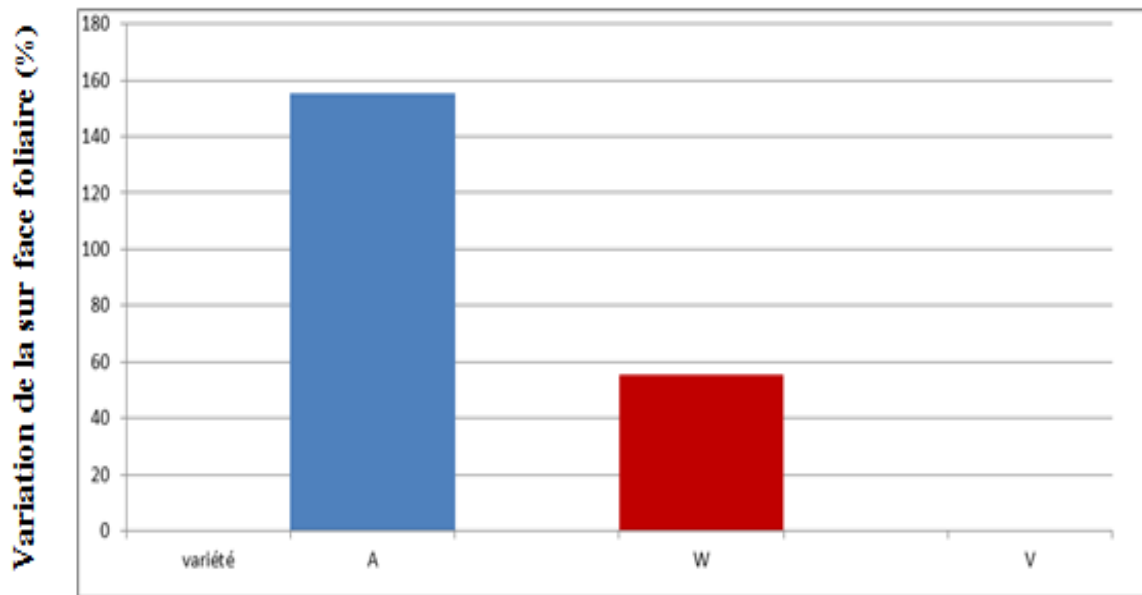


Figure 16. Evaluation de l'effet de l'isolat Ta13 de *T. atroviride* sur la surface foliaire des trois variétés inoculées par le pathogène par rapport aux plants inoculés par le pathogène seul.

- Ain Abid (A); Waha (W) ; Vitron (V).

Discussion

L'analyse des paramètres de croissance des plants de blé révèle que le traitement des semences par *T. atroviride* seule a exercé un effet positif sur la teneur en chlorophylle, taux d'émérgence, le poids frais, le poids sec et la surface foliaire par rapport aux plants témoins non traités. Cette constatation concorde avec de nombreux travaux démontrant la capacité des souches de *Trichoderma* à stimuler la croissance des plantes (**Singh et al., 2020 ; Mukherjee et al., 2021 ; Pérez et al., 2023**). **Yedidia et al. (2001)** ont signalé que *T. harzianum* stimule plusieurs paramètres de croissance chez les plants de concombre sains, avec des taux d'augmentations variables, y compris la germination des graines (30%), le poids sec (80%) et la surface foliaire (80%).

Par ailleurs, *F.culmorum* a réduit la croissance des plants des trois variétés étudiées, avec des réductions allant de -60% à -82% pour la teneur en chlorophylle, de -33% à -77% pour le taux d'émérgence, de -64% à -80% pour le poids frais, de -28% à -88% pour le poids sec et de -33% à -88% pour la surface foliaire chez les plants inoculés par l'agent pathogène, par rapport aux plants témoins non inoculés. En outre, dans le cas de la co-inoculation,

Trichoderma amélioré considérablement tous les paramètres de croissance par rapport aux plants inoculés seulement par *F. culmorum* chez les variétés Waha et Ain Abid. Cependant chez la variété Vitron, une faible augmentation est enregistrée pour le poids frais, la surface foliaire et le taux d'émergence et la teneur en chlorophylle.

L'analyse de la teneur en chlorophylle est utilisée pour envisager la performance photosynthétique de la plante sous un stress (**Fracheboud et al., 1999**). Dans la présente étude, le pathogène a considérablement réduit le taux de la chlorophylle des trois variétés. Ce résultat est en accord avec les constatations de **Baghbani et al. (2019)** qui ont constaté une réduction similaire chez les plants infectés par des champignons phytopathogènes. Cette diminution est liée à l'activation de l'enzyme chlorophylase suite à un endommagement des tissus de la plante par le pathogène. Cette enzyme transforme la chlorophylle au phytol et chlorophylide. Par l'action photodynamique de l'enzyme, la dégradation des chlorophylles est peut être utile dans la réparation des tissus pour éviter les dommages cellulaires (**Benedetti et al., 1998 ; Takamiya et al., 2000 ; Huang, 2013**). La réduction du nombre de chloroplastes conduit aussi à une diminution de la biosynthèse de la chlorophylle qui peut retarder ou inhiber le développement des plastides et le processus de photosynthèse. Selon **Hock et Elstner (2004)**, la destruction des chloroplastes conduit au développement des lésions nécrotiques.

Plusieurs travaux ont montré l'efficacité de *Trichoderma* dans la stimulation de la croissance chez les plants stressés. **Harris (2013)** a constaté qu'en co-inoculant les plants de laitue (*Lactuca sativa*) avec *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB.) DE BARY et *T. hamatum* (Bonord.) Bainier le taux de levée a augmenté de 77 %. De même, **Hibar et al. (2005)** ont enregistré une croissance végétative importante chez les plants de tomate traités avec *T. harzianum* et inoculés par *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (JARVIS & SHOEMAKER), par rapport aux plants témoins. **Zhang et al. (2016)** ont également observé une augmentation de la tolérance du soja au *S. sclerotiorum* en utilisant l'espèce *T. harzianum*. Ils ont remarqué une augmentation de la teneur en chlorophylle et en phénols après l'application de l'agent antagoniste. Cette stimulation est peut-être due à plusieurs mécanismes, directs ou indirects. Le mécanisme direct le plus important repose sur le fait que *Trichoderma*, en colonisant les plantes, produit ses propres phytohormones qui affectent l'équilibre hormonal de la plante et influent sur son interaction avec les microorganismes (**Nieto-Jacobo et al., 2017**).

Pour approfondir la compréhension du mécanisme par lequel l'agent antagoniste influence les paramètres de croissance des plantes, **Contreras-Cornejo et al. (2009)** ont étudié l'effet de *Trichoderma virens* et *T. atroviride* sur la stimulation de la production d'auxines chez *Arabidopsisthaliana*. Les actions de cette hormone sont multiples : elle favorise l'élongation cellulaire, la dominance apicale, la rhizogenèse, la fructification, et la germination des graines, tout en prévenant l'abscission des feuilles. Les chercheurs ont mis en évidence que *Trichoderma* stimule la croissance des plantes en produisant des composés associés aux auxines, tels que l'acide indole-3-acétique, l'indole-3-acétaldéhyde et l'indole-3-éthanol. De plus, *Trichoderma* renforce la réponse des plantes à la signalisation auxinique, contribuant ainsi à une amélioration globale des processus de croissance et de développement.

L'un des mécanismes indirects de *Trichoderma* dans la protection contre les maladies et la stimulation de la croissance chez la plante est d'assurer une bonne nutrition de la plante en formant avec les racines de la plante un pont de transfert des minéraux et des éléments nutritifs du sol vers les parties et les organes de la plante. L'évolution de la tolérance ou de la résistance aux dommages causés aux plantes dépend de la quantité de nutriments disponibles et du taux de croissance de la plante (**Harman et al., 2005 ; Pagán et García-Arenal, 2018**).

Dans la présente étude, il a été observé que la stimulation de la croissance des plants de blé par l'antagoniste variait significativement d'une variété à l'autre et d'un traitement à l'autre. De fortes augmentations des paramètres de croissance ont été notées chez les plants co-inoculés par rapport à ceux inoculés uniquement avec le pathogène. Par exemple, le poids frais a montré une augmentation de 115 % chez la variété Waha et de 309 % chez Ain Abid, tandis que le poids sec a atteint jusqu'à 628 % chez la variété Vitron. Une observation similaire a été faite pour la surface foliaire, avec une augmentation de 155 % chez Waha. De plus, *Trichoderma* a induit un taux d'émergence accru de 126 % chez Waha et de 122 % chez Vitron. Ces taux élevés de stimulation de la croissance peuvent être attribués à la méthode d'incorporation de *fusar*, notamment par enrobage des semences des variétés de blé utilisées (**Stewart et Hill, 2014**).

Cette stimulation de la croissance est étroitement liée à la disponibilité de l'eau, qui joue un rôle essentiel dans de nombreux processus métaboliques et fonctions chimiques au sein des cellules végétales. L'eau est essentielle pour l'élongation cellulaire, le transport des nutriments et la régulation thermique. Ainsi, un pourcentage de matière sèche équilibré, qui reflète la santé des plants, peut également être influencé par l'amélioration des conditions d'humidité et la

stimulation racinaire favorisée par *Trichoderma*. En d'autres termes, une croissance vigoureuse, comme l'indiquent les augmentations observées, est souvent le résultat d'une meilleure gestion de l'eau, renforçant ainsi l'importance de l'interaction entre l'agent antagoniste et les plantes hôtes (**Taiz et Zeiger, 2015 ; Khan et Ghosh, 2020**). Cependant, cette dynamique est menacée par la colonisation et la dégradation des racines et des tissus vasculaires par les agents pathogènes. Ces altérations peuvent réduire la capacité photosynthétique des plantes en perturbant le mouvement et l'assimilation de l'eau. De plus, les toxines sécrétées par ces pathogènes peuvent compromettre la physiologie de l'hôte, diminuant ainsi l'efficacité de la photosynthèse (**Liu, et al., 2020**).

Le traitement de la semence du blé avec Ta13 (*T. atroviride*) a rééquilibré le rapport entre l'humidité et la matière sèche chez les plants des variétés Ain abid et Waha inoculés par le pathogène. Cela est peut être traduit par le fait que l'antagoniste, par sa croissance sur les racines ou autres mécanismes de son interaction avec les racines de la plante, a bloqué le développement du pathogène et a facilité l'absorption des éléments nutritifs du sol et leur circulation dans les tissus conducteurs. Ainsi a également assuré son équilibre nutritionnel, ce qui est nécessaire au bon état physiologique de la plante. Par contre, chez la variété Vitron, ce rapport a diminué. Cependant, le pourcentage de matière sèche a augmenté et le taux d'humidité a été réduit. En revanche, le rééquilibré créé chez la variété Ain abid est due à une meilleure interaction entre les racines de la variété et l'agent antagoniste (**Sharma et Prasal, 2021**).

La variabilité dans la stimulation de la croissance observée entre les trois variétés traitées par *T. atroviride* peut être liée aux divers facteurs, dont la lignée génétique des plantes. En outre, des éléments tels que les conditions environnementales, le type de culture, la concentration de l'inoculum et la formulation de l'antagoniste jouent également un rôle significatif dans cette non-uniformité, comme l'ont souligné **Harman (2006)** et **Stewart et Hill (2014)**.

Le déséquilibre dans l'absorption des nutriments et la disponibilité en eau peut considérablement influencer le taux d'émergence et la croissance des plantes (**Iqbal & Ashraf, 2013**). Cela souligne l'importance de créer des conditions optimales pour leur développement, en intégrant à la fois la gestion des pathogènes et un équilibre nutritionnel approprié. Ainsi, pour assurer le succès des cultures, il est essentiel d'adopter une approche globale qui prenne en compte ces divers facteurs.

Conclusion

Il semble que l'utilisation de l'isolat Ta.13 de l'espèce *T. atroviride* comme biofertilisant soit une solution souhaitable pour améliorer toutes les composantes de la croissance du blé, y compris le taux d'émergence, la teneur en chlorophylle, le poids frais et le poids sec.

Les résultats montrent que *Trichoderma* est parvenue à stimuler les paramètres de croissance des plants du blé à des degrés variables entre les variétés et en présence ou en absence du pathogène. De manière générale, les meilleures inductions sont enregistrées chez les plants co-inoculés des variétés Waha et Ain abid, sauf dans le cas du poids sec où Vitron a enregistré un taux plus élevé que celui des autres variétés.

Chapitre IV : Effet de *Trichoderma atroviride* (Ta13) sur les activités enzymatiques et les composés liés à la résistance de la plante contre le pathogène

Introduction

Au cours de leur croissance, les plantes développent des mécanismes de défense face aux stress biotiques et abiotiques, tels que l'épaississement des parois cellulaires pour limiter la pénétration des agents pathogènes, ainsi que l'accumulation et la production de composés phénoliques et de faibles concentrations d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Cawood *et al.*, 2013; Bae *et al.*, 2020). Cependant, la production accrue de radicaux libres nécessite une consommation excessive d'oxygène, ce qui peut être toxique pour la plante, entraînant un stress oxydatif. En réponse, les plantes activent des systèmes enzymatiques antioxydants tels que la peroxydase (POX) et la catalase (CAT), ainsi que des systèmes non enzymatiques, comme la production de polyphénols et de protéines solubles. Cette activation permet aux cellules d'éliminer les radicaux libres en surplus, limitant ainsi le potentiel de dommages oxydatifs (Kotchoni et Gachomo, 2006).

Par ailleurs, les voies impliquées dans la génération de ROS jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense des plantes, notamment en leur permettant de réagir aux attaques des agents phytopathogènes et en contribuant à la résistance acquise aux maladies. Plusieurs études ont montré que l'application d'espèces de *Trichoderma* et d'autres agents de lutte biologique améliore la production d'espèces réactives d'oxygène, renforçant ainsi les défenses des plantes dans divers pathosystèmes (Yedidia *et al.*, 2003; Harman, 2006 ; Guzmán-Valle *et al.*, 2014; Mustafa *et al.*, 2017; Rais *et al.*, 2017).

Les objectifs de ce chapitre sont d'étudier l'effet de *T. atroviride* (Ta.13) sur l'induction et la production des protéines totales, des polyphénols et d'enzymes antioxydantes (peroxydase et catalase) liées aux mécanismes de défense à l'égard de *F. culmorum*. L'évaluation de l'induction des métabolites a été réalisée dans deux organes des plants de blé. Les changements biochimiques ont été évalués dans la zone d'infection (partie basale) et dans les feuilles de trois variétés de blé utilisées dans la présente étude.

Les trois variétés de blé dont les informations ont déjà été citées dans les chapitres précédents sont utilisées dans ce chapitre à savoir 2 variétés de blé dur (Waha et Vitron) et la variété de blé tendre (Ain Abid).

1. Matériel et méthodes

1.1 Matériel fongique

Les mêmes isolats pathogènes (FC.09.11 de *F. culmorum*) et l'agent antagoniste (Ta.13 de *T. atroviride*) précédemment cités dans les chapitres précédents sont utilisés dans ce chapitre.

1.2 Méthodes

1.2.1 Traitement de la semence par l'agent antagoniste et inoculation par l'agent pathogène

Les mêmes méthodes décrites précédemment dans les chapitres 3 et 4 sont utilisées dans cette partie. Cela inclut la méthode de traitement des semences par l'agent antagoniste selon **Harman *et al.* (1989)**, ainsi que la méthode d'inoculation de *F. culmorum* selon **Dermici *et al.*, (2003)**.

1.2.2 Préparation du matériel végétal pour les analyses biochimiques

Après quinze jours de semis, les plants de blé au stade trois feuilles ont été arrachés et mis dans de l'azote liquide afin de bloquer leur métabolisme. Ils ont ensuite été conservés à -80°C en vue d'une analyse plus approfondie. Les étapes d'extraction et d'analyse de chaque paramètre biochimique ont été effectuées sur deux parties de chacun des trois plants échantillonnés (un plant par répétition) : la partie basale (le collet et une partie de la racine) et la partie apicale des feuilles d'un plant sélectionné au hasard dans chaque pot.

1.2.3 L'extraction et le dosage des protéines totales

Le matériel végétal (200 mg) a été placé au-dessus d'un bac rempli de glace, puis broyé après l'ajout de 1,5 ml de tampon phosphate 50 mM (Ph=7). L'extrait a ensuite été centrifugé à 12 000 x g à 4°C pendant 5 minutes. Le dosage des protéines totales a été effectuée selon la méthode de **Bradford (1976)** avec de l'albumine du sérum bovin comme étalon. À 10 µl de l'extrait protéique, sont ajoutés 790 µl du tampon phosphate (50 mM, pH 5,5) et 200 µl du réactif de Bradford, et le mélange a été laissé pendant 5 min à température ambiante. L'absorbance a ensuite été mesurée à 595 nm dans un spectrophotomètre UV-Visible 2650 UV LABOMED INC. La quantité de protéines a été exprimée en mg de protéines/0,2 g de poids frais.

La quantité des protéines est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de protéines} = (\text{DO} / \text{V}) / \epsilon$$

DO : densité optique

V : volume d'extrait enzymatique

ε: coefficient d'extinction =0.056

1.2.4 Détermination du contenu phénolique

Le contenu phénolique total a été estimé par la méthode Folin-Ciocalteu (**Folin et Ciocalteu, 1927**).

Des échantillons de 500mg de feuilles fraîches ont été broyées dans 2 ml de méthanol (80%) à 4°C, puis centrifugés à 1000 tours/minute pendant 10 minutes. Un volume de 100 µl du surnageant a été ajouté au mélange réactionnel contenant 50 µl de carbonate de sodium (20 %), 1750 µl d'eau distillée stérile et 250µl de réactif Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, Allemagne). Le mélange réactionnel a été bien mélangé et incubé pendant 30 minutes à 40°C, puis refroidi à température ambiante. La densité optique a été mesurée à 760 nm, et la quantité de phénol a été déterminée en utilisant le catéchol comme étalon et exprimée en mg/g de poids frais. La concentration est calculée selon la formule :

$$\text{Teneur en composés phénoliques} = \text{densité optique} * \text{C}, \text{ est exprimée en mg /ml.}$$

C: la concentration en catéchol mg/ml obtenu à partir d'une courbe d'étalonnage obtenue avec de catéchol utilisé comme standard.

1.2.5 Extraction et détermination des activités des enzymes antioxydantes

a. Peroxydase

Des échantillons de 500 mg ont été homogénéisés dans 5 ml du tampon phosphate de potassium 50mM (pH 5,5). Après centrifugation à 12 000g pendant 20 minutes à 4°C, le surnageant a été recueilli sous forme de solution enzymatique brute. Un mélange réactionnel a été préparé en ajoutant au surnageant recueilli 2,9 ml du tampon phosphate de potassium 50

mM (pH 5,5), 1ml de H₂O₂ (0,6 M) et 1ml de gaïacol 50 Mm à 0,1ml de la solution enzymatique brute selon le protocole décrit par **Egley et al. (1983)**.

L'activité enzymatique est déterminée par spectrophotométrie en utilisant le gaïacol et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) comme substrats de l'enzyme. Dans une cuve de 1 ml, sont ajoutés dans l'ordre, **0,5ml** de tampon acétate 0,1 M (pH 5,0), **0,4ml** de gaïacol (à une concentration précisée selon le test, voir tableau ci-dessous), **50 µl** d'enzyme et **50 µl** de H₂O₂ (0.6 M) qui servira pour déclencher la réaction. Le réglage à zéro de la densité optique (DO) est réalisé après ajout de l'enzyme. Après déclenchement de la réaction par addition de H₂O₂, la cuve est couverte à l'aide d'un papier aluminium, est agitée rapidement (par inversion dans les deux sens). Des lectures de la densité optique à 470 nm sont réalisées au bout de chaque minute pendant une durée de 3 minutes. Les variations de DO entre la 2^{ème} et la 3^{ème} minute et entre la 1^{er} et la 2^{ème} minute sont mesurées. Une unité enzymatique correspond à la quantité de protéines donnant 0,1 unité de DO à 470 nm.

L'activité spécifique des peroxydases (unité mg-1 de protéine) est calculée selon la formule suivante :

$$\text{POX} = (\Delta\text{DO peroxydase} \times \text{FD}) / (\text{quantité de protéines de l'enzyme})$$

POX : L'activité spécifique de la peroxydase

ΔDO : variation de la densité optique

FD : facteur de dilution =30

La teneur en protéines de la solution enzymatique brute a été déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** comme décrit précédemment.

b. Catalase

Le matériel végétal (200 mg) a été broyé à 4°C dans 1,5 ml de tampon phosphate 50 mM (pH 7). L'extrait obtenu a ensuite été centrifugé à 12 000 g à 4°C pendant 5 minutes. Le surnageant a été utilisé comme extrait enzymatique. L'activité de la catalase (CAT) a été mesurée selon la méthode de **Beers et Sizer (1952)**. L'activité de la CAT a été calculée sur la base de la décomposition du H₂O₂, mesurée comme la diminution de l'absorbance à 240 nm, selon la réaction chimique :



Le mélange réactionnel se compose de 724 µl de tampon phosphate (50 mM, pH=7), de 226µl de H₂O₂ à 30% et de 50µl de surnageant. L'absorbance a été mesurée sur une période d'une minute. L'activité spécifique de l'enzyme a été calculée en utilisant un coefficient d'extinction de 36 M⁻¹.cm⁻¹ et exprimée en µkat/mg de protéine.

L'activité spécifique de l'enzyme est mesurée selon la formule suivante :

$$\text{SA} = (\Delta\text{C} \times \text{DF}) / (\Delta t \times \text{quantité de protéines})$$

$$\Delta\text{C} : (\Delta \text{OD}) / \epsilon\text{L}$$

$$\text{SA} = (\Delta\text{C} \times \text{DF}) / (\Delta t \times \text{quantités de protéines})$$

$$\Delta\text{C} : (\Delta\text{DO}) / \epsilon\text{L}$$

ΔDO: variation de la densité optique entre deux valeurs (Δt : intervalle de temps = 1 minute)

ε: facteur d'extraction = 36 mM⁻¹.cm⁻¹

L : longueur du volume de lecture dans la cuvette.

FD : facteur de dilution =20

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Statistica ink, version 6.1. Les résultats des données quantitatives ont été soumis à une analyse de variance ANOVA. La comparaison des moyennes a été réalisée à l'aide du test HSD de Tukey. Les différences ont été considérées comme significatives à p < 0,05.

2. Résultats

Le traitement des graines de blé par l'isolat *T. atroviride* (Ta.13) a induit des changements dans les contenus protéiques et phénoliques ainsi que sur les activités de la catalase et de la peroxydase des tissus des plants de blé. Cette induction varie plus ou moins considérablement d'une variété à l'autre et d'une partie de la plante à l'autre (partie basale et feuilles). Les résultats ont révélé une différence significative pour chaque paramètre étudié

entre les variétés pour chaque traitement et les niveaux étant les plus bas dans les plants de blé témoins non inoculés, suivis des plants inoculés avec *F. culmorum* seul, ensuite de ceux inoculés avec Ta.13 seul et en dernier des plants co-inoculés avec *T. atroviride* et *F. culmorum*. Au sein d'une variété de blé donnée, il a été noté une différence significative pour tous les paramètres biochimiques mesurés entre les tissus de la partie basale des plants de blé et les tissus des feuilles.

2.1 La teneur en protéines

L'inoculation des graines de blé avec *Fusarium culmorum* seule, ainsi que la co-inoculation avec *T. atroviride* (Ta.13) et le pathogène, a entraîné des variations très significatives de la teneur en protéines totales par rapport au témoin non inoculé ($P \leq 0,0005$). Dans les échantillons prélevés à la base des plants, les teneurs en protéines étaient les plus élevées dans les plants inoculés uniquement avec le pathogène. Les variétés Vitron et Waha ont affiché des augmentations maximales de 133% et 114%, respectivement, par rapport au témoin. La variété Waha, co-inoculée avec *F. culmorum* et T.a13, a montré des augmentations de 66% dans le collet et de 37% dans les feuilles par rapport au témoin non inoculé. En revanche, pour les deux autres variétés, les augmentations étaient marginales, avec 17% dans les feuilles d'Ain Abid et 16 % dans le collet de Vitron (**Fig.17**).

Par rapport aux plants inoculés avec *F. culmorum* seul, la co-inoculation avec le pathogène et *Trichoderma* a réduit de manière significative le taux des protéines totales dans les feuilles et les collets des plants de la variété Vitron infectés par le pathogène (-63% dans les feuilles et -50% dans les collets) ($P \leq 0,0005$). En revanche, une petite augmentation a été notée dans les feuilles des plants de la variété Waha (8%) co-inoculés à la fois avec le pathogène et *Trichoderma*, par rapport aux plants de Waha inoculés uniquement avec le pathogène.

2.2 La teneur en phénols

La teneur totale en composés phénoliques, des feuilles et des parties basales des plants de blé non inoculés des trois variétés, a montré que les tissus foliaires des variétés du blé dur (Waha et Vitron) avaient des concentrations en phénols plus élevées que les parties basales. Par contre chez la variété Ain Abid (blé tendre), la concentration en phénol la plus élevée était enregistrée dans les parties basales (tissus du collet). Chez les plants de blé co-inoculés à la fois avec Ta.13 et *F. culmorum*, la teneur en phénol différait significativement de celle des plants

témoins non inoculés ($P \leq 0,0005$), la plus grande teneur en phénol est enregistrée dans les parties basales de la variété Waha co-inoculée (un taux d'augmentation de 1400% par rapport au témoin), suivie des tissus foliaires de la variété de blé tendre Ain Abid (336% du témoin) (**Fig.17**).

Parmi les plants inoculés uniquement avec l'agent antagoniste, les feuilles de la variété Ain Abid ont montré le plus haut niveau de composés phénoliques (11,24 mg/ml), soit 1000% de plus que les plants témoins non inoculés. Cependant, cette augmentation des composés phénoliques chez la variété Ain Abid s'est produite uniquement dans les feuilles et il n'y avait pas d'augmentation significative des composés phénoliques dans les parties basales ($P \geq 0,05$).

Les plants co-inoculés avec *Trichoderma*, par rapport à ceux inoculés uniquement avec le pathogène, ont révélé un changement significatif du contenu phénolique dans les trois variétés testées ($P \leq 0,05$). La co-inoculation a entraîné une augmentation remarquable de la teneur en phénols chez la variété Waha, atteignant jusqu'à 1600% dans les parties basales ($P \leq 0,05$). La variété Vitron a également montré une augmentation significative de 313% dans les zones basales ($P \leq 0,05$). En revanche, la variété Ain Abid a présenté une diminution du contenu phénolique dans les deux tissus, avec des réductions de -46 % dans le collet et -36 % dans les feuilles (**Fig.17**).

2.3 L'activité de peroxydase

L'activité de la peroxydase (POX) chez les plants témoins non inoculés était plus élevée dans les feuilles et la partie basale de la variété Vitron par rapport aux variétés Waha et Ain Abid. Les niveaux enregistrés atteignaient 82,22 U/mg de protéines dans les feuilles et 42,51 U/mg de protéines dans le collet pour Vitron. En revanche, la variété Waha affichait une activité peroxydase plus faible, avec seulement 10,16 U/mg de protéines dans les feuilles et 26,54 U/mg de protéines dans les collets.

Lorsque les grains de blé ont été inoculés avec le pathogène (*F. culmorum*) seul, un effet significatif sur l'induction de la POX a été observé. Les feuilles des variétés Waha et Ain Abid ont montré une augmentation marquée de l'activité peroxydase, respectivement de 191% et 135% ($P \leq 0,05$). Cependant, pour la variété Ain Abid, l'induction était limitée dans la partie basale. En contraste, l'inoculation n'a pas entraîné d'augmentation de la POX pour la variété Vitron, tant dans les feuilles que dans la zone basale, par rapport au témoin non inoculé (Fig.

18). Ainsi, ces résultats suggèrent que l'impact de l'inoculation sur l'activité de la peroxydase varie considérablement selon les variétés de blé (**Fig.18**).

Par rapport aux plants témoins non inoculés, la co-inoculation avec Ta.13 et *F. culmorum* a provoqué une augmentation significative de l'activité peroxydase, en particulier chez la variété Waha, de 282% dans les feuilles et de 77% dans les parties basales ($P \leq 0,0005$). Cependant, il n'y avait qu'un faible niveau d'induction de la peroxydase par la co-inoculation chez la variété Ain Abid et une diminution des niveaux de l'activité peroxydase chez la variété Vitron, à la fois dans les feuilles et les collets (**Fig. 18**). Par rapport aux plants inoculés avec le pathogène seul, les plants de la variété Waha co-inoculés ont présenté une activité peroxydase significativement accrue dans son collet, atteignant les 393% ($P \leq 0,05$).

2.4 L'activité de catalase

Une activité catalase similaire a été trouvée chez les plants témoins non inoculés des trois variétés testées et cette activité était plus élevée dans les feuilles que dans les parties basales pour toutes les variétés.

Par rapport aux plants témoins non inoculés, les plants de blé co-inoculés à la fois avec Ta.13 et *F. culmorum* ont montré des changements significatifs dans l'activité de la catalase ($P \leq 0,005$). L'activité catalase maximale a été enregistrée dans les parties basales et les feuilles de plants co-inoculés de la variété Ain Abid, avec une augmentation de 641% et 788% par rapport aux témoins non inoculés, respectivement (**Fig.18**). Cette modification de l'activité était moins prononcée chez la variété Waha que chez la variété Ain Abid.

En effet, les plants de la variété Waha co-inoculés avec Ta.13 et *F. culmorum* avaient un taux de changement (par rapport au témoin) équivalent à celui des plants inoculés avec *F. culmorum* seul, ce qui suggère que Ta.13 n'a pas eu d'effet supplémentaire sur l'induction de la CAT. Chez la variété Vitron, l'activité CAT des plants inoculés uniquement avec le pathogène était significativement plus élevée dans le collet que dans les feuilles ($P \leq 0,005$). En revanche, chez les plants co-inoculés à la fois avec Ta.13 et *F. culmorum*, l'activité CAT était plus élevée dans les feuilles que dans les collets ($P \leq 0,005$).

Les trois variétés de blé inoculées avec Ta.13 seul ont montré une diminution ou une augmentation non significative de l'activité catalase, en particulier dans les feuilles ($P \geq 0,05$).

Par rapport aux plants inoculés avec *F. culmorum* seul, les plants Ain Abid co-inoculés ont montré l'activité catalase la plus élevée, parmi les trois variétés, à la fois dans leurs collets et leurs feuilles. Cette activité étant plus haute de 154% et 261% respectivement par rapport aux plants témoins non inoculés, suivi par les plants de la variété Vitron, qui ont montré une augmentation de 80% de l'activité CAT dans les feuilles seulement (**Fig.18**).

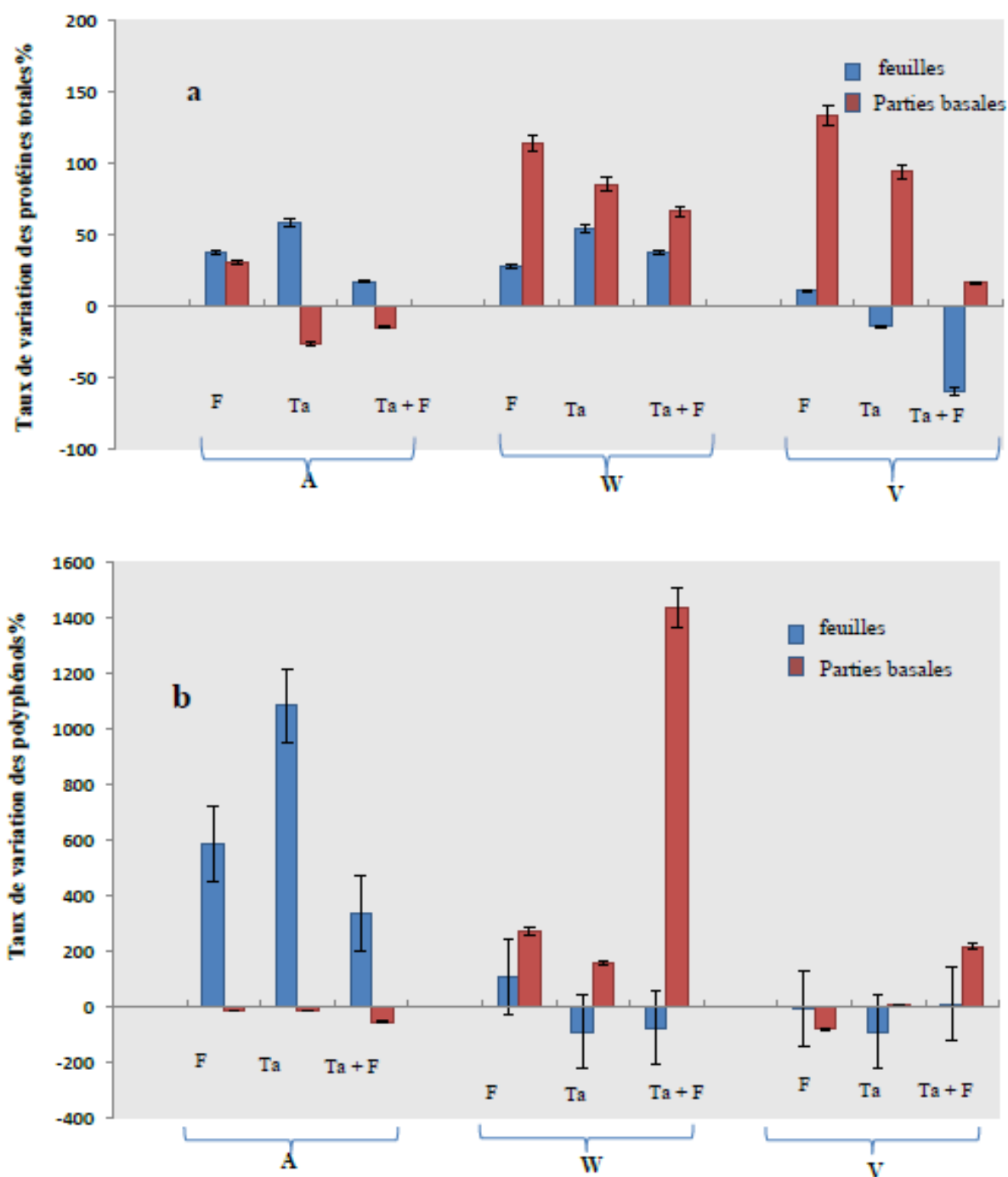


Figure 17. Evaluation de l'effet de *T. atroviride* sur l'induction des protéines totales (a) et des polyphénols (b) dans les feuilles et les parties basales des variétés de blé à l'égard *F. culmorum*.

- F = inoculé avec *F. culmorum* seul, T = traité avec *Trichoderma* seul, T+F co-inoculé avec *Trichoderma* et *F. culmorum*, A = Ain Abid, W = Waha, V = Vitron.

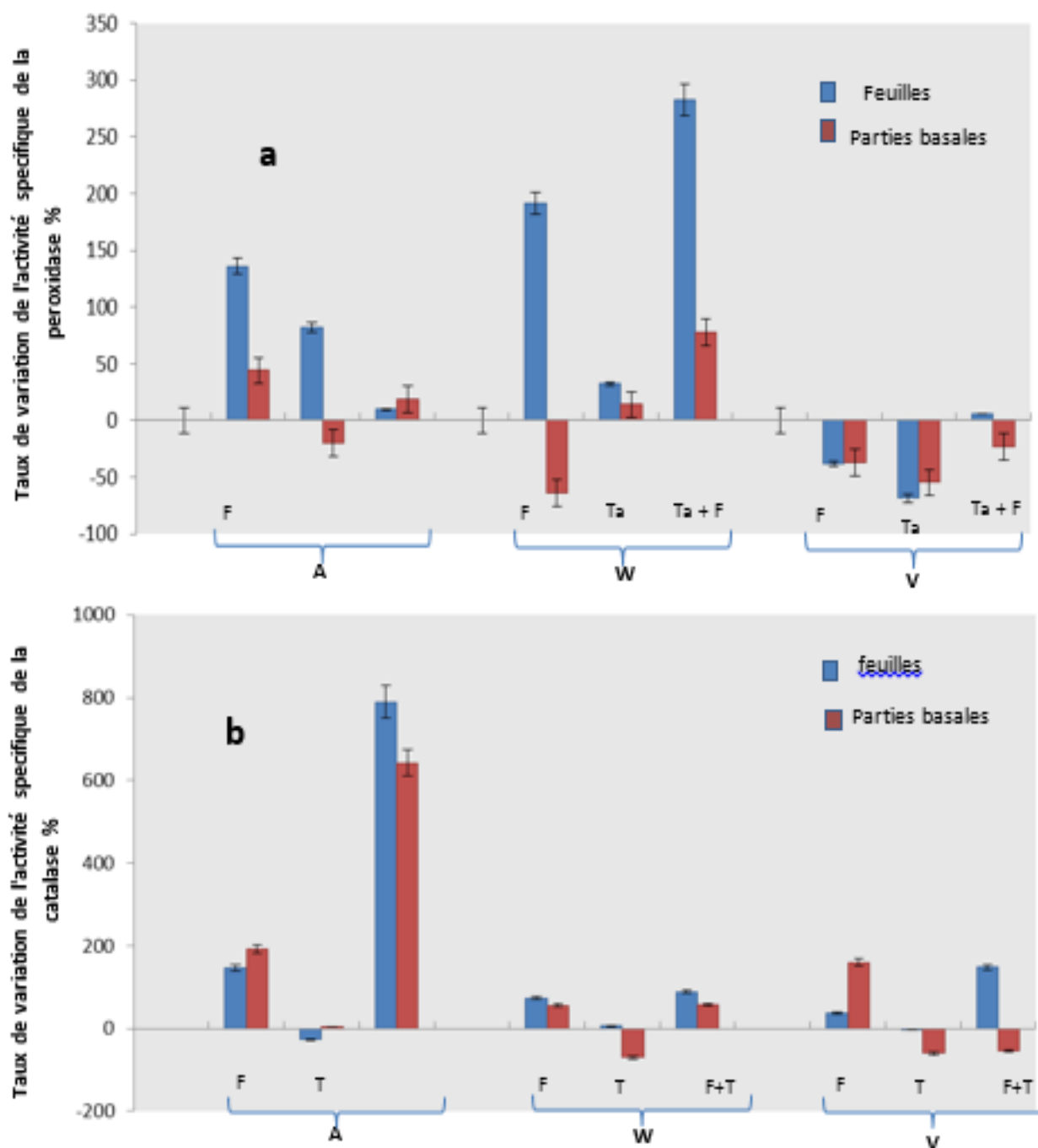


Figure 18. Evaluation de l'effet de *T. atroviride* sur l'induction de l'activité de peroxydase (a) et de la catalase (b) dans les feuilles et dans les parties basales des variétés de blé contre *F. culmorum*.

- F= inoculé avec *F. culmorum* seul, T = traité avec *Trichoderma* seul, T+F co-inoculé avec *Trichoderma* et *F. culmorum*, A = Ain Abid, W = Waha, V = Vitron.

Discussion

L'efficacité limitée des fongicides chimiques dans la protection du blé à l'égard les pourritures des racines et du collet, ainsi que l'absence de variétés de blé totalement résistantes à ces maladies, créent un besoin pour des méthodes alternatives de lutte, y compris des agents de biocontrol. Nos résultats montrent qu'il existe des changements significatifs dans la teneur en protéines, en phénols totaux, ainsi que dans les activités enzymatiques de la peroxydase et de la catalase chez les plants de blé inoculés avec l'agent antagoniste *T. atroviride* (Ta.13), par rapport aux plants témoins non inoculés et aux plants inoculés par l'agent pathogène seul. Il a également été remarqué des différences significatives dans ces réponses entre les variétés de blé utilisées et entre les tissus végétaux, les parties basales et les feuilles.

Par rapport aux plants témoins non inoculés, les trois variétés de blé inoculées avec le pathogène *F. culmorum* seul ont montré une surproduction de protéines totales. Cette surproduction a également été observée chez les plants co-inoculés à la fois avec le pathogène et l'antagoniste *T. atroviride* (Ta.13), en particulier chez la variété Waha. Cette augmentation de la teneur en protéines peut s'expliquer par la présence de protéines de défense, qui jouent un rôle crucial dans le maintien des fonctions cellulaires et la protection des tissus contre les dommages causés par des composés endogènes (**Chan et Tian, 2006**). En revanche, la diminution de la teneur en protéines dans certains traitements pourrait être liée à l'inhibition et à la dégradation de la synthèse des protéines par les radicaux hydroxyles sous stress (**Çördük et al., 2016**).

En ce qui concerne les teneurs en composés phénoliques et par rapport aux plants témoins non inoculés, les teneurs les plus élevées ont été enregistrées dans la partie basale de la variété Waha co-inoculée avec Ta.13 et *F. culmorum*, suivie des feuilles de la variété Ain Abid inoculée par l'agent antagoniste Ta.13 seul, avec des augmentations de 1400% et 1000% par rapport au témoin, respectivement. **Surekha et al. (2014)** ont rapporté dans leurs travaux les niveaux de phénol les plus élevés dans les plants de haricot d'urad, *Vigna mungo* (L.) Hepper inoculés avec *T. viride* Pers. seul (avec une augmentation de 150% par rapport au témoin), suivi par les plants co-inoculés avec à la fois *T. viride* et *Fusarium oxysporum* Schlecht. (Avec une augmentation de 113% par rapport au témoin). L'augmentation de la teneur en composés phénoliques dans les collets des plants, mais non dans les feuilles, a été observée chez les

variétés Waha et Vitron, ce qui peut être lié au fait que les plants limitent localement le pathogène à la zone du collet, où les composés phénoliques bloquent le développement du pathogène. L'agent antagoniste *Trichoderma* induit des métabolites défensifs, qui peuvent contribuer à la capacité de la plante à inhiber la progression du pathogène dans les tissus végétaux (Zaidi et Singh, 2013 ; Guzmán-Valle *et al.*, 2014).

Les niveaux de l'activité peroxydase ont été augmentés par l'application de *T. atroviride* chez les trois variétés de blé, par rapport aux témoins non traités. L'induction la plus significative de cette activité enzymatique a été enregistrée dans les tissus foliaires de la variété Waha co-inoculée, avec une augmentation allant jusqu'à 393% par rapport au témoin non inoculé et par rapport aux plants inoculés uniquement avec le pathogène et chez lesquelles l'augmentation était de 288%.

Plusieurs études ont porté sur les applications de *Trichoderma* spp. dans d'autres pathosystèmes et ont obtenu des résultats similaires. Fotoohiyan *et al.* (2015) ont noté que l'induction de la peroxydase était plus importante dans les noyaux de pistache co-inoculés avec *T. harzianum* et l'agent pathogène *Verticillium dahlia* Kleb. que dans ceux inoculés avec l'agent pathogène seul ou l'antagoniste seul. Singh *et al.*, (2018) ont constaté que l'induction de cet enzyme augmentait de 346% dans les plants de canne à sucre infectés par *Colletotrichum falcatum* Went. Guzmán-Valle *et al.* (2014) ont signalé que l'application de *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg à trois variétés d'oignons à l'égard de *Sclerotium rolfsii* Sacc. a augmenté l'activité enzymatique, en particulier dans les plants co-inoculés, plus que chez ceux inoculés par *T. asperellum* seul. Mustafa *et al.* (2017) ont signalé que l'inoculation du blé avec des mycorhizes à arbuscules pour lutter contre l'oïdium induisait une activité POX dans les feuilles infectées, par rapport au témoin non inoculé. Sreedevi *et al.* (2011) ont rapporté que *T. harzianum* induit l'activité POX et la teneur en polyphénols dans les plants d'arachide lorsqu'il est appliqué à l'égard de l'agent pathogène *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

Dans la même optique, Rais *et al.* (2017) ont également constaté que *Bacillus* spp. améliorerait l'activité peroxydase de trois variétés de riz Basmati à la fois dans les feuilles et dans les racines, et que la supère variété Basmati montrait le plus haut taux d'augmentation par rapport aux autres variétés (de plus de 3,5 à 4,1 fois). La valeur élevée de l'activité enzymatique POX peut être considérée comme un marqueur de la résistance aux maladies fongiques, peut-être par son utilisation dans la lignification de la paroi cellulaire, qui constitue une barrière

physique contre la pénétration des pathogènes dans les cellules ou les vaisseaux (**Welinder, 1992 ; Vidhyasekaran, 1997 ; Fotoohiyani et al., 2015**). Selon **Armas et al. (2007)**, les augmentations de l'activité POX font partie du mécanisme de défense mais pas un déterminant général ou un marqueur de résistance. Les niveaux d'activité POX peuvent également être utilisés dans les programmes de sélection pour identifier les clones prometteurs parmi les cultivars testés.

Des niveaux très élevés d'induction de l'activité de CAT dans les feuilles et les tissus du collet ont été enregistrés chez la variété Ain Abid lorsqu'elle a été co-inoculée avec T.a13 et *F. culmorum*. En revanche, il n'y a eu qu'un faible niveau d'induction chez les variétés Waha et Vitron dans ces mêmes conditions de co-inoculation. D'autre part, et pour le même traitement, l'activité POX était très faible chez la variété Ain Abid par rapport à la variété Waha, où elle était très élevée. Ce schéma peut être dû à la relation synergique entre les deux enzymes étant donné que le rôle principal de la catalase est d'oxyder le peroxyde d'hydrogène en oxygène, et que les peroxydases utilisent cette forme intermédiaire pour la dégradation d'autres substrats plutôt que H₂O₂ (**Vidossicha et al., 2012; Leung, 2018 ; Njuma et al., 2018**).

La présence d'une activité catalytique naturelle dans les feuilles de plants sains joue un rôle dans la dégradation des ROS et des espèces azotées réactives (RNS) libérées par les peroxysomes lors de la photo-respiration ou de la lignification. Sous l'effet de stress biotiques ou abiotiques, la génération de ROS par les peroxysomes est altérée, entraînant une dépression de l'activité antioxydante (**Eising et al., 1998 ; Heinze et Gerhardt, 2002; Del Rio et al., 2006 ; Corpas, et al. , 2017**).

En effet, l'induction de ces métabolites de défense dans les feuilles indique que la réponse est systémique (**Armas et al., 2007 ; Salas-Marina et al., 2011 ; Guzmán-Valle et al., 2014 ; Zehra et al., 2017**). Plusieurs études ont montré que les espèces de *Trichoderma* peuvent activer le métabolisme défensif, les voies systémiques contre plusieurs stress biotiques ou abiotiques (**Kumar et al., 2017**). **Salas-Marina et al. (2015)** ont confirmé que *T. atroviride* peut induire génétiquement une résistance systémique acquise (SAR) et une résistance systémique induite (ISR) dans la protection des plants de la tomate contre *Botrytis cinerea* Pers. et *Alternaria solani* Sorauer. À l'aide d'analyses génétiques et moléculaires, ils ont confirmé l'activation de gènes spécifiques associés à ces mécanismes de défense, mettant en évidence l'efficacité de *T. atroviride* comme agent de protection des cultures contre ces pathogènes. **Kumar et Kumar (2018)** ont constaté que *T. harzianum* induit une résistance chez *Brassica*

juncea (L.) Czern. Contre *Albugo candida* (Pers.) Roussel. Des résultats similaires ont été trouvés en utilisant d'autres agents antagonistes dans d'autres systèmes pathologiques. **Chen et al. (2000)** ont rapporté que l'application des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR) dans les racines du concombre a supprimé la pourriture des racines causée par *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. par la colonisation des racines et l'induction des enzymes de défenses systémiques.

La présente étude a montré que les activités de peroxydase et de catalase sont induites, ainsi que la production des protéines totales et de phénols, de manière différente selon les variétés de blé et les tissus (collet et feuilles) d'une même plante. Cette variation peut être liée au génotype de la plante, aux types de pathogènes ou aux conditions physiologiques et environnementales (**Lattanzio, 2013**).

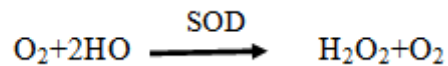
Conclusion

En résumé, *T. atroviride* a montré une grande efficacité dans l'induction des paramètres biochimiques importants liés à la résistance aux maladies, tels que l'accumulation des polyphénols, les activités catalase et peroxydase. Cette induction était systémique et dépendait de la variété de blé. Des recherches supplémentaires, telles que des analyses moléculaires et histologiques, sont nécessaires pour comprendre les mécanismes stimulant les métabolites de défense, en mettant l'accent sur la variété et la migration de ces métabolites entre les parties de la plante.

Chapitre V : Effet de *Trichoderma atroviride* (Ta.13) sur le niveau du peroxyde d'hydrogène et son histolocalisation dans la plante

Introduction

Après la reconnaissance initiale entre la plante et le pathogène, les espèces réactives de l'oxygène se produisent à de faibles concentrations, jouant le rôle de molécules signaux permettant à la plante de déclencher le système de défense contre une infection par un agent pathogène. Les ROS comprennent à la fois des formes libres (radical superoxyde (O_2^*), radical hydroxyle (*OH), radical hydroperoxyde (HO_2^*), radical alcoxy (RO^*) et radical peroxy (ROO^*) et non radicalaires (moléculaires) comme l'oxygène singulet (1O_2) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Boelrijk et Dismukes, 2000**). Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est parmi les ROS les plus importants, impliqués dans de nombreux processus physiologiques et de développement de la plante, y compris la régulation du métabolisme des plantes et la signalisation cellulaire en réponse aux stress environnementaux. Il se produit à partir des radicaux superoxydes à l'aide du superoxyde dismutase (SOD).



L'envahissement des premières barrières structurales de la plante par le champignon et son développement peuvent entraîner une production excessive de H_2O_2 , ce qui provoque des dommages aux cellules végétales (**Habibi, 2014**). Des études antérieures ont révélé qu'un des mécanismes par lesquels les agents de biocontrôle améliorent la résistance aux maladies consiste à réguler le niveau des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les tissus végétaux (**Akansha, 2014 ; Xiaoyun, 2022**).

L'objectif de ce chapitre est de mettre en évidence l'effet de *T. atroviride* dans la régulation du niveau de peroxyde d'hydrogène chez les plants de blé infectés par *F. culmorum*. Nous avons focalisé sur une étude histologique et biochimique en mesurant le H_2O_2 dans les parties basales et les feuilles des plants de blé.

1. Matériel et méthodes

1.1 Détection histochimique du peroxyde d'hydrogène dans les feuilles de blé

Pour la détection histologique du peroxyde d'hydrogène dans les feuilles de blé, nous avons utilisé la méthode de coloration de 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) décrite par **Thordal-Christensen *et al.* (1997)** et qui a été légèrement modifiée par **Liu *et al.* (2012)** pour s'adapter aux feuilles de blé. Après 15 jours de l'inoculation du pathogène, une feuille est choisie au hasard de chaque répétition d'un traitement. Les feuilles de blé ont été coupées en petits segments de 1,5 cm destinés directement à la coloration.

Les segments des feuilles de chaque traitement (témoins, plants inoculés seulement par le pathogène, inoculés seulement par Ta13, co-inoculés par Ta13 et le pathogène) ont été immédiatement placés dans des tubes contenant un volume 5ml d'une solution d'une concentration de 1mg/ml d'acide 3,3 'diaminobenzidine-chlorhydrique (pH=3,8). Les tubes sont ensuite placés dans un dessiccateur pendant 30 minutes, puis rincés avec de l'eau distillée. Après le rinçage à l'eau distillée, les feuilles ont été mises sur du papier absorbant saturé d'une solution de fixation (éthanol / acide acétique 3:1) puis sont laissées tremper dans l'éthanol pendant au moins 24h pour décolorer les feuilles. Ces dernières sont ensuite transférées sur du papier absorbant saturé d'une solution de lactoglycérol (acide lactique/glycérol/H₂O 1:1:1). Après ce traitement, les segments seront examinés après quelques heures d'incubation à température ambiante, et l'accumulation de H₂O₂ sera observée au microscope (G: x1000 ou x400). L'intensité de la coloration au DAB sera classée en 4 catégories. Classe 0 : les feuilles ne présentent aucune coloration au DAB, classe 1 : faible intensité de coloration, classe 2 : intensité moyenne, classe 3 : forte intensité.

1.2 Estimation de la teneur en peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et les parties basales de la plante

Par conséquent, le peroxyde d'hydrogène peut être quantifié par une méthode spectrophotométrique en suivant l'absorption de I₃.

Les niveaux de présence du peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et les parties basales des plants de blé ont été estimés selon la méthode de **Sergiev *et al.*, (1997)**. Cette méthode repose sur l'oxydation de l'iodure de potassium (IK) par H₂O₂ en milieu acide. Lorsque le peroxyde d'hydrogène est ajouté à une solution incolore d'iodure de potassium (IK), les ions

d'iodure (I^-) sont lentement oxydés en iode (I_2) selon l'équation : $2I^- + 2H^+ + H_2O_2 \rightarrow I_2 + 2H_2O$. En présence d'iodure, l'iode réagit pour former du tri-iodure, (I_3^-) selon l'équation : $I_2 + I^- \rightarrow I_3^-$ ce qui donne une coloration jaunâtre.

Le 15^{ème} jour après l'inoculation, une quantité de 500mg de la matière fraîche, choisie au hasard de chaque pot d'un traitement, est homogénéisée dans un mortier à glace avec 5ml d'une solution de 0.1% (w/v) de l'acide trichloracétique (TCA). Les extraits sont récupérés et mis dans des tubes Eppendorf. L'ensemble est centrifugé à 12000g pendant 15 min à 4° C, ensuite un volume de 0,5ml du surnageant a été ajouté à 0,5ml du tampon phosphate de potassium 10 mM (pH=7,0) et 1ml d'iodure de potassium (1M). L'absorption du peroxyde d'hydrogène été lue à 390nm, avec un spectrophotomètre à UV. La teneur en H_2O_2 a été donnée sur une courbe standard et exprimée par $\mu\text{mol.ml}^{-1}$ de matière fraîche.

La courbe d'étalonnage est dessinée à partir des concentrations connues de peroxyde d'hydrogène, et la concentration de peroxyde d'hydrogène de l'échantillon est calculée selon la formule :

$$[H_2O_2] = \frac{\text{absorbance} - b}{m}$$

$[H_2O_2]$: est la concentration de H_2O_2 dans les extraits végétaux ;

m : est la pente de la courbe d'étalonnage ;

b : l'absorbance lorsque la concentration de H_2O_2 est nulle.

2. Résultats

2.1 Histolocalisation du peroxyde d'hydrogène

L'examen de coloration par le DAB a montré que les feuilles des plants témoins et des plants traités seulement par *Trichoderma*, des trois variétés de blé, ne présentent aucune coloration par le DAB. Cependant, l'inoculation par le pathogène seul et la co-inoculation par l'antagoniste et *F. culmorum* montre une coloration marron dans les nervures principales des feuilles avec une différence dans l'intensité entre les plants co-inoculés par le pathogène *F. culmorum* et l'antagoniste Ta.13 et les plants inoculés seulement par *F. culmorum* qui ont

montré le degré le plus élevé (**Fig 19**). En comparant les trois variétés, nous avons enregistré une faible coloration marron chez les feuilles des variétés Waha et Ain Abid, co-inoculées, par rapport aux feuilles de la variété Vitron où chez cette dernière la coloration était intense (**Fig 19**).

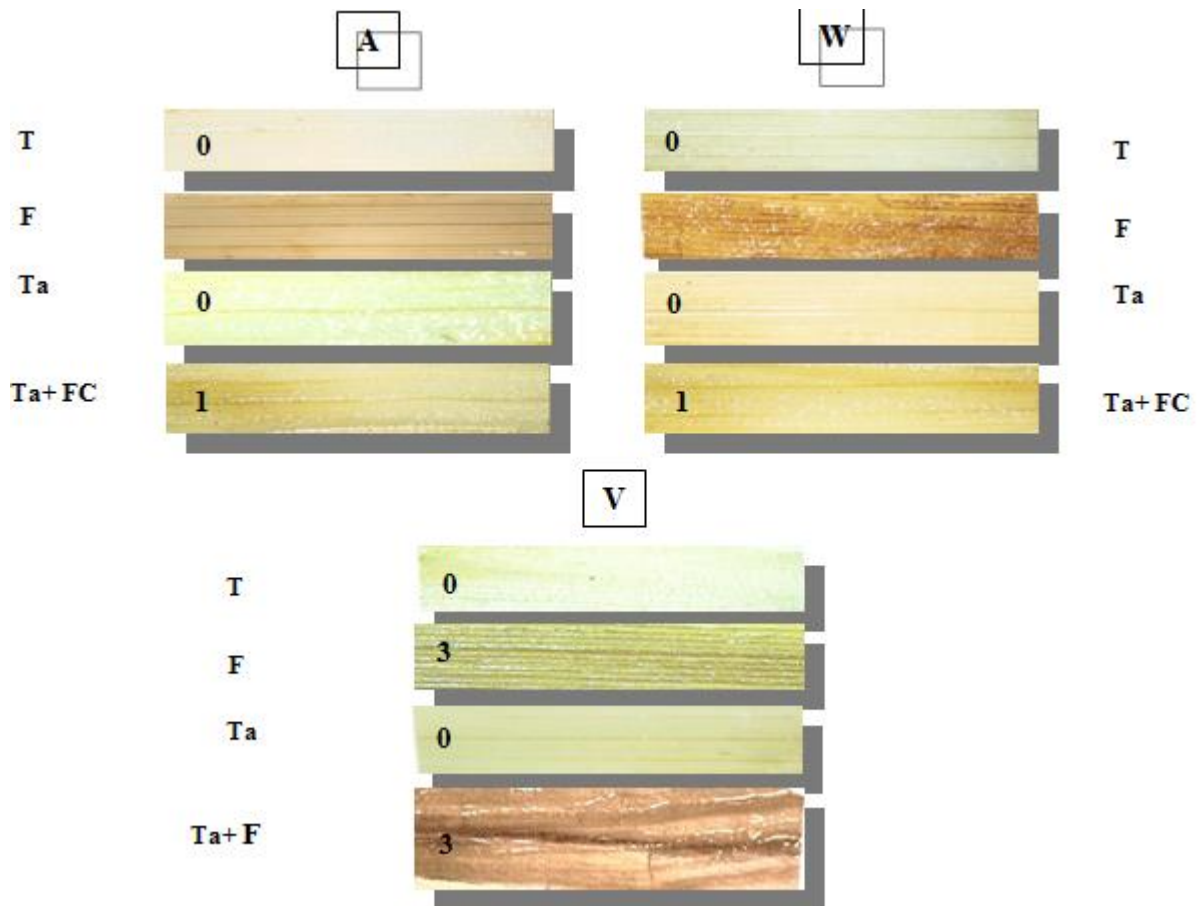


Figure 19. La coloration par le DAB qui montre les différents degrés d'accumulation de H_2O_2 dans les feuilles de blé des trois variétés.

- A: variété Ain Abid ; W: variété Waha, V: variété Vitron, T: feuilles témoins ; F: feuilles des plants inoculés par le pathogène seul ; Ta: feuilles des plants inoculés traités seulement par Ta13 ; Ta+ F : les feuilles des plants co-inoculées par Ta13 et *F. culmorum* ; 0, aucune accumulation de DAB ; 1, faible accumulation ; 3, forte accumulation de DAB.

2.2 Le taux du peroxyde d'hydrogène

Les résultats présentés dans la **figure.20** montrent une variation du taux de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en fonction du traitement, de la variété de blé et de l'organe analysé. Une accumulation significative de cette molécule a été observée dans les plants témoins non inoculés de toutes les variétés, avec une concentration plus élevée dans les feuilles par rapport aux parties basales.

En comparant aux témoins non inoculés, l'inoculation par le pathogène a entraîné une augmentation significative ($P < 0,001$) du taux de peroxyde d'hydrogène chez les plants des trois variétés infectées seulement par *F. culmorum*. Les pourcentages d'accumulation ont été particulièrement élevés dans les parties basales de la variété Waha (223%), suivies des parties basales de la variété Ain abid (167,21%). En revanche, la variété Vitron a montré les valeurs d'accumulation les plus faibles, avec une augmentation de 84,85% dans les feuilles et 34 % dans les parties basales (**Fig.20**).

Il est à noter que le traitement par *Trichoderma* seul a faiblement stimulé la synthèse du peroxyde d'hydrogène dans les feuilles de la variété Ain Abid (54%) et les feuilles de Waha (12%) et une diminution a même été enregistrée chez la variété Vitron (-34%), par rapport aux témoins. Au niveau des parties basales, la valeur la plus élevée étant enregistrée chez la variété Waha (250%), suivi par Vitron (80%) (**Fig.20**).

Par rapport aux plants inoculés par le pathogène seul, la co-inoculation a conduit à une réduction significative du niveau du peroxyde d'hydrogène dans les collets et les feuilles des trois variétés ($P \leq 0,05$), à l'exception des collets de Vitron qui ont connu une augmentation de 52%. Les feuilles et les collets des variétés co-inoculés par Ta13 et *F. culmorum* ont enregistré une diminution significative du niveau de H₂O₂ de 63% dans les collets de la variété Ain Abid, suivi des feuilles des variétés Waha et Vitron (-50% et -34% respectivement), par rapport aux plants inoculés avec le pathogène seul. Cependant, nous avons enregistré une augmentation de 52% dans les parties basales de la variété Vitron (**Fig.20**).

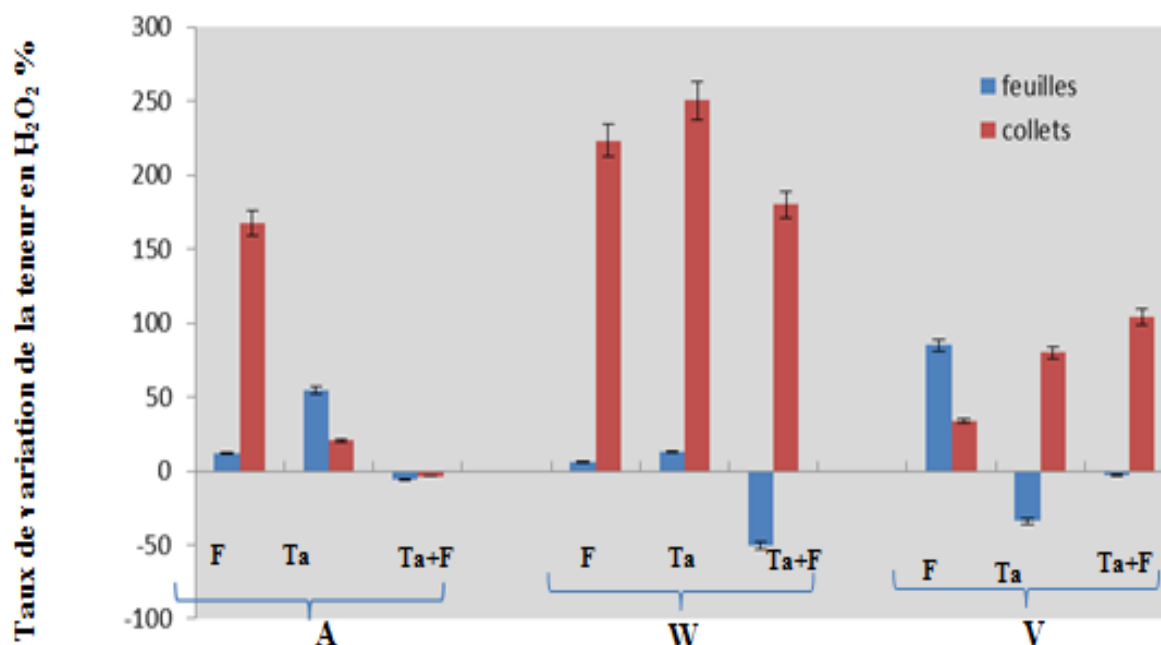


Figure 20. Variation du taux de peroxyde d'hydrogène sous l'effet de l'isolat Ta.13 de *T. atroviride* dans les feuilles et les parties basales des variétés de blé. F= plants inoculés avec *F. culmorum* seul, Ta = plants traités avec Ta.13 seul, Ta+F = plants co-inoculés avec Ta.13 et *F. culmorum*, A = Ain Abid, W = Waha, V = Vitron

Discussion

Les espèces réactives d'oxygène jouent un rôle important dans la résistance des plantes aux stress biotiques. Ces ROS agissent en limitant la propagation du pathogène, en induisant la fermeture des stomates, la destruction des cellules infectées, la lignification et le renforcement de la paroi cellulaire, ainsi que par l'activation de la réaction d'hypersensibilité lors d'une interaction incompatible plante-pathogène (Shoresh *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2012b).

L'extraction et le dosage chimique ont permis de détecter le peroxyde d'hydrogène dans les collets et les feuilles des plants témoins des trois variétés de blé, montrant ainsi que son rôle ne se limite pas à la résistance de la plante aux stress, mais aussi qu'il intervient probablement dans plusieurs processus cellulaires de la plante. À faible concentration, le peroxyde d'hydrogène est important comme élément régulateur de la croissance et du développement des organes et des cellules de la plante (Bell *et al.*, 2009 ; Swanson et Gilroy, 2010). Il joue également un rôle d'électron de transport dans les chloroplastes, les mitochondries, le réticulum endoplasmique et la membrane plasmique, ainsi que dans la photorespiration et la β -oxydation,

qui sont les principales sources de régénération de cette molécule. Grâce à sa capacité de diffusion membranaire sur de longues distances, le peroxyde d'hydrogène entre également dans la lignification, la subérisation et dans d'autres processus spécifiques comme la tolérance aux stress environnementaux et biotiques (**Schmitt et Allakhverdiev, 2017**).

En tant que réponse de l'hôte, la technique de coloration de DAB a permis de détecter le peroxyde d'hydrogène dans les tissus des feuilles de blé, avec une coloration plus intense observée suite à une inoculation par le pathogène seul par rapport aux témoins. Cette détection confirme que la production de peroxyde d'hydrogène fait partie des mécanismes de défense systémique inductibles à l'égard des stress biotiques (**Muhammad et al., 2018**). L'accumulation de H₂O₂ peut également être due à la désorganisation cellulaire suite à une privation de nutriments par le pathogène (**Tripathy et Oelmüller, 2012**).

Certaines théories rapportent que l'accumulation de H₂O₂ peut se faire autour de la zone de l'infection dans les cellules subissant une réaction hypersensible, au fur et à mesure que l'hyphe fongique se développe dans la mésophylle des parois cellulaires de la plante (**Tripathy et Oelmüller, 2012 ; Tan et al., 2024**).

La variation d'intensité de la coloration obtenue par la technique DAB dans les nervures des trois variétés indique que les variétés tolérantes (Waha et Ain Abid) produisent H₂O₂ à un niveau plus élevé que la variété sensible (Vitron). Cette observation a été confirmée par l'extraction et le dosage du peroxyde d'hydrogène, qui ont montré une accumulation significativement plus élevée ($P < 0,05$) dans les collets des variétés tolérantes (Waha et Ain Abid) par rapport à la variété sensible (Vitron). **Liu et al. (2010)** ont également rapporté des résultats similaires chez le blé infecté par *Fusarium graminearum*. De plus, l'accumulation plus forte de H₂O₂ dans les collets par rapport aux feuilles des variétés tolérantes d'orge suggère que cette molécule pourrait inhiber la croissance de l'agent causal de l'oïdium (*Erysiphe graminis* f. sp. hordei) en limitant ses effets nuisibles. Ainsi, l'accumulation de H₂O₂ dans les collets pourrait jouer un rôle défensif en restreignant la croissance du champignon à la surface et en activant des mécanismes de défense locaux (**Thordal-Christensen et al., 1997**). Chez les feuilles des plants de blé co-inoculés, la coloration au DAB était moins intense, que chez les plants inoculés par le pathogène seul. Ce résultat semble soutenir le modèle selon lequel le traitement avec *Trichoderma* minimise le stress pathogénique en induisant systématiquement la protection physiologique des plantes contre les dommages oxydatifs (**Jalali, et al, 2017**). Dans ce même

traitement, les variétés Waha et Ain Abid présentaient une coloration plus faible par rapport à Vitron, ce qui explique que le mécanisme de nettoyage du surplus des espèces ROS est lié à la variété de la plante elle-même.

En effet, l'estimation quantitative montre que le prétraitement par *T. atroviride* a diminué le taux de l' H_2O_2 chez les plants co-inoculés par rapport aux plants inoculés par le pathogène seul, ce qui confirme ainsi que cette diminution contribue aux effets protecteurs exercés par l'antagoniste sur les variétés de blé. Selon Garcia-Limones *et al.*, 2002 ; Djebali *et al.*, 2007 ; Singh *et al.*, 2011 ; Sharma *et al.*, 2012), la diminution du taux de l' H_2O_2 pourrait également être due à une stimulation de l'accumulation de protéines et de composés antioxydants par l'antagoniste *T. atroviride*.

Plusieurs études ont obtenu des résultats similaires en utilisant des espèces de *Trichoderma* comme agent protecteurs à l'égard des stress biotiques ou abiotiques. Singh *et al.*, (2011) ont observé une augmentation multiple des niveaux des radicaux $HO\cdot$ et $O_2\cdot-$ chez les plants de tournesol contaminés par *Rhizoctonia solani*, alors que ces niveaux étaient réduits chez les plants traités par *T. harzianum*. Ceci indique que la prévention de l'augmentation de la production des ROS pourrait être due à l'accumulation de protéines antioxydantes et de composés antioxydants, notamment des composés phénoliques.

D'autres travaux ont également montré une réduction des ROS en cas des stress abiotiques sous l'effet de *Trichoderma*. Par exemple, Yasmeen et Siddiqui (2017) ont constaté une diminution significative de la concentration en H_2O_2 chez les plants de maïs et de riz soumis à un milieu salin et traités par *Trichoderma*, alors que la teneur en peroxyde d'hydrogène était élevée chez les plants stressés par différents niveaux de salinité et non traités par l'antagoniste. De même, Ahmad *et al.* (2015) ont observé une faible accumulation de H_2O_2 chez la moutarde indienne (*Brassica juncea* L. Czern.) traitée avec *T. harzianum* en combinaison avec du NaCl, par rapport aux plants non traités soumis au même niveau de salinité.

Conclusion

Dans ce chapitre, on peut conclure que *T. atroviride* a exercé l'un de ses mécanismes indirects pour améliorer la capacité de résistance des plants de blé contre *F. culmorum* en régulant le niveau de peroxyde d'hydrogène. Cette régulation était systémique et dépendait de la variété de blé, avec une efficacité notable chez les variétés Waha et Ain Abid pour éliminer

l'excès de peroxyde d'hydrogène, suggérant que cette réponse peut être liée à la génétique de la plante.

Chapitre VI : L'interaction entre les
paramètres physiologiques et
biochimiques étudiés

Introduction

Les résultats obtenus dans les chapitres précédents, après une étude histologique et biochimique, ont montré que le prétraitement des grains de blé par *T. atroviride* et l'inoculation par *F. culmorum* est accompagné d'une régulation du niveau du peroxyde d'hydrogène. Cela s'est manifesté peut être par une augmentation, pour qu'il joue le rôle de la molécule signal, ou par un nettoyage en cas d'excès d'accumulation. Ces résultats ont également révélé que cet agent antagoniste est généralement lié à une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes (catalase et peroxydase), ainsi qu'à une augmentation des protéines et des composés phénoliques.

Concernant l'aspect physiologique, le prétraitement par *T. atroviride* a amélioré le taux de la chlorophylle et a diminué l'indice de la maladie chez les plants infectés. Ces résultats est conforme avec l'hypothèse, selon laquelle la production du H₂O₂, observée au cours de l'infection, pourrait agir comme une molécule signal incitant la plante à se défendre, en déclenchant son système antioxydants (enzymatique ou non enzymatique) (Zago *et al.* 2006 ; Parent *et al.*, 2008 ; Vlot *et al.* 2008 ; Kovalchuk, 2011 ; Sharma *et al.*, 2012). Il est également possible que le traitement par *T. atroviride* soit associé à une modulation des activités de la catalase et de la peroxydase, lesquelles semblent jouer un rôle dans la régulation des niveaux de H₂O₂ dans les feuilles et les collets des plants de blé.

L'objectif de ce chapitre consiste à examiner les relations entre l'effet de *T. atroviride* sur la protection du blé vis-à-vis de *F. culmorum* (réduction de l'indice de la maladie d'une part) et sur les enzymes antioxydantes (peroxydase et catalase) ainsi que le niveau de H₂O₂ dans les tissus des plants inoculés par *F. culmorum* d'autre part.

En effet, le coefficient de corrélation de Pearson a été calculé, en utilisant le logiciel Statistica Version 6.1, pour étudier les relations suivantes :

- Le taux du peroxyde d'hydrogène et l'indice de la maladie
- Le taux du peroxyde d'hydrogène et le taux de la chlorophylle
- Le taux du peroxyde d'hydrogène et l'activité enzymatique (la catalase et la peroxydase)
- le taux du peroxyde d'hydrogène et la teneur en polyphénols

Les corrélations concernent uniquement les plants inoculés seulement par le pathogène et les plants co-inoculés par l'agent antagoniste et le pathogène des trois variétés utilisées dans la présente étude.

1. Résultats

Les résultats obtenus dans les chapitres précédents ont révélé que l'inoculation par le pathogène entraîne une augmentation de l'activité des enzymes antioxydantes, notamment la peroxydase et la catalase, plus particulièrement chez les variétés Waha et Ain bid. En parallèle à ces augmentations, nous avons enregistré une variation du taux de H₂O₂ dans les feuilles et les collets des plants de blé. De plus, le prétraitement par l'antagoniste a conduit à une augmentation significative de l'activité de ces enzymes, ce qui a provoqué une diminution, voire parfois une augmentation du peroxyde d'hydrogène chez les plants de blé co-inoculés, par rapport à ceux inoculés uniquement par le pathogène. l'effet variétal dans ces interactions a été noté.

De ce fait, l'agent antagoniste a induit une protection des plants de blé infectés par l'agent pathogène *F. culmorum* en diminuant l'indice de la maladie et en améliorant leurs aspects physiologiques, par une amélioration du contenu chlorophyllien, le poids sec, le poids frais, la teneur en eau et le taux d'émergence. Selon **Orozco-Cárdenas et al. (2001)** et **Quan et al., (2008)**, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) peut agir comme un messager secondaire dans les voies de signalisation, conduisant à l'induction des enzymes antioxydants. L'agressivité de l'agent pathogène peut aboutir à un excès de son accumulation qui peut endommager les tissus et augmenter l'indice de la maladie chez les plants infectés. Néanmoins, l'agent antagoniste *Trichoderma* peut intervenir indirectement dans la protection des plants de blé, par une régulation du niveau du peroxyde d'hydrogène.

Nous avons analysé les corrélations entre plusieurs paramètres impliqués dans le système de défense des plantes, notamment le taux de peroxyde d'hydrogène, l'indice de maladie, le taux de chlorophylle, l'activité enzymatique et la teneur en polyphénols.

Les résultats ont montré une association entre l'augmentation du taux de peroxyde d'hydrogène dans les parties basales et l'activité catalytique de la peroxydase dans ces mêmes parties ($r=0,71$; $P<0,05$), ainsi que dans les feuilles ($r=0,79$; $P<0,05$) (**Fig. 21A et 21B**). Une augmentation de l'activité catalytique de la catalase a également été constatée dans les feuilles, en relation avec une diminution du taux de peroxyde d'hydrogène dans ces mêmes feuilles (**Fig.**

22). De plus, les résultats ont mis en évidence une corrélation positive entre le taux de peroxyde d'hydrogène dans les feuilles et l'indice de maladie ($r=0,54$; $P<0,05$) (**Fig. 23**).

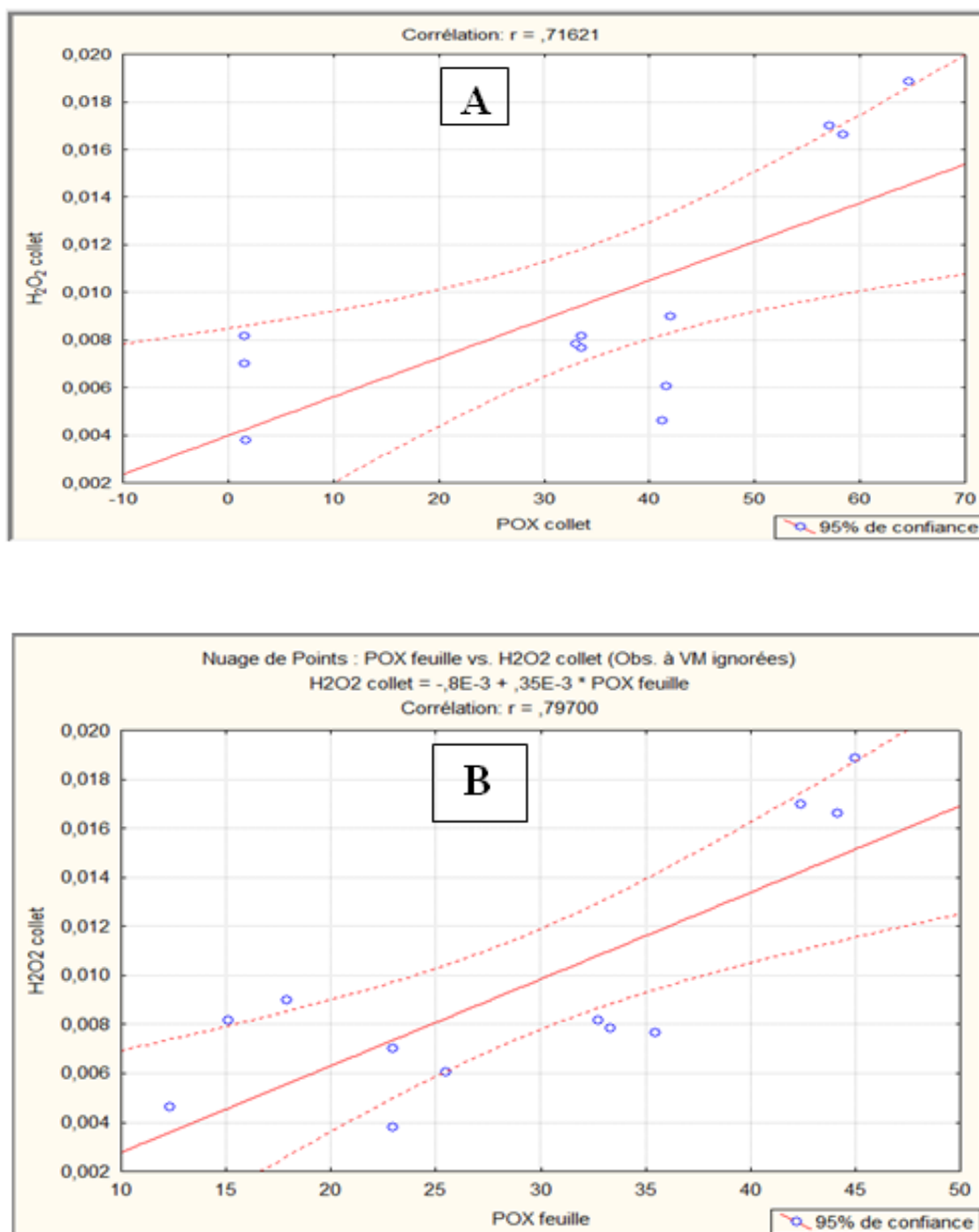


Figure 21. La relation entre le taux du peroxyde d'hydrogène et l'activité de l'enzyme de peroxydase chez les trois variétés de blé.

- A: entre le taux de l' H_2O_2 dans les collets et le taux de la peroxydase dans les collets ;
- B: entre le taux de l' H_2O_2 dans les collets et le taux de la peroxydase dans les feuilles.

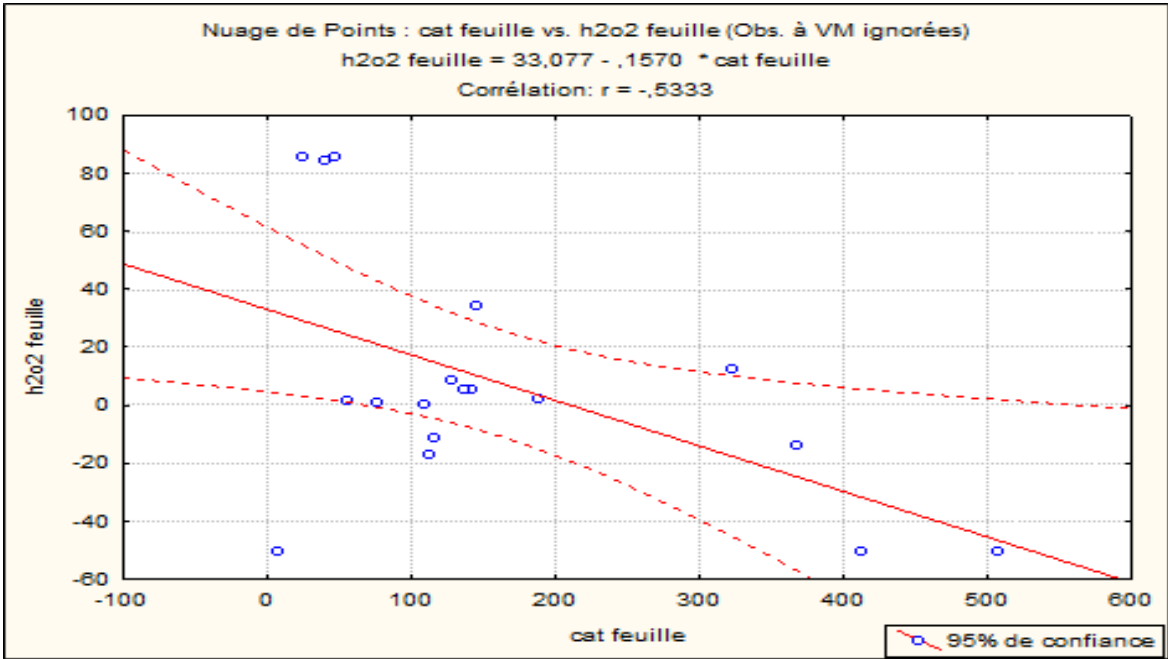


Figure 22. La relation entre le taux du peroxyde d’hydrogène et l’activité de l’enzyme de catalase chez les trois variétés de blé

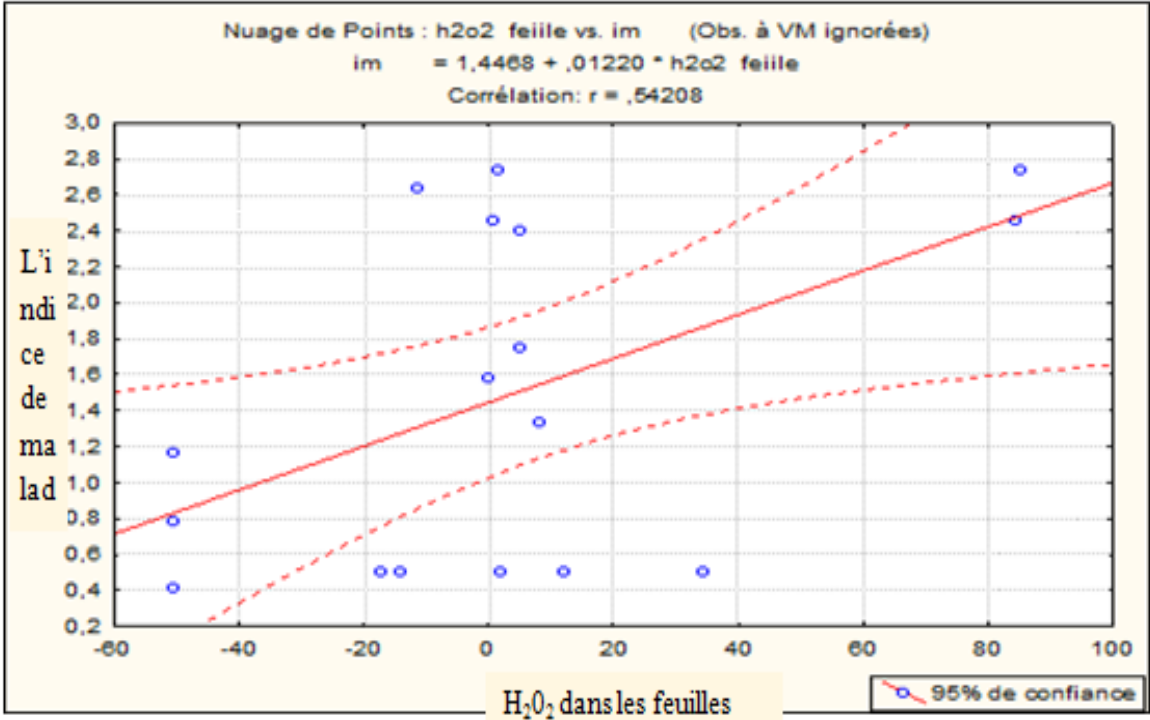


Figure 23. Les corrélations entre le taux de peroxyde d’hydrogène dans les feuilles et l’indice de la maladie chez les trois variétés du blé.

Discussion

Vu la multifonctionnalité des enzymes antioxydants et les espèces réactives d'oxygène, l'étude de l'interaction entre eux durant la réponse de la plante au stress est complexe. Dans cette optique, nous avons exploité les résultats des chapitres précédents et nous avons trouvé que le stress causé par l'agent pathogène *F. culmorum* s'associe à une production accrue du peroxyde d'hydrogène, parallèlement à une augmentation de l'activité de la catalase et de la peroxydase, particulièrement pour les variétés tolérantes (Waha et Ain abid). En effet, la corrélation positive significative entre le niveau du H₂O₂ dans les collets et l'activité de la peroxydase dans les feuilles concorde avec les résultats obtenus par **Desikan *et al.* (2000)** et **Blokhina *et al.*, (2003)**, qui suggèrent que les ROS, en faibles concentrations, notamment le H₂O₂, participent potentiellement à la signalisation et à l'induction systémique du système antioxydant.

Toutefois, le stress pathologique exige une plus grande production et dépense d'énergie par un catabolisme accru qui génère du H₂O₂ et qui peut créer, par la suite, un déséquilibre entre ces molécules et le système antioxydant de la plante (**Jiang et Miles, 1993 ; Lebeda *et al.*, 2001 ; Mlícková *et al.*, 2004**).

Dans les chapitres précédents, nous avons conclu que *Trichoderma* a induit l'activité de la catalase et de la peroxydase et en même temps a diminué le niveau du H₂O₂ particulièrement chez les variétés considérées comme tolérantes (Waha et Ain abid). La corrélation négative entre ces paramètres suggère une relation potentielle entre le niveau de H₂O₂ et le système antioxydant induit par l'antagoniste chez les plants co-inoculés. Le H₂O₂, connu pour sa toxicité élevée, peut entraîner l'oxydation des macromolécules biologiques, telles que les lipides, les protéines et les acides nucléiques, provoquant ainsi des phénomènes tels que la peroxydation des lipides, des dommages aux membranes et l'inactivation des enzymes. Pour limiter les effets délétères des ROS, dont le H₂O₂, qui peuvent causer des dommages aux plantes et potentiellement perturber leur système de défense, les cellules végétales ont développé des mécanismes de défense antioxydants. Ces mécanismes incluent notamment des enzymes comme la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la peroxydase (POX) (**Wang *et al.*, 2007**).

Ces résultats sont en accord avec des résultats antérieurs obtenus avec de nombreux agents de lutte biologique. **Singh *et al.* (2011)** et **Chen *et al.* (2019)** ont rapporté que les niveaux élevés de protéines antioxydantes, stimulés par *T. atroviride*, ont joué un rôle important dans la

réduction des dommages oxydatifs causés par une surproduction du H₂O₂ dans le mécanisme de lutte biologique contre les agents pathogènes fongiques.

En effet, la catalase est une enzyme importante qui entre dans le catabolisme de l'H₂O₂. Cette enzyme présente une double activité catalytique. La première représente une activité hyperoxydase lorsqu'elle catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène, donnant de l'eau et de l'oxygène. La seconde est l'activité de peroxydant, lorsqu'une molécule de peroxyde d'hydrogène et une molécule de donneur d'hydrogène servent de substrats utilisés par l'enzyme. La catalase joue le rôle d'un POX spécifique protégeant les cellules des effets de l'H₂O₂ (Mlícková *et al.* 2004). Alors que, la peroxydase localisée sur la paroi cellulaire peut produire des ROS déclenchés lors de l'attaque d'un pathogène et qui peuvent fonctionner pour réticuler les glycoprotéines des parois et toxifier l'apoplaste (Andrew et Robert, 1997).

Chez la variété sensible (Vitron), une très faible production de H₂O₂ correspondait à la fois à de faibles changements de l'activité de peroxydase et à une faible activité de la catalase que ce soit chez les plants infectés par le pathogène seul ou chez les plants co-inoculés, ce qui explique l'indice élevé de la maladie pour cette variété selon Mlícková *et al.* (2004).

Les résultats obtenus montrent également, qu'en situation de stress, l'augmentation du peroxyde d'hydrogène est accompagnée d'une diminution du pourcentage de la chlorophylle et d'une augmentation de l'indice de la maladie. Par contre, le traitement par *T. atroviride* a eu un effet inverse, en diminuant le pourcentage des ROS, en améliorant le niveau de chlorophylle et en diminuant l'indice de la maladie chez les variétés marquées tolérantes. Cela peut être expliqué par le fait que le stress biotique, tel que l'attaque d'agents pathogènes, peut endommager les tissus végétaux (Karpinski *et al.*, 2003). Ce qui peut entraîner la libération de la chlorophylle des membranes thylacoïdes. Dans une telle situation, les chlorophylles doivent être dégradées rapidement pour éviter les dommages cellulaires par leur action photodynamique (Takamiya *et al.*, 2000). Ainsi, un échec dans la dégradation de la chlorophylle peut augmenter la quantité des ROS produites à un point donné et la capacité de détoxification par les systèmes antioxydants peut être annulée. Les molécules toxiques formées peuvent endommager les organes et entraîner la mort des cellules. Elles peuvent aussi agir comme des signaux cellulaires (Foyer *et al.*, 1994). Il est donc essentiel que la dégradation de la chlorophylle soit à la fois efficace et étroitement régulée (Matile et Hörtensteiner, 1999 ; Takamiya *et al.*, 2000). Cependant, les différents composants du système antioxydant sont diversifiés dans leur capacité de piégeage, non seulement en termes de spécificité et d'affinité envers les différentes espèces

ROS, mais aussi par leur localisation sub-cellulaire distincte à proximité des sites de production des ROS. Les péroxysomes, les chloroplastes et les mitochondries sont des organites qui ont des activités métaboliques fortement oxydantes ou des taux intenses de flux d'électrons et sont par conséquent des sources majeures de production des ROS dans les cellules végétales. Il n'est donc pas surprenant que ces compartiments sub-cellulaires contiennent diverses enzymes de piégeage des ROS (Mittler *et al.*, 2011).

Conclusion

Au terme de cette étude et malgré la complexité de comprendre la relation entre les différents paramètres étudiés, on peut conclure que l'induction de la protection des plantes de blé par l'agent antagoniste *T. atroviride* est corrélée avec l'induction d'autres paramètres biochimiques et physiologiques liés à la tolérance de la plante au *F. culmorum*.

Conclusion générale

Le blé est considéré comme l'aliment principal consommé par la population algérienne. Cependant, sa culture est confrontée à divers obstacles biologiques et environnementaux, notamment la pourriture du collet, une maladie redoutable entraînant d'importantes pertes économiques. Cette maladie est considérée comme chronique dans les pays où les conditions sont favorables à son développement, à savoir la monoculture et la sécheresse. Ces conditions sont réunies dans la plupart des régions où la culture du blé est concentrée en Algérie. Jusqu'à présent, la lutte chimique de cette maladie est basée sur l'utilisation de fongicides appliquées sur la semence assurant la protection uniquement au début cycle du blé (stade plantules). Par conséquent, il est impératif d'adopter des approches alternatives préservant l'environnement et la santé. Pour cette raison, nous avons opté pour *Trichoderma atroviride*, un agent biologique efficace selon des études antérieures. Cet agent antagoniste a contribué à l'inhibition de plusieurs agents pathogènes grâce à sa capacité à croître autour des racines et à la production de substances antifongiques, ainsi qu'en induisant la résistance et la croissance des plantes de manière indirecte.

Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré dans un premier temps, l'effet protecteur de l'espèce *T. atroviride* sur les variétés du blé utilisées à l'égard de l'agent causal de la pourriture du collet. Parallèlement, des paramètres biochimiques et physiologiques ont été étudiés, suggérant qu'ils sont impliqués dans les mécanismes d'induction de la résistance chez le blé à l'égard de la pourriture du collet par l'agent antagoniste Ta13 de l'espèce *T. atroviride*.

Dans le deuxième chapitre, les résultats du test *in vivo* réalisé dans des pots sur les trois variétés de blé (Waha, Ain Abid et Vitron) ont montré que l'isolat Ta13 a réduit de manière significative l'incidence de la pourriture du collet par rapport aux plants du blé inoculés avec le pathogène seul. La variété Waha a présenté selon notre étude, le niveau de protection le plus élevé parmi les trois variétés utilisées, avec un pourcentage de réduction de 56%. Cette différence de réponse entre les variétés peut être éventuellement attribuée à l'existence d'un effet génotype blé sur la performance de l'agent antagoniste dans la protection à l'égard de la maladie.

L'étude de l'effet de l'agent antagoniste sur les paramètres de croissance du blé, abordée dans la troisième partie de la thèse, révèle que l'utilisation de l'agent antagoniste *Trichoderma* peut constituer une solution prometteuse pour améliorer divers aspects de la croissance. Cette

amélioration concerne notamment le poids frais, le poids sec, la surface foliaire, le taux d'humidité, le taux de chlorophylle et le taux d'émergence. Les résultats obtenus montrent que les taux augmentation des paramètres étudiés les plus significatives sont observés chez les plantes co-inoculés de la variété Waha, suivies par celles de la variété Ain Abid. Ainsi, dans la présente étude, il est également montré l'existence de l'effet génotype sur la réponse des variétés de blé par rapport au pouvoir bio-stimulant de l'isolat Ta.13 de l'espèce *T. atroviride*.

Dans le quatrième chapitre, afin de comprendre les mécanismes impliqués dans la protection du blé à l'égard de *F. culmorum* par l'antagoniste, nous avons focalisé notre étude sur quelques paramètres liés à la résistance tels que les protéines totales, les polyphénols et les activités des enzymes antioxydantes catalase et peroxydase. Les résultats obtenus ont montré que Ta13 a induit de manière systémique (la partie basale et les feuilles) l'activité de la catalase, des peroxydases ainsi que le taux des polyphénols. Les meilleures inductions selon notre étude sont toujours observées chez les variétés Waha et Ain Abid par rapport à la variété Vitron.

Les résultats obtenus après l'utilisation de la technique de la coloration DAB et le dosage de la teneur en peroxyde d'hydrogène, présentés dans le cinquième chapitre, montrent que selon notre étude, les variétés considérées comme les plus tolérantes à la maladie (Waha et Ain Abid), où *T. atroviride* a été utilisé, ont bénéficié de l'un de ses mécanismes indirects pour renforcer la capacité de défense de la plante à l'égard de *F. culmorum*. Cela s'est manifesté par une induction systémique de la régulation du niveau du peroxyde d'hydrogène. Cette induction était probablement liée à la variété de blé, et les variétés Waha et Ain Abid ont montré une efficacité notable dans l'élimination du surplus de peroxyde d'hydrogène par l'antagoniste par rapport à la variété Vitron. Ceci suggère que cette réponse pourrait être liée aux caractéristiques génétiques spécifiques de la variété.

L'étude de la corrélation entre les différents paramètres liés à l'induction de résistance des plants de blé, dans le dernier chapitre, a permis de suggérer selon notre étude que l'agent antagoniste *T. atroviride* joue un rôle essentiel dans la protection du blé contre *F. culmorum*. Cela se manifeste par sa capacité à réguler les niveaux de peroxyde d'hydrogène, à activer les enzymes antioxydantes, ainsi qu'à améliorer la nutrition et la croissance de la plante.

Les résultats de cette étude ont mis en lumière plusieurs perspectives importantes :

1. Recherche approfondie sur les mécanismes d'action de *T. atroviride* dans la protection à l'égard de la maladie en explorant son effet sur d'autres paramètres biochimiques

éventuellement associés à la résistance. Ceci permettrait de mieux comprendre les interactions entre l'agent de biocontrôle, les plantes hôtes et les pathogènes ciblés. Effectuer des études protéomiques et métabolomiques permettant d'analyser et de doser l'ensemble des protéines et métabolites impliqués dans les mécanismes de défense des plantes co-inoculées, et de les comparer avec les plants inoculés uniquement par le pathogène.

2. Réalisation d'essais sur le terrain à grande échelle pour valider l'efficacité de *Trichoderma* dans différents environnements et conditions climatiques, ainsi que la recherche sur la durabilité de son utilisation, en examinant ses effets à long terme sur la santé des sols, la biodiversité microbienne et la résistance des cultures aux maladies.
3. Exploration de l'efficacité de *T. atroviride* contre d'autres pathogènes affectant le blé ou d'autres cultures importantes en Algérie.
4. Formulation de *T. atroviride* (Ta.13) sous forme d'un produit commercialisable, qui pourrait être intégré dans les programmes de la gestion de la maladie comme biopesticide et biofertilisant.
5. Puisque le peroxyde d'hydrogène est un indicateur important dans la détermination de l'état sanitaire des plantes, il recommander d'explorer la possibilité de fabriquer un appareil portatif simple à utiliser par les agriculteurs. Cet appareil permettrait de doser ce métabolite ainsi que d'autres, similaire à un chlorophyllomètre. Ce type d'appareil permettrait de surveiller la santé des plantes quotidiennement, sans nécessiter des analyses coûteuses et destructrices.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., & Boureghda, 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*, 499-512.
2. Alahmad S., Simpfendorfer S., Bentley A.R. *et al.* (2018). Crown rot of wheat in Australia: *Fusarium pseudograminearum* taxonomy, population biology and disease management. *Australasian Plant Pathol.* *47*, 285–299.
3. Alahmad, S., Simpfendorfer, S., Bentley, A. R., & Hickey, L. T. (2018). Crown rot of wheat in Australia: *Fusarium pseudograminearum* taxonomy, population biology and disease management. *Australasian Plant Pathology*, *47*, 285-299..
4. Ali, M., Cheng, Z., Ahmad, H., & Hayat, S. (2018). Reactive oxygen species (ROS) as defenses against a broad range of plant fungal infections and case study on ROS employed by crops against *Verticillium dahliae* wilts. *Journal of plant interactions*, *13*(1), 353-363.
5. Allan, A. C., & Fluhr, R. (1997). Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. *The Plant Cell*, *9*(9), 1559-1572.
6. Almansoori, T., Salman, M., & Aljazeri, M. (2021). Rapid and nondestructive estimations of chlorophyll concentration in date palm (*Phoenix dactylifera* L.) leaflets using SPAD-502+ and CCM-200 portable chlorophyll meters. *Emirates Journal of Food & Agriculture (EJFA)*, *33*(7).
7. Altomare, C., Norvell, W. A., Björkman, T. H. O. M. A. S., & Harman, G. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and environmental microbiology*, *65*(7), 2926-2933.
8. Anpnyne (2022) Wheat-production-by-country. World population review <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/wheat-production-by-country>
9. Aouali, S., & Douici-Khalfi, A. (2009). Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptômes, développement et moyens de lutte. *ITGC, EL Harrach*, Alger. 56p.
10. Arias D.G., Piattoni C.V., Guerreo S.A. et Iglesias A (2011). *Handbook of Plant and Crop Stress*. Ed .M.Pessarakli.157-190.
11. Assia, F. R., Righi, K., Boungab, K., & Mokabli, A. (2019). Étude de l'infestation des céréales par les nématodes à kyste «*Heterodera* spp.» et distribution des espèces en cause dans l'Ouest de l'Algérie. *Cahiers Agricultures*, *28*, 17.
12. Backhouse, D., Abubakar, A. A., Burgess, L. W., Dennisc, J. I., Hollaway, G. J., Wildermuth, G. B., ... & Henry, F. J. (2004). Survey of *Fusarium* species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, *33*, 255-261.

13. Bae, H., Sicher, R. C., Kim, M. S., Kim, S. H., Strem, M. D., Melnick, R. L., & Bailey, B. A. (2009). The beneficial endophyte *Trichoderma hamatum* isolate DIS 219b promotes growth and delays the onset of the drought response in *Theobroma cacao*. *Journal of experimental botany*, 60(11), 3279-3295.
14. Bae, S., Kim, S., Lee J., & Choi H. (2020). The contribution of phenolic compounds to plant defense mechanisms. *Front. Plant Sci.*, 11, 1727.
15. Baghbani, F., Lotfi, R., Moharramnejad, S., Bandehagh, A., Roostaei, M., Rastogi, A., & Kalaji, H. M. (2019). Impact of *Fusarium verticillioides* on chlorophyll fluorescence parameters of two maize lines. *European Journal of Plant Pathology*, 154, 337-346.
16. Balint-Kurti, P. (2019). The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Molecular plant pathology*, 20(8), 1163-1178.
17. Balmas, V., Delogu, G., Sposito, S., Rau, D., & Migheli, Q. (2006). Use of a complexation of tebuconazole with β -cyclodextrin for controlling foot and crown rot of durum wheat incited by *Fusarium culmorum*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(2), 480-484.
18. Barker, H. (1967). Methods of measuring leaf surface area of some conifers. O.D.C. 164.5:174.7.
19. Basińska-Barczak, A., Błaszczyk, L., & Szentner, K. (2020). Plant cell wall changes in common wheat roots as a result of their interaction with beneficial fungi of *Trichoderma*. *Cells*, 9(10), 2319.
20. Beccari, G., Prodi, A., Pisi, A., Nipoti, P., Onofri, A., Nicholson, P., ... & Covarelli, L. (2018). Development of three *Fusarium* crown rot causal agents and systemic translocation of deoxynivalenol following stem base infection of soft wheat. *Plant Pathology*, 67(5), 1055-1065.
21. Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol chem*, 195(1), 133-140.
22. Belhadj ben yahia, F. (2014). Etude de la pathologie et de l'effet des génotypes du blé sur l'efficacité de *Trichoderma atroviride* P. Karsten dans la protection du blé contre *Fusarium culmorum* (WG Sm.) sacc (Doctoral dissertation).
23. Belhadj Benyahia, F., Kthiri, Z., Hamada, W., & Bouregghda, H. (2021). *Trichoderma atroviride* induces biochemical markers associated with resistance to *Fusarium culmorum*, the main crown rot pathogen of wheat in Algeria. *Biocontrol Science and Technology*, 31(4), 357-372.
24. Bell, E., Takeda, S., & Dolan, L. (2009). Reactive oxygen species in growth and development. *Reactive oxygen species in plant signaling*, 43-53.
25. Berger, S., Sinha, A. K., & Roitsch, T. (2007). Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *Journal of experimental botany*, 58(15-16), 4019-4026.

26. Bhattacharyya, J., Kumar, R., Tyagi, S., Kishore, J., Mahapatra, M., & Choudhry, V. P. (2005). Human parvovirus B19-induced acquired pure megakaryocytic thrombocytopenia. *British journal of haematology*, 128(1), 128-129.
27. Bisen, K., Keswani, C., Patel, J. S., Sarma, B. K., & Singh, H. B. (2016). *Trichoderma* spp.: efficient inducers of systemic resistance in plants. *Microbial-mediated induced systemic resistance in plants*, 185-195.
28. Blaszczyk, L. M. S. K. S., Siwulski, M., Sobieralski, K., Lisiecka, J., & Jedryczka, M. (2014). *Trichoderma* spp.—application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of plant protection research*, 54(4).
29. Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 91(2), 179-194.
30. Boelrijk, A. E. M., & Dismukes, G. C. (2000). Mechanism of hydrogen peroxide dismutation by a dimanganese catalase mimic: dominant role of an intramolecular base on substrate binding affinity and rate acceleration. *Inorganic Chemistry*, 39(14), 3020-3028.
31. Bouaicha, O., Laraba, I., & Bouregghda, H. (2022). Identification, *in vitro* growth and pathogenicity of *Microdochium* spp. associated with wheat crown rot in Algeria. *Journal of Plant Pathology*, 104(4), 1431-1442.
32. Boubetra, S., Yahiaoui, B., Lehad, A., Mokhtari, M., Boudchicha, R. H., Mohammedi, F., ... & Louanchi, M. (2023). Occurrence and diversity of barley yellow dwarf virus in Algeria. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 58(2), 139-148.
33. Boulal, H. (2007). Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blés et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie), I.T.G.C/ ICARDA., 176p.
34. Boulenouar, N., Marouf, A., & Cheriti, A. (2011). Phytopathologie fongique et métabolites secondaires. *Annales de l'université de Bechar*, 11, 32-39.
35. Bouregghda, H., & Bouznad, Z. (2009). Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 44(1), 25-38.
36. Bouregghda, H., & Renane, R. (2011). In vitro study of antagonistic activity of some isolates of *Trichoderma* spp. against *Fusarium* spp. isolates the causal agent of wheat head scab.
37. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
38. Cavalcanti, L. S., Brunelli, K. R., & Stangarlin, J. R. (2005). Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. *Cavalcanti, LS; Di Piero, RM; Cia, P.; Pascholati, SF*, 81-124.

39. Cawood, M. E., Pretorius, J. C., Visser, B., & van der Westhuizen, A. J. (2013). Induced gene expression in wheat seedlings treated with a crude extract of *Agapanthus africanus* L. prior to leaf rust infection. *African Journal of Biotechnology*, 12(20).
40. Chan, Z., & Tian, S. (2006). Induction of H₂O₂-metabolizing enzymes and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 314-320.
41. Chekali, S., Gargouri, S., Berraies, S., Gharbi, M. S., Nicol, M. J., & Nasraoui, B. (2013). Impact of *Fusarium* foot and root rot on yield of cereals in Tunisia.
42. Chekali, S., Gargouri, S., Rezgui, M., Paulitz, T., & Nasraoui, B. (2016). Impacts of previous crops on *Fusarium* foot and root rot, and on yields of durum wheat in North West Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea*, 253-261.
43. Chen, C., Belanger, R. R., Benhamou, N., & Paulitz, T. C. (2000). Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and molecular plant pathology*, 56(1), 13-23.
44. Chen, S. C., Ren, J. J., Zhao, H. J., Wang, X. L., Wang, T. H., Jin, S. D., ... & Ahammed, G. J. (2019). *Trichoderma harzianum* improves defense against *Fusarium oxysporum* by regulating ROS and RNS metabolism, redox balance, and energy flow in cucumber roots. *Phytopathology*, 109(6), 972-982.
45. Chihat, S. (2022). *Identification et étude de l'effet antagoniste de Trichoderma spp. de différents sols et écosystèmes en Algérie à l'égard de quelques maladies fongiques* (Doctoral dissertation).
46. Chihat, S., Aleandri, M. P., Vannini, A., Bruni, N., & Boureghda, H. (2021). Identity and biocontrol efficiency of *Trichoderma* spp. isolated from different soils and ecosystems in Algeria. *Journal of Plant Pathology*, 103, 493-511.
47. Choudhary, D. K., Prakash, A., & Johri, B. N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 47, 289-297.
48. Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 149(3), 1579-1592.
49. Cook, R. J. (1980). *Fusarium* foot rot of wheat and its control in the Pacific Northwest. *Plant Dis*, 64(12), 1061-1066.
50. Çördük, N., Akıncı, N., Kaya, N., Yücel, G., & Akı, C. (2016). Effects of dodine on total protein content and peroxidase activity in *Vicia faba* L. *Sakarya University Journal of Science*, 20(3), 627-633.
51. Corpas, F. J. (2015). What is the role of hydrogen peroxide in plant peroxisomes?. *Plant Biology*, 17(6), 1099-1103.

52. Corpas, F. J., Barroso, J. B., Palma, J. M., & Rodriguez-Ruiz, M. (2017). Plant peroxisomes: a nitro-oxidative cocktail. *Redox Biology*, *11*, 535-542.
53. Davanlou, Madsen, Madsen, & Hockenhull. (1999). Parasitism of macroconidia, chlamydospores and hyphae of *Fusarium culmorum* by mycoparasitic *Pythium* species. *Plant Pathology*, *48*(3), 352-359.
54. De Armas, R., Santiago, R., Legaz, M. E., & Vicente, C. (2007). Levels of phenolic compounds and enzyme activity can be used to screen for resistance of sugarcane to smut (*Ustilago scitaminea*). *Australasian Plant Pathology*, *36*, 32-38.
55. Del Río, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., & Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant physiology*, *141*(2), 330-335.
56. Demirci, E., & Dane, E. (2003). Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. from stem bases of winter wheat in Erzurum, Turkey. *Phytoparasitica*, *31*, 170-173.
57. Dendouga, W., Bouregghda, H. et Belhamra, M. (2016). Biocontrol of wheat *Fusarium* crown and root rot by *Trichoderma* spp. and evaluation of their cell wall degrading enzymes activities. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, *51*(1), 1-12. .
58. Desikan, R., Hancock, J.T. et Neill, S. (2004). Plant Responses to Abiotic Stress. Ed. Heribert Hirt & Kazuo Shinozak. 121-148.8.
59. Desmond, O. J., Edgar, C. I., Manners, J. M., Maclean, D. J., Schenk, P. M., & Kazan, K. (2005). Methyl jasmonate induced gene expression in wheat delays symptom development by the crown rot pathogen *Fusarium pseudograminearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *67*(3-5), 171-179.
60. Devadoss, S., & Ridley, W. (2024). Impacts of the Russian invasion of Ukraine on the global wheat market. *World Development*, *173*, 106396.
61. Dibyajyoti, M. & Parul, S. (2024). Defense mechanism in plants against plant pathogens. *Fundam. Plant Pathol. Entomol.*, *11*, 134-145 p.
62. Djebali, N., Mhadhbi, H., Jacquet, C., Huguet, T., & Aouani, M. E. (2007). Involvement of hydrogen peroxide, peroxidase and superoxide dismutase in response of *Medicago truncatula* lines differing in susceptibility to *Phoma medicaginis* infection. *Journal of phytopathology*, *155*(10), 633-640.
63. Djebari, B. (2005). Contribution à la connaissance des bactérioses du blé, de l'orge et du triticale. *Mem. Maj. Agr., INA. El-Harrach: P*, 92.
64. Doré, C., Varoquaux, F. (2006). *Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées*, Ed. INRA, 800 p.

65. Egley, G. H., Paul, R. N., Vaughn, K. C., & Duke, S. O. (1983). Role of peroxidase in the development of water-impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. *Planta*, 157, 224-232.
66. Egli, D. B. (2017). *Seed biology and yield of grain crops*. CABI.
67. Eising, R. (1998). Subcellular distribution and photooxidation of catalase in sunflower. *Antioxidants in higher plants*, 53-62.
68. El-Khalifeh, M., El-Ahmed, A., Yabarak, M., & Nachit, M. (2006). Variation of cultural and morphological characteristics in *Fusarium* spp. causal agents of common root rot disease on wheat in Syria.
69. Ellinger, D., & Voigt, C. A. (2014). *Callose biosynthesis* in Arabidopsis with a focus on pathogen response: what we have learned within the last decade. *Annals of botany*, 114(6), 1349-1358.
70. Eslahi, M. R. (2012). Fungi associated with root and crown rot of wheat in Khuzestan province, Iran. *Journal of Crop Protection*, 1(2), 107-113.
71. Ezzahiri, B. (2001). Les maladies du blé: identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. *Bulletin de transfert de technologie en agriculture*, 77, 1-4.
72. F.A.O., (2022). Food outlook biannual report on global food markets, 161p. [HTTPS://WWW.FAO.ORG/3/CB9427EN/CB9427EN.PDF](https://www.fao.org/3/CB9427EN/CB9427EN.PDF).
73. Fatima, U., & Senthil-Kumar, M. (2015). Plant and pathogen nutrient acquisition strategies. *Frontiers in plant science*, 6, 750.
74. Figueroa, M., Hammond-Kosack, K. E., & Solomon, P. S. (2018). A review of wheat diseases—a field perspective. *Molecular plant pathology*, 19(6), 1523-1536.
75. Fitt, B. D., & Hornby, D. (1978). Effects of root-infecting fungi on wheat transport processes and growth. *Physiological plant pathology*, 13(3), 335-346.
76. Flores-Vergara, M. A., Oneal, E., Costa, M., Villarino, G., Roberts, C., De Luis Balaguer, M. A., ... & Franks, R. G. (2020). Developmental analysis of *Mimulus* seed transcriptomes reveals functional gene expression clusters and four imprinted, endosperm-expressed genes. *Frontiers in Plant Science*, 11, 132.
77. Folin, O., & Ciocalteu V. (1927). On the spectrophotometric determination of the reducing substances in the presence of proteins. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1, 1-7.
78. Fotoohian, Z., Rezaee, S., Shahidi Bonjar, G. H., Mohammadi, A. H., & Moradi, M. (2015). Induction of Systemic Resistance by *Trichoderma harzianum* Isolates in Pistachio Plants in-Fected with *Verticillium dahliae*. *Journal of Nuts*, 6(02), 95-111.
79. Foyer, C. H., Lelandais, M., & Kunert, K. J. (1994). Photooxidative stress in plants.

80. Fracheboud, Y., Haldimann, P., Leipner, J., & Stamp, P. (1999). Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.). *Journal of experimental botany*, 50(338), 1533-1540.
81. García-Limones, C., Hervás, A., Navas-Cortés, J. A., Jiménez-Díaz, R. M., & Tena, M. (2002). Induction of an antioxidant enzyme system and other oxidative stress markers associated with compatible and incompatible interactions between chickpea (*Cicer arietinum* L.) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Physiological and molecular plant pathology*, 61(6), 325-337.
82. Garg, N., & Manchanda, G. J. P. B. (2009). ROS generation in plants: boon or bane?. *Plant Biosystems*, 143(1), 81-96.
83. Gascuel Q. (2014). Identification, variabilité et connaissance in planta des effecteurs de pathogénicité de l'oomycète *Plasmopara halstedii*, l'agent du mildiou du tournesol. *Thes. Univ. Toulouse*. France. 244 p.
84. Gate, P., Gouache, D., & Garcia, C. (2007). Revoir dates et densité pour éviter la sécheresse. *Perspectives agricoles*, (337), 48.
85. Gnanamanickam, S. S., & Patil, S. S. (1977). Accumulation of antibacterial isoflavonoids in hypersensitively responding bean leaf tissues inoculated with *Pseudomonas phaseolicola*. *Physiological Plant Pathology*, 10(2), 159-168.
86. Grey, W. E., & Mathre, D. E. (1984). Reaction of spring barleys to common root rot and its effect on yield components. *Canadian journal of plant science*, 64(2), 245-253.
87. Grieve, C. M., & Suarez, D. L. (1997). Purslane (*Portulaca oleracea* L.): a halophytic crop for drainage water reuse systems. *Plant and Soil*, 192, 277-283.
88. Grover, M., Ali, S. Z., Sandhya, V., Rasul, A., & Venkateswarlu, B. (2011). Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27, 1231-1240.
89. Gudesblat, G. E., Torres, P. S., & Vojno, A. A. (2009). Stomata and pathogens: warfare at the gates. *Plant signaling & behavior*, 4(12), 1114-1116.
90. Guzmán-Valle, P., Bravo-Luna, L., Montes-Belmont, R., Guigón-López, C., & Sepúlveda-Jiménez, G. (2014). Induction of resistance to *Sclerotium rolfii* in different varieties of onion by inoculation with *Trichoderma asperellum*. *European journal of plant pathology*, 138, 223-229.
91. Habibi, G. (2014). *Hydrogen peroxide* (H₂O₂) generation, scavenging and signaling in plants. In *Oxidative damage to plants* (pp. 557-584). Academic Press.
92. Harman G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190-194.

93. Harman G.E., Howell CR., Viterbo A., Chet I., Larito M. (2005). *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbiotes, Rev. Nat microbial. 2: 43–56.
94. Harman, G. E., & Shores, M. (2007). The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts. In *Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management* (pp. 131-155).
95. Harman, G. E., Taylor, A. G., & Stasz, T. E. (1989). Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments.
96. Harris, B. D. (2013). *The molecular characterisation of Trichoderma hamatum effects on plant growth and biocontrol*. University of Exeter (United Kingdom).
97. Heinze, M., & Gerhardt, B. (2002). Plant catalases. *Plant Peroxisomes: Biochemistry, Cell Biology and Biotechnological Applications*, 103-140.
98. Hellin, P., Scauflaire, J., Van Hese, V., Munaut, F., & Legrève, A. (2017). Sensitivity of *Fusarium culmorum* to triazoles: impact of trichothecene chemotypes, oxidative stress response and genetic diversity. *Pest management science*, 73(6), 1244-1252.
99. Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., & El Mahjoub, M. (2005). Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 9 (3): 163-171.
100. Hoevers, R., & Scheepens, P. (2007). *La protection non chimique des cultures*. Agromisa.
101. Huang, J. S. (2013). Plant pathogenesis and resistance: Biochemistry and physiology of plant-microbe interactions..692p.
102. Iqbal, M., & Ashraf, M. (2013). Alleviation of salinity-induced perturbations in ionic and hormonal concentrations in spring wheat through seed preconditioning in synthetic auxins. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1093-1112.
103. Jalali, F., Zafari, D., & Salari, H. (2017). Volatile organic compounds of some *Trichoderma* spp. increase growth and induce salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Fungal ecology*, 29, 67-75.
104. Jamali, F., Sharifi-Tehrani, A., Lutz, M. P., & Maurhofer, M. (2009). Influence of host plant genotype, presence of a pathogen, and coinoculation with *Pseudomonas fluorescens* strains on the rhizosphere expression of hydrogen cyanide and 2, 4-diacetylphloroglucinol biosynthetic genes in *P. fluorescens* biocontrol strain CHA0. *Microbial ecology*, 57, 267-275.
105. Jankovics, T., Komáromi, J., Fábrián, A., Jäger, K., Vida, G., & Kiss, L. (2015). New insights into the life cycle of the wheat powdery mildew: direct observation of ascospore infection in *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, 105(6), 797-804.

106. Jaroszuk-Ściseł, J., & Kurek, E. (2012). Hydrolysis of fungal and plant cell walls by enzymatic complexes from cultures of *Fusarium* isolates with different aggressiveness to rye (*Secale cereale*). *Archives of microbiology*, *194*, 653-665.
107. Jemmali, L. (2015). *Stimulateurs des Défenses Naturelles du blé dur en Tunisie et du blé Tendre en France Contre la Septoriose Causée par Zymoseptoria tritici* (Doctoral dissertation, Université du Littoral Côte d'Opale; Institut national agronomique de Tunisie).
108. Jiang, Y., & Miles, P. W. (1993). Generation of H₂O₂ during enzymic oxidation of catechin. *Phytochemistry*, *33*(1), 29-34.
109. Jones, J. D., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *nature*, *444*(7117), 323-329.
110. Kangara, N., Kurowski, T. J., Radhakrishnan, G. V., Ghosh, S., Cook, N. M., Yu, G., ... & Wulff, B. B. (2020). Mutagenesis of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* and selection of gain-of-virulence mutants. *Frontiers in plant science*, *11*, 570180.
111. Karpinski, S., Gabrys, H., Mateo, A., Karpinska, B., & Mullineaux, P. M. (2003). Light perception in plant disease defence signalling. *Current opinion in plant biology*, *6*(4), 390-396.
112. Kaur, S., Samota, M. K., Choudhary, M., Choudhary, M., Pandey, A. K., Sharma, A., & Thakur, J. (2022). How do plants defend themselves against pathogens-biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *28*(2), 485-504.
113. Kazan, K., & Gardiner, D. M. (2018). *Fusarium* crown rot caused by *Fusarium pseudograminearum* in cereal crops: recent progress and future prospects. *Molecular plant pathology*, *19*(7), 1547-1562.
114. Kettle, A. J., Batley, J., Benfield, A. H., Manners, J. M., Kazan, K., & Gardiner, D. M. (2015). Degradation of the benzoxazolinone class of phytoalexins is important for virulence of *Fusarium pseudograminearum* towards wheat. *Molecular plant pathology*, *16*(9), 946-962.
115. Khaldoun, A., Bellah, F., & Mekliche, L. (2006). L'obtention variétale en Algérie, cas des céréales à paille. (Ed) Institut national de la recherche agronomique d'alger. 82p.
116. Khan M. A., & Ghosh S. (2020). Role of *Trichoderma* in plant growth promotion and biocontrol of plant pathogens: A review. *Microbial Pathogenesis*, *149*, 104506.
117. Khenfous-Djebari, B. (2021). Détection et identification phénotypique et génétique de *Xanthomonas* associé aux céréales en Algérie (Doctoral dissertation). These doc. ENSA, Algérie. 160p.
118. Khenfous-Djebari, B., Kerkoud, M., Fischer-Le Saux, M., Benhassine, T., Bouznad, Z., Koebnik, R., & Bragard, C. (2019). Isolation of atypical wheat-associated xanthomonads in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea*, *58*(3), 497-506.

119. Kini, K. R., Vasanthi, N. S., & Shetty, H. S. (2000). Induction of β -1, 3-glucanase in seedlings of pearl millet in response to infection by *Sclerospora graminicola*. *European Journal of Plant Pathology*, 106, 267-274.
120. Kotchoni, S. O., & Gachomo, E. W. (2006). The reactive oxygen species network pathways: an essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants. *Journal of biosciences*, 31(3), 389-404. Kovalchuk I. (2011). Reactive oxygen species and antioxidant in higher plants. Ed. Gupta S. D. India. 31-44.
121. Kranz, J., & Rotem, J. (Eds.). (2012). *Experimental techniques in plant disease epidemiology*. 6. Springer Science & Business Media.
122. Krishnamurthy, A., & Rathinasabapathi, B. (2013). Oxidative stress tolerance in plants: novel interplay between auxin and reactive oxygen species signaling. *Plant signaling & behavior*, 8(10), e25761.
123. Kumar, M., Patel, J. S., Kumar, G., Sarkar, A., Singh, H. B., & Sarma, B. K. (2017). Studies on *Pseudomonas* and *Trichoderma*-mediated root exudation pattern in chickpea against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.
124. Kumar, P., & Kumar, C. (2018). Molecular and enzymatic approach to study *Trichoderma harzianum*-induced disease resistance in *Brassica juncea* against *Albugo candida*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125, 167-175.
125. Lamari, L., Strelkov, S. E., Yahyaoui, A., Amedov, M., Saidov, M., Djunosova, M., & Koichibayev, M. (2005). Virulence of *Pyrenophora tritici-repentis* in the countries of the Silk Road. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 27(3), 383-388.
126. Laraba, I., Keddad, A., Bouregghda, H., Abdallah, N., Vaughan, M. M., Proctor, R. H., ... & O'Donnell, K. (2017). *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia*, 109(6), 935-950.
127. Lastochkina, O., Baymiev, A., Shayahmetova, A., Garshina, D., Koryakov, I., Shpirnaya, I., ... & Palamutoglu, R. (2020). Effects of endophytic *Bacillus subtilis* and salicylic acid on postharvest diseases (*Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum*) development in stored potato tubers. *Plants*, 9(1), 76.
128. Lattanzio, V. (2013). Phenolic compounds: introduction 50. *Nat. Prod*, 1543-1580.
129. Lebeda, A., Luhová, L., Sedlářová, M., & Jančová, D. (2001). The role of enzymes in plant-fungal pathogens interactions/Die Rolle der Enzyme in den Beziehungen zwischen Pflanzen und pilzlichen Erregern. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz/Journal of Plant Diseases and Protection*, 89-111.
130. Leung, D. W. (2018). Studies of catalase in plants under abiotic stress. *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants*, 27-39.

131. Li, J., Wang, J., Yang, Y., Cai, P., Cao, J., Cai, X., & Zhang, Y. (2020). Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9, 153.
132. Li, N., Zhao, J., Zhang, R., Deng, L., Li, J., Gao, Y., & Liu, C. (2018). Effect of tebuconazole enantiomers and environmental factors on fumonisin accumulation and FUM gene expression in *Fusarium verticillioides*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(50), 13107-13115.
133. Liu, Z., Zhang, Z., Faris, J. D., Oliver, R. P., Syme, R., McDonald, M. C., ... & Friesen, T. L. (2012). The cysteine rich necrotrophic effector SnTox1 produced by *Stagonospora nodorum* triggers susceptibility of wheat lines harboring Snn1. *PLoS pathogens*, 8(1), e1002467.
134. Lounaci, L., Guemouri-Athmani, S., Boureghda, H., Achouak, W., & Heulin, T. (2016). Suppression of crown and root rot of wheat by the rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa*. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(3), 355-365.
135. MacKey, J. (1966). Species relationships in *Triticum*. Proc. 2nd Int. Wheat Genet. Symp., Hereditas (Suppl.) 2, 237-276.
136. Mahawer, S. K., Arya, S., Kabdal, T., Kumar, R., Prakash, O., Chitara, M. K., & Koli, P. (2022). Plant defense systems: mechanism of self-protection by plants against pathogens. *Plant Protection: From Chemicals to Biologicals*, 115.
137. Manetas, Y., Grammatikopoulos, G., & Kyparissis, A. (1998). The use of the portable, non-destructive, SPAD-502 (Minolta) chlorophyll meter with leaves of varying trichome density and anthocyanin content. *Journal of Plant Physiology*, 153(3-4), 513-516.
138. Masunaka, A., Hyakumachi, M., & Takenaka, S. (2011). Plant growth-promoting fungus, *Trichoderma koningi* suppresses isoflavonoid phytoalexin vestitol production for colonization on/in the roots of *Lotus japonicus*. *Microbes and environments*, 26(2), 128-134.
139. Matile, P., Hörtensteiner, S., & Thomas, H. (1999). Chlorophyll degradation. *Annual review of plant biology*, 50(1), 67-95. Matny, O. N., Shamsallah, S. A., & Haas, M. (2018). Genetic diversity study of *Fusarium culmorum*: causal agent of wheat crown rot in Iraq. *bioRxiv*, 341909.
140. Mazarro, S. M., Fogolari, H., Wagner Júnior, A., Citadin, I., & Santos, I. (2013). Potential of *Calendula officinalis* L. extracts in inducing phytoalexin synthesis and fungistatic effect on *Botrytis cinerea* in vitro. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 15, 208-216.
141. McKeehen, J. D., Busch, R. H., & Fulcher, R. G. (1999). Evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) phenolic acids during grain development and their contribution to *Fusarium* resistance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1476-1482.
142. McMullen, M. P., & Stack, R. W. (2008). *Fusarium* head blight (scab) of small grains. https://scabusa.org/pdfs/NDSU_PP-804_FHB-Small-Grains.pdf.

143. Meamiche Neddaf, H., Aouini, L., Bouznad, Z., & Kema, G. H. (2017). Equal distribution of mating type alleles and the presence of strobilurin resistance in Algerian *Zymoseptoria tritici* field populations. *Plant disease*, 101(4), 544-549.
144. Medeiros, H. A. D., Araújo Filho, J. V. D., Freitas, L. G. D., Castillo, P., Rubio, M. B., Hermosa, R., & Monte, E. (2017). Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *Scientific reports*, 7(1), 40216.
145. Meena, M., Yadav, G., Sonigra, P., Nagda, A., Mehta, T., Swapnil, P., & Marwal, A. (2022). Role of elicitors to initiate the induction of systemic resistance in plants to biotic stress. *Plant Stress*, 5, 100103.
146. Miedaner, T. (1997). Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases. *Plant Breeding*, 116(3), 201-220.
147. Millet, Y. A., Danna, C. H., Clay, N. K., Songnuan, W., Simon, M. D., Werck-Reichhart, D., & Ausubel, F. M. (2010). Innate immune responses activated in *Arabidopsis roots* by microbe-associated molecular patterns. *The Plant Cell*, 22(3), 973-990.
148. Minolta, K. (1989). Chlorophyll meter SPAD-502 instruction manual. *Minolta Co., Ltd., Radiometric Instruments Operations Osaka, Japan*, 22.
149. Mittler, R., Vanderauwera, S., Suzuki, N., Miller, G. A. D., Tognetti, V. B., Vandepoele, K., ... & Van Breusegem, F. (2011). ROS signaling: the new wave?. *Trends in plant science*, 16(6), 300-309.
150. Mlíčková, K., Luhová, L., Lebeda, A., Mieslerová, B., & Peč, P. (2004). Reactive oxygen species generation and peroxidase activity during *Oidium neolycopersici* infection on *Lycopersicon* species. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42(10), 753-761.
151. Moerschbacher, B., & Mendgen, K. (2001). Mechanisms of resistance to plant diseases. Eds. A. J. Slusarenko, R. S. S. Fraser, & L. C. van Loon. Univ. The Netherlands, 231-277.
152. Monte, E., & Hermosa, R. (2021). The use of *Trichoderma* spp. to control plant diseases.
153. Moore, D., Robson, G. D., & Trinci, A. P. (2020). *21st century guidebook to fungi*. Cambridge University Press. 2nd ed. 610p.
154. Moulia, B., & Mangin, L. (2012). Les plantes sont sensibles aussi bien aux informations extérieures qu'à celles, intérieures, qui les renseignent sur leur état. *Pour la science*, 77, 22-23.
155. Mouria, B., Ouazzani-Touhami, A., & Douira, A. (2007). Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*, 88(3), 103-110.

156. Moya-Elizondo, E. A., & Jacobsen, B. J. (2016). Integrated management of *Fusarium* crown rot of wheat using fungicide seed treatment, cultivar resistance, and induction of systemic acquired resistance (SAR). *Biological control*, 92, 153-163.
157. Mukherjee, A., Saha, S., & Choudhury, A. (2021). Role of *Trichoderma* spp. in enhancing tomato plant growth and resilience under drought stress. *Plant Growth Regul.* 93(3), 465–477.
158. Murphy, J. F., M. S. Reddy, C. M. Ryu, J. W. Kloepper, and R.Li. (2003). Rhizobacteria-mediated growth promotion of tomato leads to protection against cucumber mosaic virus. *Phytopathology*, 93: 1301-1307.
159. Murray, G. M., & Brennan, J. P. (2009). Estimating disease losses to the Australian wheat industry. *Australasian Plant Pathology*, 38(6), 558-570.
160. Mustafa, G. (2015). Protection du blé contre l'oïdium par des champignons mycorhiziens à arbuscules: mécanismes et optimisation. Thèse Doc. Univ. Littoral Côte d'Opale, France. 166 p.
161. Mustafa, G., Khong, N. G., Tisserant, B., Randoux, B., Fontaine, J., Magnin-Robert, M., ... & Sahraoui, A. L. H. (2017). Defence mechanisms associated with mycorrhiza-induced resistance in wheat against powdery mildew. *Functional Plant Biology*, 44(4), 443-454.
162. Nandini, B., Hariprasad, P., Shankara, H. N., Prakash, H. S., & Geetha, N. (2017). Total crude protein extract of *Trichoderma* spp. induces systemic resistance in pearl millet against the downy mildew pathogen. *3 Biotech*, 7, 1-10.
163. Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., ... & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in plant science*, 8, 102.
164. Njuma, O. J., Davis, I., Ndontsa, E. N., Krewall, J. R., Liu, A., & Goodwin, D. C. (2017). Mutual synergy between catalase and peroxidase activities of the bifunctional enzyme KatG is facilitated by electron_hole hopping within the enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, 292(45), 18408-18421.
165. O.N.S. (2024). La production agricole campagne 2020/2021. https://www.ons.dz/ProdAgricol2020_2021.pdf (ons.dz).
166. ONS (2019). Les statistiques de l'agriculture : les productions végétales et animales rétrospective 2010-2019. Collection n°225. 52 p. [retrospective_agricultures2010_2019.pdf](https://www.ons.dz/retrospective_agricultures2010_2019.pdf) (ons.dz).
167. Oros, G., & Kállai, Z. (2019). Phytoanticipins: The constitutive defense compounds as potential botanical fungicides. *Bioactive Molecules in Plant Defense: Signaling in Growth and Stress*, 179-229.
168. Orozco-Cárdenas, M. L., Narváez-Vásquez, J., & Ryan, C. A. (2001). Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *The Plant Cell*, 13(1), 179-191.

169. Ouair, N., Benbelkacem, A., Singh, P. K., Oumata, S., & Benslimane, H. (2022). Reaction of Algerian and international germplasm of wheat against races 1 and 5 of *Pyrenophora tritici-repentis* the causal agent of tan spot. *Cereal Research Communications*, 1-10.
170. Pagán, I., & García-Arenal, F. (2018). Tolerance to plant pathogens: theory and experimental evidence. *International journal of molecular sciences*, 19(3), 810.
171. Palma-Bautista, C. (2022). Resistencia a imitadores de auxinas y herbicidas inhibidores de la EPSPS y ALS en malas hierbas dicotiledóneas. Mecanismos de resistencia. <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/23651>.
172. Parent, C., Capelli, N., & Dat, J. (2008). Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4), 255-261.
173. Parh, D. K., Jordan, D. R., Aitken, E. A. B., Mace, E. S., Jun-Ai, P., McIntyre, C. L., & Godwin, I. D. (2008). QTL analysis of ergot resistance in sorghum. *Theoretical and Applied Genetics*, 117, 369-382.
174. Paulitz, T. C., Okubara, P. A., & Schroeder, K. L. (2009). Integrated control of soilborne pathogens of wheat. *Recent Developments in Management of Plant Diseases*, 229-245.
175. Paulitz, T. C., Smiley, R. W., & Cook, R. J. (2002). Insights into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, USA. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(4), 416-428.
176. Pedras, M. S. C., & Abdoli, A. (2017). Pathogen inactivation of cruciferous phytoalexins: Detoxification reactions, enzymes and inhibitors. *RSC advances*, 7(38), 23633-23646.
177. Pedras, M. S. C., & Yaya, E. E. (2015). Plant chemical defenses: are all constitutive antimicrobial metabolites phytoanticipins? *Natural product communications*, 10(1), 1934578X1501000142.
178. Perelló, A., Moreno, V., Mónaco, C., & Simón, M. R. (2008). Effect of *Trichoderma* spp. isolates for biological control of tan spot of wheat caused by *Pyrenophora tritici-repentis* under field conditions in Argentina. *BioControl*, 53, 895-904.
179. Pérez, M., Gómezm R. et López, J. (2023). Effects of *Trichoderma* on the growth and nitrogen fixation in legume crops. *Journal of Agricultural Science*, 15(1), 123-135.
180. Pérez-Piqueres, A., Edel-Hermann, V., Alabouvette, C., & Steinberg, C. (2006). Response of soil microbial communities to compost amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(3), 460-470.
181. Qostal, S., Kribel, S., Chliyah, M., Serghat, S., Selmaoui, K., Touhami, A. O., ... & Douira, A. (2019). Study of the fungal complex responsible for root rot of wheat and barley in the north-west of Morocco. *Plant Archives*. Vol. 19 No. 2, 2019 pp.
182. Quan, L. J., Zhang, B., Shi, W. W., & Li, H. Y. (2008). Hydrogen peroxide in plants: a versatile molecule of the reactive oxygen species network. *Journal of integrative plant biology*, 50(1), 2-18.

183. Rais, A., Jabeen, Z., Shair, F., Hafeez, F. Y., & Hassan, M. N. (2017). *Bacillus* spp., a bio-control agent enhances the activity of antioxidant defense enzymes in rice against *Pyricularia oryzae*. *PloS one*, *12*(11), e0187412.
184. Regnault-Roger, C., Fabres, G., & Philogene, B. (2005). *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. Tec & Doc. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/2023-12/010038103.pdf.
185. Salas-Marina, M. A., Isordia-Jasso, M. I., Islas-Osuna, M. A., Delgado-Sánchez, P., Jiménez-Bremont, J. F., Rodríguez-Kessler, M., ... & Casas-Flores, S. (2015). The Epl1 and Sm1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different life style pathogens in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science*, *6*, 77.
186. Salas-Marina, M. A., Silva-Flores, M. A., Uresti-Rivera, E. E., Castro-Longoria, E., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2011). Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *European Journal of Plant Pathology*, *131*, 15-26.
187. Saremi, H., Okhovvat, S. M., & Ashrafi, S. J. (2011). *Fusarium* diseases as the main soil borne fungal pathogen on plants and their control management with soil solarization in Iran. *African Journal of Biotechnology*, *10*(80), 18391-18398.
188. Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013). *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular plant pathology*, *14*(4), 323-341.
189. Schmitt, F. J., & Allakhverdiev, S. I. (Eds.). (2017). *Reactive oxygen species: signaling between hierarchical levels in plants*. John Wiley & Sons.
190. Schuster, A., & Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Applied microbiology and biotechnology*, *87*, 787-799.
191. Sergiev, I., Alexieva, V., & Karanov, E. (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Compt Rend Acad Bulg Sci*, *51*(3), 121-124.
192. Shah, L., Ali, A., Yahya, M., Zhu, Y., Wang, S., Si, H., ... & Ma, C. (2018). Integrated control of fusarium head blight and deoxynivalenol mycotoxin in wheat. *Plant pathology*, *67*(3), 532-548..
193. Sharma, A, et Prasad R. (2021). Role of *Trichoderma* in promoting plant growth and controlling plant diseases. *J. Plant Interact.*, *16*(1), 129-138.
194. Sharma, I., Thakur, A., Sharma, A., Singh, N., Kumar, R., & Sharma, A. (2022). Phytoalexins: Implications in plant defense and human health. In *Plant Secondary Metabolites: Physico-Chemical Properties and Therapeutic Applications* (pp. 329-353).

195. Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of botany*, 2012(1), 217037.
196. Sharma, P., Patel, A. N., Saini, M. K., & Deep, S. (2012). Field demonstration of *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agricultural Science*, 4(8), 65.
197. Shcherbakova, L. A., Nazarova, T. A., Mikityuk, O. D., Istomina, E. A., & Odintsova, T. I. (2018). An extract purified from the mycelium of a tomato wilt-controlling strain of *Fusarium sambucinum* can protect wheat against *Fusarium* and common root rots. *Pathogens*, 7(3), 61.
198. Shetty, N. P., Jensen, J. D., Knudsen, A., Finnie, C., Geshi, N., Blennow, A., . & Jørgensen, H. J. L. (2009). Effects of β -1, 3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat. *Journal of experimental botany*, 60(15), 4287-4300.
199. Shetty, N. P., Kristensen, B. K., Newman, M. A., Møller, K., Gregersen, P. L., & Jørgensen, H. L. (2003). Association of hydrogen peroxide with restriction of *Septoria tritici* in resistant wheat. *Physiological and molecular plant pathology*, 62(6), 333-346.
200. Shibaeva, T. G., Mamaev, A. V., & Sherudilo, E. G. (2020). Evaluation of a SPAD-502 plus chlorophyll meter to estimate chlorophyll content in leaves with interveinal chlorosis. *Russian Journal of Plant Physiology*, 67, 690-696.
201. Shikur Gebremariam, E., Sharma-Poudyal, D., Paulitz, T. C., Erginbas-Orakci, G., Karakaya, A. Z. İ. Z., & Dababat, A. A. (2018). Identity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey. *European journal of plant pathology*, 150, 387-399.
202. Shores, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual review of phytopathology*, 48(1), 21-43.
203. Singh, A., Sharma, P. et Kumar, S. (2020). Effects of *Trichoderma* species on the growth promotion of wheat plants under stress conditions. *J. Plant Growth Regul.*, 39(2), 423-435.
204. Singh, B. N., Singh, A., Singh, S. P., & Singh, H. B. (2011). *Trichoderma harzianum*-mediated reprogramming of oxidative stress response in root apoplast of sunflower enhances defence against *Rhizoctonia solani*. *European Journal of Plant Pathology*, 131, 121-134..
205. Singh, P., Tripathi, N., Joshi, D., Pathak, A. D., & Sethi, A. (2018). *Trichoderma* elicitors create a potential chemical barrier through induced systemic resistance against *Colletotrichum falcatum* and minimise sucrose losses in sugarcane. *Journal of Plant Pathology*, 100, 151-162.
206. Siou, D. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).

207. Smaha, D., Mokrini, F., İmren, M., Mokabli, A., & Dababat, A. A. (2018). First report of the cereal cyst nematode (*Heterodera Filipjevi*) on wheat in Algeria. *Plant disease*, 102(9), 1860-1860.
208. Smiley, R. W., & Patterson, L. M. (1996). Pathogenic fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest.
209. Smiley, R. W., Backhouse, D., Lucas, P., & Paulitz, T. C. (2009). Diseases which challenge global wheat production-root, crown, and culm rots. *Wheat science and trade*, 171-187.
210. Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., Patterson, L. M., & Whittaker, R. G. (2005). Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. *Plant disease*, 89(6), 595-604.
211. Sreedevi, B., Devi, M. C., & Saigopal, D. V. R. (2011). Induction of defense enzymes in *Trichoderma harzianum* treated groundnut plants against *Macrophomina phaseolina*. *Journal of Biological Control*, 25(1), 33-39.
212. Stewart, A., & Hill, R. (2014). Applications of *Trichoderma* in plant growth promotion. In *Biotechnology and biology of Trichoderma*, 415-428.
213. Stummer, B. E., Zhang, X., Yang, H., & Harvey, P. R. (2022). Co-inoculation of *Trichoderma gamsii* A5MH and *Trichoderma harzianum* Tr906 in wheat suppresses in planta abundance of the crown rot pathogen *Fusarium pseudograminearum* and impacts the rhizosphere soil fungal microbiome. *Biological Control*, 165, 104809.
214. Subramaniam, S., Zainudin, N. A. I. M., Aris, A., & Hasan, Z. A. E. (2022). Role of *Trichoderma* in plant growth promotion. *Advances in Trichoderma Biology for Agricultural Applications*, 257-280.
215. Surekha, C. H., Neelapu, N. R. R., Prasad, B. S., & Ganesh, P. S. (2014). Induction of defense enzymes and phenolic content by *Trichoderma viride* in *Vigna mungo* infested with *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. *Int J Agric Sci Res*, 4(4), 31-40.
216. Swanson, S., & Gilroy, S. (2010). ROS in plant development. *Physiologia Plantarum*, 138(4), 384-392.
217. Taiz, L. Zeiger, E., Moller, I.M. and Murphy, A. (2015) *Plant Physiology and Development*. 6 th Edition, Sinauer Associates, Sunderland, CT. 688p.
218. Takamiya, K. I., Tsuchiya, T., & Ohta, H. (2000). Degradation pathway (s) of chlorophyll: what has gene cloning revealed? *Trends in plant science*, 5 (10), 426-431.
219. Tan, Y., Duan, Y., Chi, Q., Wang, R., Yin, Y., Cui, D., ... & Sun, H. (2023). The role of reactive oxygen species in plant response to radiation. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3346.

220. Thordal-Christensen, H., Zhang, Z., Wei, Y., & Collinge, D. B. (1997). Subcellular localization of H₂O₂ in plants. H₂O₂ accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley—powdery mildew interaction. *The Plant Journal*, 11(6), 1187-1194.
221. Toghueo, R. M. K., Eke, P., Zabalgoceazcoa, Í., de Aldana, B. R. V., Nana, L. W., & Boyom, F. F. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96, 8-20.
222. Tripathy, B. C., & Oelmüller, R. (2012). Reactive oxygen species generation and signaling in plants. *Plant signaling & behavior*, 7(12), 1621-1633.
223. Tucci, M., Ruocco, M., De Masi, L., De Palma, M., & Lorito, M. (2011). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular plant pathology*, 12(4), 341-354.
224. Tunali, B., Nicol, J. M., Hodson, D., Uçkun, Z., Büyük, O., Erdurmuş, D., & Bağcı, S. A. (2008). Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Disease*, 92(9), 1299-1306.
225. USDA. 2022. Grain and feed annual. Rapport n AG2022-0002. 23 p. DownloadReportByFileName (usda.gov).
226. Vidhyasekaran, P. (2007). Fungal pathogenesis in plants and crops: molecular biology and host defense mechanisms, 2nd ed. CRC Press.
227. Vidossich, P., Alfonso-Prieto, M., & Rovira, C. (2012). Catalases versus peroxidases: DFT investigation of H₂O₂ oxidation in models systems and implications for heme protein engineering. *Journal of inorganic biochemistry*, 117, 292-297.
228. Villegas-Velázquez, I., Zavaleta-Mancera, H. A., Arévalo-Galarza, M. L., Suarez-Espinosa, J., Garcia-Osorio, C., Padilla-Chacon, D., ... & Jimenez-Bremont, J. F. (2022). Chlorophyll measurements in *Alstroemeria* sp. using SPAD-502 meter and the color space CIE L* a* b*, and its validation in foliar senescence. *Photosynthetica*, 60(2), 230.
229. Vlot, A. C., Klessig, D. F., & Park, S. W. (2008). Systemic acquired resistance: the elusive signal (s). *Current opinion in plant biology*, 11(4), 436-442.
230. Vurro, M., & Gressel, J. (Eds.). (2007). Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management. Springer Science & Business Media. 131-155
231. Wang, C. F., Huang, L. L., Buchenauer, H., Han, Q. M., Zhang, H. C., & Kang, Z. S. (2007). Histochemical studies on the accumulation of reactive oxygen species (O₂⁻ and H₂O₂) in the incompatible and compatible interaction of wheat—*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71(4-6), 230-239.

232. Welinder, K. G. (1992). Superfamily of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Current Opinion in Structural Biology*, 2(3), 388-393.
233. Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M., & Lorito, M. (2006). The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*, 96(2), 181-185.
234. Wu, Q. S., & Zou, Y. N. (2017). Arbuscular mycorrhizal fungi and tolerance of drought stress in plants. *Arbuscular mycorrhizas and stress tolerance of plants*, 25-41.
235. Yamada, T., Hashimoto, H., Shiraishi, T., & Oku, H. (1989). Suppression of pisatin, phenylalanine ammonia-lyase mRNA, and chalcone synthase mRNA accumulation by a putative pathogenicity factor from the fungus *Mycosphaerella pinodes*. *Mol. Plant-Microbe Interact*, 2, 256-261.
236. Yang, S., Li, X., Chen, W., Liu, T., Zhong, S., Ma, L., Zhang M., Zhang H., Yu D. et & Luo, P. (2016). Wheat resistance to *Fusarium* head blight is associated with changes in photosynthetic parameters. *Plant disease*, 100(4), 847-852.
237. Yasmeeen, R., & Shaheed Siddiqui, Z. (2017). Physiological responses of crop plants against *Trichoderma harzianum* in saline environment. *Acta Botanica Croatica*, 76(2), 154-162.
238. Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y. et Chet, I., 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant physiolbiochem*. 38: 863-873.
239. Yedidia, I., Shores, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied and environmental microbiology*, 69(12), 7343-7353.
240. Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil*, 235, 235-242.
241. Zago, E., Morsa, S., Dat, J. F., Alard, P., Ferrarini, A., Inzé, D., ... & Van Breusegem, F. (2006). Nitric oxide-and hydrogen peroxide-responsive gene regulation during cell death induction in tobacco. *Plant Physiology*, 141(2), 404-411.
242. Zahri, S., Farih, A., & Douira, A. (2014). Statut des principales maladies cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. *Journal of Applied Biosciences*, 77, 6543-6549.
243. Zaidi, N. W., & Singh, U. S. (2013). *Trichoderma* in plant health management. In *Trichoderma: biology and applications* (pp. 230-246). Wallingford UK: CABI.
244. Zaidi, N. W., Dar, M. H., Singh, S., & Singh, U. S. (2014). *Trichoderma* species as abiotic stress relievers in plants. In *Biotechnology and biology of Trichoderma*.515-525.

245. Zehra, A., Meena, M., Dubey, M. K., Aamir, M., & Upadhyay, R. S. (2017). Synergistic effects of plant defense elicitors and *Trichoderma harzianum* on enhanced induction of antioxidant defense system in tomato against *Fusarium* wilt disease. *Botanical Studies*, 58, 1-14.
246. Zhang, C., Wang, X., Du, J., Gu, Z., & Zhao, Y. (2021). Reactive oxygen species-regulating strategies based on nanomaterials for disease treatment. *Advanced Science*, 8(3),

247. Zhang, F., Ge, H., Zhang, F., Guo, N., Wang, Y., Chen, L *et al.* (2016). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolate T-106 against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100, 64-74.
248. Zhang, S., Gan, Y., & Xu, B. (2016). Application of plant-growth-promoting fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. *Frontiers in plant science*, 7, 1405.
249. Zhang, S., Reddy, M. S., & Kloepper, J. W. (2004). Tobacco growth enhancement and blue mold disease protection by *Rhizobacteria*: relationship between plant growth promotion and systemic disease protection by PGPR strain 90-166. *Plant and Soil*, 262, 277-288.
250. Zhang, X., Yao, Y., Dhanasekaran, S., Li, J., Ngea, G. L. N., Gu, X., ... & Zhang, H. (2022). Controlling black spot of postharvest broccoli by *Meyerozyma guilliermondii* and its regulation on ROS metabolism of broccoli. *Biological Control*, 170, 104938.

Annexes

Tableau1. Les moyennes des poids frais, poids secs, surfaces foliaires, taux de chlorophylle, taux d'humidité et des taux de la matière sèche chez les trois variétés de blé (Ain Abid, Waha et Vitron).

Variétés	T			Ta			F			Ta + F		
	A	W	V	A	W	V	A	W	V	A	W	V
Poids frais (g)	11,84 ^{bcde}	8,24 ^a	11,52 ^{cde}	19,4 ^b	12,28 ^b	19,28 ^b	4,19 ^a	1,67 ^a	2,22 ^a	17,18 ^b	3,62 ^a	3,31 ^a
Poids sec(g)	2,52 ^{abcd}	5,28 ^d e	2,22 ^{abcd}	5,10 ^{cde}	6,87 ^e	3,50 ^{abcde}	1,8 ^{abc}	1,06 ^{ab}	0,25 ^a	4,23 ^{bcd} e	2,33 ^{abcd}	1,82 ^{ab} c
SF cm2	3 ^{ab}	4 ^{ab}	3,66 ^{ab}	9,33 ^c	7,33 ^c	3,66 ^{ab}	3 ^{ab}	3 ^{ab}	2 ^a	7,67 ^c	4,67 ^b	2 ^a
Chlorophylle(SP AD)	24,47 ^c	40 ^{ab}	41,87 ^a	28,2 ^{bc}	46,4 ^a	48,33 ^a	17,7 7 ^c	28,1 ^{bc}	39,17 ^a b	24,93 ^c	40,3 ^a	39,43 ab
%H	78,71 ^a	35,9 7 ^b	80,7 ^a	73,7 ^{ac}	44,02 ^{bc}	81,83 ^a	57,1 8 ^{abc}	36,7 ^{bc}	88,77 ^a	75,37 ^a	35,72 ^{bc}	34,8 ^b
%MS	20,47 ^{abc}	51,3 2 ^{abcde}	19,29 ^{ab}	27,70 ^{abc} d	64,1 ^{bcd}	18,15 ^a	39,4 5 ^{abcd}	56,4 ^{abc} d	11,17 ^a	23,74 ^a bcd	69,22 ^d	65,19 cd
La moyenne des graines germées	12 ^{ab}	12,3 3 ^{abc}	13 ^{abc}	14,33 abc	15,33 ^{bc}	16 ^c	8 ^{dg}	5 ^{df}	3 ^f	8,66 ^{deg}	11,33 ^{aeg}	6,66 ^{df}

Les valeurs avec les mêmes lettres, dans chaque ligne, ne sont pas significativement différentes selon le test de HSD de Tukey à 5%. T. témoins non inoculés ; Ta. Plants de blé traités par l'antagoniste seul ; F. plants de blé inoculés par le pathogène seul ; Ta+F. les plants co-inoculés

Préparation des solutions de l'extraction et le dosage des anzymes antioxydantes

Préparation du tampon de phosphate de potassium 50mM à pH = 5,5

Le tampon a été préparé à partir de deux solutions mères :

Solution I : Dissoudre 1,816g de dihydrogénophosphate de potassium dans de l'eau et diluer à 200ml avec le même solvant. Solution II : Dissoudre 2,322g d'hydrogénophosphate dipotassique dans de l'eau et diluer à 200 ml avec le même solvant. Mélanger 188,8ml de la solution I et 11,2ml de la solution II. Si nécessaire, ajuster le pH à 5,5 en utilisant la solution I ou la solution II.

Pour la courbe standard de H_2O_2 , prendre 57 μ l de H_2O_2 à 30% et diluer avec de l'eau distillée et faire 100ml, puis faire une nouvelle dilution 10 fois (10X). (Prendre 1 ml de la courbe ci-dessus et diluer dans 99ml d'eau distillée

Préparation des solutions pour l'extraction et le dosage du peroxyde d'hydrogène

Préparation de 0.1% de TCA (masse/volume)

La solution a été préparée en ajoutant 250mg de l'acide pur de TCA à 250ml d'eau distillée.

Le tampon phosphate de potassium 10mM, pH 7 (KH_2PO_4/K_2HPO_4)

Le tampon a été préparé par mélange de 0.234g de K_2HPO_4 et 0.158g de KH_2PO_4 dans 250ml d'eau distillée. Le pH est vérifié en utilisant un pH - mètre et est ajusté si nécessaire.

Solution d'iodure de potassium 1M

La solution a été préparée par le mélange de 41.5g de poudre d'iodure de potassium et de 250ml d'eau distillée

Tableau 2. Moyennes des taux des protéines totales, du contenu phénolique (PC) et des activités spécifiques de la peroxydase (POX) et de la catalase (CAT) dans la partie basale et les feuilles de trois variétés de blé (Ain Abid, Waha et Vitron).

		Protéins totales (mg/0.2 g MF)		POX (U/mg protéine)		PC (mg /ml)		CAT (μKat/mg protéine)	
		Parties basales	feuilles	Parties basales	feuilles	Parties basales	feuilles	Parties basales	feuilles
Ain Abid	T	0.35 ^{defg}	0.29 ^{cd}	41.68 ^j	18.59 ^c	5.45 ^{fg}	0.95 ^{ab}	0.026 ^a	0.099 ^{fg}
	Ta	0.26 ^{bc}	0.46 ^h	33.42 ^s	33.86 ^g	4.82 ^{efg}	11.24 ^h	0.027 ^a	0.072 ^{cd}
	F	0.46 ^h	0.4 ^{fgh}	60.05 ^p	43.87 ^k	4.72 ^{cdef}	6.50 ^g	0.077 ^{cde}	0.24 ^k
	Ta+ F	0.3 ^o	0.34 ^{def}	49.44 ⁿ	20.37 ^d	2.52 ^{abcde}	4.14 ^{cdef}	0.19 ^j	0.88 ^l
Waha	T	0.21 ^{ab}	0.29 ^{cd}	26.54 ^e	10.16 ^a	0.21 ^a	2.23 ^{abc}	0.051 ^b	0.091 ^{defg}
	Ta	0.39 ^{fgh}	0.45 ^h	30.26 ^f	13.44 ^b	0.56 ^a	0.22 ^a	0.0150 ^a	0.096 ^{efg}
	F	0.45 ^h	0.37 ^{efg}	9.55 ^a	29.61 ^f	0.8 ^a	4.65 ^{cdef}	0.080 ^{cdef}	0.159 ^{hi}
	Ta+ F	0.35 ^{defg}	0.4 ^{fgh}	47.15 ^m	38.87 ⁱ	3.33 ^{bcddef}	0.56 ^a	0.082 ^{defg}	0.170 ⁱ
Vitron	T	0.18 ^a	0.36 ^{defg}	82.22 ^r	42 ^j	0.66 ^a	3.73 ^{cdef}	0.023 ^a	0.101 ^g
	Ta	0.35 ^{defg}	0.31 ^{cde}	37.29 ^h	13.33 ^b	0.72 ^a	0.40 ^a	0.0093 ^a	0.10 ^{fg}
	F	0.42 ^{gh}	0.4 ^{fgh}	51.59 ^o	26.38 ^e	0.13 ^a	3.6 ^{cdef}	0.061 ^{bc}	0.142 ^h
	Ta+ F	0.21 ^{ab}	0.145 ^a	63.42 ^q	45 ^L	2.33 ^{abcd}	3.84 ^{cdef}	0.0130 ^a	0.25 ^k

T : Témoin inoculé, **Ta** : grains de blé inoculés avec *T. atroviride* seule, **F** : grains de blé inoculés avec *F. culmorum* seul, **Ta+ F** : grains de blé co-inoculés avec *T. atroviride* et *F. culmorum*. Les valeurs qui sont suivies des mêmes lettres dans la colonne pour chaque paramètre ne sont pas significativement différentes, selon le test HSD de Tukey (P <0,05).

Tableau 3. Tableau d'étalonnage pour le dosage de H₂O₂

Les tubes test	1	2	3	4	5	6	7
H ₂ O ₂ ml	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1
Tampon phosphate (pH 7.0)	1	0.9	0.8	0.6	0.4	0.2	0
1 M IK	1	1	1	1	1	1	1

Tableau 4. Moyennes des teneurs en peroxyde d'hydrogène dans les parties basales et les feuilles des trois variétés de blé (Ain Abid, Waha et Vitron) sous l'effet des différents traitements

		Peroxyde d'hydrogène µmol /ml	
		Partie basale	Feuilles
Ain Abid	T	7 ^{abc}	13,36 ^{efgh}
	Ta	8 ^{abcd}	21 ^j
	F	17 ^{hij}	15 ^{ghi}
	Ta+F	6 ^{abc}	13 ^{defgh}
Waha	T	4,03 ^a	16 ^{ghij}
	Ta	14,12 ^{fgh}	17,69 ^{ij}
	F	13,03 ^{defgh}	16,66 ^{hij}
	Ta+F	11,29 ^{cdefg}	7,83 ^{abcd}
Vitron	T	4,66 ^{ab}	10,75 ^{cdefg}
	Ta	8,39 ^{abcde}	7,09 ^{abc}
	F	6,24 ^{abc}	19,88 ^{ij}
	Ta+F	9,51 ^{bcdef}	10,45 ^{cdefg}

T: Témoin non inoculé, **Ta:** blé inoculé avec *T. atroviride* seul, **F :** blé inoculé avec *F. culmorum* seul, **Ta+F:** blé co-inoculé avec *T. atroviride* et *F. culmorum*. Les valeurs avec des lettres différentes pour chaque paramètre sont significativement différentes à P <0,05, comme déterminé par le test HSD de Tukey.

TRAVAUX DE RECHERCHE

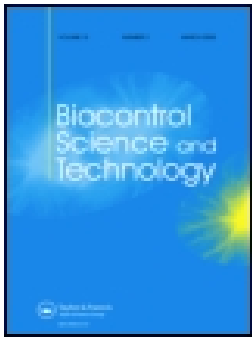
1. Communications

➤ Nationales

- **Belhadj Benyahia Faya et Boureghda Houda :** *Trichoderma atroviride* induit les paramètres biochimiques associés à la résistance au *F. culmorum* le principal agent causal de la pourriture du collet du blé en Algérie. Deuxièmes Journées Scientifiques de Phytopathologie et Biologie Moléculaire 26 & 27 juin 2022.
- **Belhadj Benyahia Faya et Boureghda Houda :** L'Etude pathologique de l'espèce *F. culmorum* agent causal de la pourriture racinaire et fusariose de l'épi du blé. Journées Scientifiques 2016 ENSA, 17 et 18 avril 2016.

➤ Internationales

- **Belhadj Benyahia Faya et Boureghda Houda :** Etude de la pathologie de *F. culmorum* sur la partie basale pourriture racinaire et sur EPI Fusariose du blé en Algérie. Association Tunisienne des Sciences Biologiques 25ème Forum international, 24- 27 Mars 2014 – Hammamet – Tunisie.
- **Boureghda Houda, Abdallah Nora, Laraba Imene, Belhadj Benyahia Faya et Bouaicha Oussama:** Identification of fungal species associated with crown rot and its secondary metabolites against some phytopathogenic fungi *in vitro* and *in vivo*. المؤتمر العربي الثاني عشر لعلوم وقاية النبات/الغردقة/مصر 2017 - الجمعية العربية لوقاية النبات
- **Belhadj Benyahia Faya et Boureghda Houda:** *Trichoderma* induce the wheat resistance against *Fusarium culmorum*. EFS16 16th European *Fusarium* Seminar June 12-15, 2023. Rome, Italy.



Trichoderma atroviride induces biochemical markers associated with resistance to *Fusarium culmorum*, the main crown rot pathogen of wheat in Algeria

Fayza Belhadj Benyahia , Zayneb Kthiri , Walid Hamada & Houda Boureghda

To cite this article: Fayza Belhadj Benyahia , Zayneb Kthiri , Walid Hamada & Houda Boureghda (2020): *Trichoderma atroviride* induces biochemical markers associated with resistance to *Fusarium culmorum*, the main crown rot pathogen of wheat in Algeria, Biocontrol Science and Technology, DOI: [10.1080/09583157.2020.1853676](https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1853676)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1853676>



Published online: 12 Dec 2020.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Trichoderma atroviride induces biochemical markers associated with resistance to *Fusarium culmorum*, the main crown rot pathogen of wheat in Algeria

Fayza Belhadj Benyahia^a, Zayneb Kthiri^b, Walid Hamada^b and Houda Boureghda^a

^aLaboratoire de Phytopathologie et de Biologie Moléculaire, Département de Botanique, Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), Algiers, Algeria; ^bLaboratory of Genetics and Plant Breeding, National Institute of Agronomy (INAT), Tunis, Tunisia

ABSTRACT

Fusarium culmorum (W.G. Sm.) Sacc. is the main causal agent of wheat crown rot in Algeria, which affects the yield and seed quality due to the presence of mycotoxins. In the present study, we evaluated the effect of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* (Ta.13) P. Karsten on the antioxidant enzymes activities (peroxidase and catalase), as well as on phenolic and protein content of three wheat varieties, compared to uninoculated controls. The data showed that *T. atroviride* induced systemically higher levels of these factors. In general, maximum induction was recorded in the Waha variety, followed by Ain Abid, when plants were co-inoculated by both Ta.13 and *F. culmorum* versus *F. culmorum* only. At the same time, lowest levels of these factors occurred in the Vitron variety. The highest accumulation of phenols in basal areas of the wheat plant occurred in the Waha variety, with an increase of up to 1400% compared to the control, and, also in Waha, there was the greatest increase of peroxidase activity in the foliar tissues, up to 282% of the control. Protein content in Waha in the plant collars increased 66% in co-treated plants. On the other hand, the highest increases in catalase activity were detected in the basal stem and leaves of Ain Abid variety co-inoculated with Ta.13 and *F. culmorum*, with 641% and 788% increases in these tissues, respectively. Our results show that there are variety-dependant physiological changes exhibited by the wheat plant during interaction with the pathogen and the antagonist.

ARTICLE HISTORY

Received 7 October 2020
Accepted

KEYWORDS

Trichoderma atroviride;
Fusarium culmorum; total
proteins; phenols;
peroxidase; catalase

Introduction

Fusarium crown rot (FCR), also known as *Fusarium* foot and root rot, is considered the most common wheat disease worldwide. It is characterised by discolouration or lesions on the susceptible plant's basal parts, including the coleoptile, internodes, and leaf sheaths (Smiley et al., 2009). Infected seeds die before they emerge, and emerged seedlings are yellow and stunted, and their crowns, roots and stems have abrown to red-brown rot. The disease can also attack older plants, causing a reduction in number or

CONTACT Fayza Belhadj Benyahia ✉ fayzabelhadj@gmail.com 📍 city 1500 logements, aadl Ain malha, Gué de constantine, Algiers, Algeria

© 2020 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

size of mature tillers, which also have white ears and shrunken seeds (Saremi et al., 2011; Scherm et al., 2013).

This disease is widespread, especially in cereal crops growing in dry areas with high temperatures (Scherm et al., 2013; Siou, 2013). FCR has been reported in Australia, Pacific the Pacific Northwest of the United States, North Africa (Algeria, Morocco and Tunisia), South Africa, the Middle East (Turkey, Syria, Iraq and Iran), southern Italy, and China (Abdallah-Nekache et al., 2019; Alahmad et al., 2018; Chekali et al., 2013; Laraba et al., 2017; Matny et al., 2019; Murray & Brennan, 2009; Qostal et al., 2019; Scherm et al., 2013; Smiley et al., 2005).

Several *Fusarium* species cause the wheat crown rots; the most important ones are *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc., *F. pseudograminearum* O'Donnell & Aoki (teleomorph *Gibberella coronicola* Aoki & O'Donnell), *F. graminearum* Schwabe (teleomorph *G. Zeae* (Schwein.) Petch) (Beccari et al., 2018; Scherm et al., 2013) and *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & Hallett (Burgess et al., 2001; Smiley & Patterson, 1996). In Algeria, a recent survey showed that *F. culmorum* is the dominant species

associated with crown rot on wheat (68% of the total). However, other species were also involved in wheat crown rot, including *F. pseudograminearum* (10%), *F. verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (3%), *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. (2%), *M. majus* (Wollenw) Glynn & Edwards (13%) and *M. nivale* (4%) (Abdallah-Nekache et al., 2019). Recently, a new species, *Fusarium algeriense* Laraba & O'Donnell, has been described for the first time as a crown rot agent of wheat in Algeria (Laraba et al., 2017). *Fusarium culmorum* has also been reported as the dominant agents of wheat crown rot in Turkey, Tunisia, southern Italy, and Iraq (Chekali et al., 2013; Chekali et al., 2016; Matny et al., 2019; Qostal et al., 2019; Shikur Gebremariam et al., 2018; Tunali et al., 2008). It has been reported among the principal species causing the disease in the USA, Australia, Syria, and Iran (Backhouse et al., 2004; Cook, 1980; El-Khalifeh et al., 2006; Eslahi, 2012; Smiley et al., 2005).

Estimates of the economic losses due to wheat crown rot are not available in Algeria. However, some data are available from other countries such as Australia, where losses are approximately \$97 million losses for wheat and barley (Alahmad et al., 2018; Murray & Brennan, 2009). In the Pacific Northwest of the USA, yield losses are as much as 61% of winter wheat production (Smiley et al., 2005). Control of crown rot is based on cultural practices that prevent contact of wheat seeds with pathogen propagules. To this end, the use of non-host plants in the crop rotation systems can naturally reduce the presence of the pathogens in the soil. Unfortunately, this control method may have less effect on *F. culmorum* because its chlamydospores can persist for several years in infested soils (Smiley et al., 2009). None of the available wheat cultivars is immune to the disease, but differences in the disease's response among varieties has been reported. Sources of resistance are limited, and the genetic basis of resistance is not well understood (McMullen et al., 2008). Furthermore, fungicides have only limited effectiveness and leave residues in the soil. Regular use of fungicides also promotes pathogen's resistance, making disease control difficult. Thus, biocontrol agents that reduce this disease are needed (Miedaner, 1997; Scherm et al., 2013; Spanu, 2011). Several antagonistic microorganisms have been particularly effective against *F. culmorum*, including *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* (Ehrenberg 1835) Cohn 1872, *Pseudomonas fluorescens*, (Flügge 1886) Migula and *Gliocladium roseum* Bainier (Scherm et al., 2013). Use of such antagonistic agents

against *F. culmorum* and other *Fusarium* species have been examined in Algeria (Dendouga et al., 2016; Lounaci et al., 2016). *Trichoderma* species as a group are among the most effective agents against several plant pathogens (Guzmán-Valle et al., 2014; Harman & Shores, 2007; Hibar et al., 2005; Shores et al., 2010). Species of *Trichoderma* have been known for a century as antagonists of phytopathogenic agents. The main biocontrol mechanisms that were assumed to be acting on pathogens include mycoparasitism, antibiosis, and competition for nutrients and space (Harman, 2006).

Plants can defend themselves against biotic stresses in several ways, but the first defense mechanism that may be triggered is a thickening of the plant's cell walls to limit the pathogen's penetration, together with phenol accumulation and production of low concentrations of reactive oxygen species (ROS) (Benhamou et al., 1996; Cawood et al., 2013). However, the increased production of free radicals requires an excess of oxygen consumption, which can be toxic for the plant (oxidative burst). Nevertheless, the plant activates the enzymatic antioxidant systems, such as the peroxidase (POX) and the catalase (CAT) enzymes, and non-enzymatic systems, such as polyphenols and soluble proteins production. Through this activation, cells eliminate free radicals, thus limiting the potential for oxidative damage (Kotchoni & Gachomo, 2006). The ROS network pathways are an essential reaction to the pathogen attacks and are involved in acquired disease resistance in plants. Several studies have shown that the application of *Trichoderma* species and other biocontrol agents enhance the production of these defense metabolites in several pathosystems (Guzmán-Valle et al., 2014; Harman, 2006; Mustafa et al., 2017; Rais et al., 2017; Yedidia et al., 2003).

The objectives of this study were to determine the effect of *Trichoderma atroviride* (Ta.13) P. Karsten in the induction of metabolites (total proteins and polyphenols) and antioxidative enzymes (peroxidase and catalase) related to defense mechanisms against *F. culmorum*. We evaluated chemical changes in both the infection zone (basal part) and in leaves of three commonly cultivated wheat varieties in Algeria.

Materials and methods

Plant material

Seeds of two durum wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties (Waha and Vitron) and one variety (Ain Abid) of bread wheat (*T. aestivum* L.) variety were provided by the Technical Institute of Field Crops (Institut technique des grandes cultures; ITGC), Oued Smar, Algiers, Algeria. The Vitron variety was used because of its sensitivity to *Fusarium* crown rot in the field. In contrast, Waha and Ain Abid varieties were chosen for their positive interaction with *T. atroviride* in regards protection against *F. culmorum*. Indeed, among the seven wheat varieties tested previously, Waha and Ain Abid varieties showed the largest disease index reductions when wheat plants were co-inoculated by both *T. atroviride* and *F. culmorum* (unpublished data).

Fungal material

The pathogen *F. culmorum* (FC.09.11) used in the present study; was selected for its high infectivity to wheat (unpublished data). The biological control agent Ta.13 (*T. atroviride*)

was chosen because of antagonistic potential shown in previous studies to manage chickpea *Fusarium* wilt caused by *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (*Foc*) (Bouregghda & Renane, 2011; Bouregghda & Bouznad, 2009) and wheat *Fusarium* head blight caused by *F. culmorum* (unpublished data).

The pathogen and antagonist isolates were stored in tubes containing Potato Dextrose Agar (PDA) medium at 4°C at the Laboratory of Mycology, Department of Botany, National Higher School of Agronomy (ENSA), El-Harrach, Algiers, Algeria.

Treatment of wheat seeds with *T. atroviride* (Ta.13)

Wheat seeds were coated with Ta.13 using a technique described by Harman et al. (1989). The wheat seeds were disinfected with sodium hypochlorite (2%), rinsed three times with sterile distilled water, dried with sterile filter paper, and then soaked in a spore suspension of Ta.13 for 2 h., The spore concentration was determined by use of a Malassez cell, then adjusted to 10^7 – 10^8 conidia/ml, and used at the rate of 1 ml/4g of wheat seeds.

Pathogen inoculation

Wheat seeds were sown in 1-liter pots, containing 2/3 sterilised soil (105°C for 24 h) and 1/3 sterilised compost, at the rate of 16 seeds per pot. Each wheat seed was brought into contact with a mycelial plug (6 mm dia) taken from a 7-day-old culture of the pathogen grown on PDA medium. The seeds were then covered with 2 cm of additional soil (Demirci & Dane, 2003). The experimental trial consisted of (1) the uninoculated control; (2) wheat inoculated with *F. culmorum* alone; (3) wheat inoculated with Ta.13 alone; and (4) wheat inoculated with both Ta.13 and *F. culmorum* (co-inoculated). For each treatment, there were 3 replicates, a replicate being a single pot with in which 16 seeds were sown.

Sample collection for biochemical analysis

Fifteen days after sowing, the plants (three-leaf stage) were pulled up and transferred into liquid nitrogen to block metabolism. The plants were stored at –80°C until further analysis. The extraction and analysis steps of each following biochemical parameters were done on two parts of each of three sample plants: the basal part (collar and part of the root) and the apical part of the leaf of one plant randomly selected from each pot.

Protein determination

The plant material (200 mg) was placed above an ice container and was ground after the addition of 1.5 ml of 50 mM phosphate buffer (pH 7). The extract was then centrifuged at $12,000 \times g$ at 4°C for 5 min. Total protein determination was performed by using the dye-binding assay of Bradford (1976) with bovine serum albumin as a standard. To 10 µl of protein extract, we added 790 µl phosphate buffer (50 mM, pH 5.5) and 200 µl of Bradford's reagent, and the mixture was left for 5 min at room temperature. The absorbance was then measured at 595 nm in the visible 2650 UV LABOMED INC Spectrophotometer. The protein amount was expressed in mg protein/0.2 g FW (FW: Fresh Weight).

Phenolic content determination

Total phenolic content was estimated by the Folin–Ciocalteu method (Singleton et al., 1999). Samples of 500 mg of fresh leaves were ground with 2 ml of methanol (80%) at 4°C and then centrifuged at 1000 rpm for 10 min. A 100 µl of the supernatant was added to the reaction mixture containing 50 µl of sodium carbonate (20%), 1750 µl of sterile distilled water, and 250 µl of Folin–Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, Germany). The reaction mixture was well mixed and incubated for 30 min at 40°C and then cooled to room temperature. The optical density was measured at 760 nm, and the amount of phenol was determined using catechol as the standard and expressed as mg.g⁻¹ fresh weight.

Extraction and determination of antioxidant enzymes activities

Peroxidase

Samples of 500 mg were homogenised in 5 ml of 50 mM K-phosphate buffer (pH 5.5). After centrifugation at 12,000× g for 20 min at 4°C, the supernatant was collected as the crude enzyme solution. A reaction mixture was prepared by adding 2.9 ml of 50 mM K-phosphate buffer (pH 5.5), 1 ml of H₂O₂ (0.6 M), and 1 ml of 50 mM guaiacol to 0.1 ml of crude enzyme solution (Egley et al., 1983). The crude enzyme solution's protein content was determined at 595 nm with bovine serum albumin as the standard using the Bradford assay (Bradford, 1976). The peroxidases specific activity was determined with guaiacol at 470 nm and expressed in unit mg⁻¹ protein.

Catalase

The plant material (200 mg) was grounded in a mortar placed on an icebox in 1.5 ml of 50 mM phosphate buffer (pH 7). The resulting extract was then centrifuged at 12,000 × g at 4°C for 5 min. The supernatant was used as the enzyme extract. The catalase (CAT) activity was measured according to Beers and Sizer (1952). The activity of CAT was calculated based on the decomposition of H₂O₂, measured as the decline in absorbance at 240 nm. The reaction mixture contained 724 µl of phosphate buffer (50 mM, pH 7), 226 µl of 30% H₂O₂, and 50 µl of the supernatant. The absorbance was measured at 240 nm and monitored in a time interval of 1 min. The enzyme's specific activity was calculated using the extinction coefficient of 36 M⁻¹.cm⁻¹l and expressed as µkat/mg protein.

Statistical analysis

The statistical analysis was carried out using Statistica ink software, version 6.1. The results of the quantitative data were subjected to a one-way ANOVA analysis of variance. The comparison of the averages was performed using Tukey's HSD test. The differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results

Treatment of wheat seeds with *T. atroviride* (Ta.13) induced changes in protein and phenolic contents as well as on the catalase and peroxidase activities of the resultant wheat

plant's tissues. This induction varied more or less considerably from one variety to another and from one part of the plant to another (basal part and leaves). The results revealed a significant difference for each studied parameter between varieties for each treatment, with levels being lowest in uninoculated control plants, followed by plants inoculated with *F. culmorum* alone, plants with Ta.13 alone, plants inoculated with both *T. atroviride* and *F. culmorum*. Within a wheat variety, there was a significant difference between the sample from the basal part of the plant and the sample from leaves for all biochemicals measured (Table1).

Changes in protein content

Inoculation of wheat seeds with either *F. culmorum* alone or with both the pathogen and Ta.13 (*T. atroviride*) caused a significant change in total protein content compared to the control ($F = 53.61$, $df = 12$, $P \leq 0.0005$). In samples from the basal area (plant collar) of the plant, protein levels were highest in plants inoculated only with the pathogen versus both the control and all other treatments, in which the maximum values for protein were recorded in the Vitron and Waha varieties, with up to 133%, and 114%, respectively, compared to the control. The Waha variety when co-inoculated with both *F. culmorum* and Ta.13 showed an increase in protein content up to 66% in the collar and up to 37% in the leaves, compared to the uninoculated control. For the other two varieties, protein increased only slightly (versus the control): 17% in the leaves of the Ain Abid variety and 16% in the collar of the Vitron variety (16%).

Compared to the plants inoculated with *F. culmorum* alone, the treatment inoculated with both the pathogen and with *Trichoderma* significantly reduced total protein in both plant collars leaves of the Vitron variety infected with the pathogen (−63% in the leaves and −50% in the collars) ($F = 53.61$, $df = 12$, $P \leq 0.0005$). In contrast, a small increase was noted in the leaves of Waha plants (8%) co-inoculated with both the pathogen and *Trichoderma*, compared with Waha plants inoculated only with the pathogen.

Phenol content

The total phenol content of leaves and basal parts of uninoculated wheat plants in the three varieties showed that leaf tissue of durum wheat (Waha and Vitron varieties) had higher phenol concentrations than the basal parts. However, in Ain Abid (bread wheat) variety, this was reversed, with the highest phenol concentration in the basal parts (collar tissues) (Table 1). In wheat co-inoculated with both Ta.13 and *F. culmorum*, phenol content differed significantly from that in the uninoculated control plants ($F = 23.99$, $df = 12$, $P \leq 0.0005$), with greatest phenol content being in the basal areas of the co-inoculated Waha variety (1400% of control), followed by the foliar tissues of the bread wheat variety Ain Abid (336% of the uninoculated control), for plants co-inoculated with both Ta.13 and *F. culmorum* (Fig. 1).

Among plants inoculated only with the biocontrol antagonist, the leaves of the Ain Abid variety showed the highest level of phenolic compounds (11.24 mg/ml), being 1000% above the uninoculated control plants (Table 1). However, this increase in phenolic compounds in the Ain Abid variety occurred only in the leaves and there was no

Table 1. Averages of total protein, phenol content (PC), peroxidase (POX), and catalase (CAT) specific activities in the basal part and leaves of three wheat varieties (Ain Abid, Waha and Vitron).

		Total protein (mg/0.2 g FM)		POX (U/mg protein)		PC (mg /ml)		CAT (μ Kat/mg protein)	
		Basal part	Leaves	Basal part	Leaves	Basal part	Leaves	Basal part	Leaves
Ain Abid	C	0.35 ^{defg}	0.29 ^{cd}	41.68 ^j	18.59 ^c	5.45 ^{fg}	0.95 ^{ab}	0.026 ^a	0.099 ^{fg}
	T	0.26 ^{bc}	0.46 ^h	33.42 ^g	33.86 ^g	4.82 ^{efg}	11.24 ^h	0.027 ^a	0.072 ^{cd}
	F	0.46 ^h	0.4 ^{fgh}	60.05 ^p	43.87 ^k	4.72 ^{cdef}	6.50 ^g	0.077 ^{cde}	0.24 ^k
	F + T	0.3 ^o	0.34 ^{def}	49.44 ⁿ	20.37 ^d	2.52 ^{abcde}	4.14 ^{cdef}	0.19 ^j	0.88 ^l
Waha	C	0.21 ^{ab}	0.29 ^{cd}	26.54 ^e	10.16 ^a	0.21 ^a	2.23 ^{abc}	0.051 ^b	0.091 ^{defg}
	T	0.39 ^{fgh}	0.45 ^h	30.26 ^f	13.44 ^b	0.56 ^a	0.22 ^a	0.0150 ^a	0.096 ^{efg}
	F	0.45 ^h	0.37 ^{efg}	9.55 ^a	29.61 ^f	0.8 ^a	4.65 ^{cdef}	0.080 ^{cdef}	0.159 ^{hi}
	F + T	0.35 ^{defg}	0.4 ^{fgh}	47.15 ^m	38.87 ^j	3.33 ^{bcdef}	0.56 ^a	0.082 ^{defg}	0.170 ^j
Vitron	C	0.18 ^a	0.36 ^{defg}	82.22 ^r	42 ^l	0.66 ^a	3.73 ^{cdef}	0.023 ^a	0.101 ^g
	T	0.35 ^{defg}	0.31 ^{cde}	37.29 ^h	13.33 ^b	0.72 ^a	0.40 ^a	0.0093 ^a	0.10 ^{fg}
	F	0.42 ^{gh}	0.4 ^{fgh}	51.59 ^o	26.38 ^e	0.13 ^a	3.6 ^{cdef}	0.061 ^{bc}	0.142 ^h
	F + T	0.21 ^{ab}	0.145 ^a	63.42 ^q	45 ^L	2.33 ^{abcd}	3.84 ^{cdef}	0.0130 ^a	0.25 ^k

C: uninoculated control, T: wheat inoculated by *T. atroviride* alone, F: wheat inoculated with *F. culmorum* alone, F + T: wheat co-inoculated with both *T. atroviride* and *F. culmorum*. Values with different letters of each parameter are significantly different at $P < 0.05$, as determined by Tukey's HSD test.

significant increase among treatments in phenolic compounds in the basal areas ($F = 23.99$, $df = 12$, $P \geq 0.99$).

Co-inoculated plants, compared with plant inoculated only with the pathogen, showed that *Trichoderma* induced a significant change in phenol content in the three tested varieties in the presence of the pathogen ($F = 11.65$, $df = 4$, $P \leq 0.0005$). Co-inoculation of plants with *Trichoderma* significantly increased the phenol content in the Vitron variety by up to 1600% in the basal areas ($F = 11.65$, $df = 6$, $P \leq 0.0005$), followed by 313% in basal areas of Waha ($F = 11.65$, $df = 6$, $P \leq 0.05$), but was associated with a decrease in Ain Abid variety in both tissues: -46% in the collar and -36% in the leaves.

Peroxidase activity

Peroxidase activity of the un-inoculated control plants was higher in both leaves and basal part of the Vitron variety than in the Waha and Ain Abid varieties. Levels recorded were 82.22 U/mg protein in the leaves and 42.51 U/mg protein in the collar for Vitron. The peroxidase activity was lower in the Waha variety (10.16 U/mg protein) at the leaf level and 26.54 U/mg protein at the basal level (Table 1).

When wheat seeds were inoculated with the pathogen (*F. culmorum*) alone, this treatment strongly and significantly induced POX in the leaves of Waha (191%) ($F = 39.31$, $df = 4$, $P \leq 0.0005$) and Ain Abid (135%) varieties ($F = 39.31$, $df = 4$, $P \leq 0.0005$), but there was only a low level of induction in the basal parts of Ain Abid. For the Vitron variety, pathogen inoculation caused no increase in POX in either the basal area or leaves compared to the uninoculated control (Fig. 2).

Compared to the uninoculated control plants, co-inoculation with both Ta.13 and *F. culmorum* caused a significant increase in the peroxidase activity, particularly in the Waha variety, by 282% in the leaves and 77% in the basal parts ($F = 13.78$, $df = 4$, $P \leq 0.0005$). However, there was only a low level of induction of peroxidase by co-inoculation in Ain Abid and a decrease peroxidase levels in Vitron, in both leaves and collars (Fig. 2). Compared to plants inoculated with the pathogen alone, co-

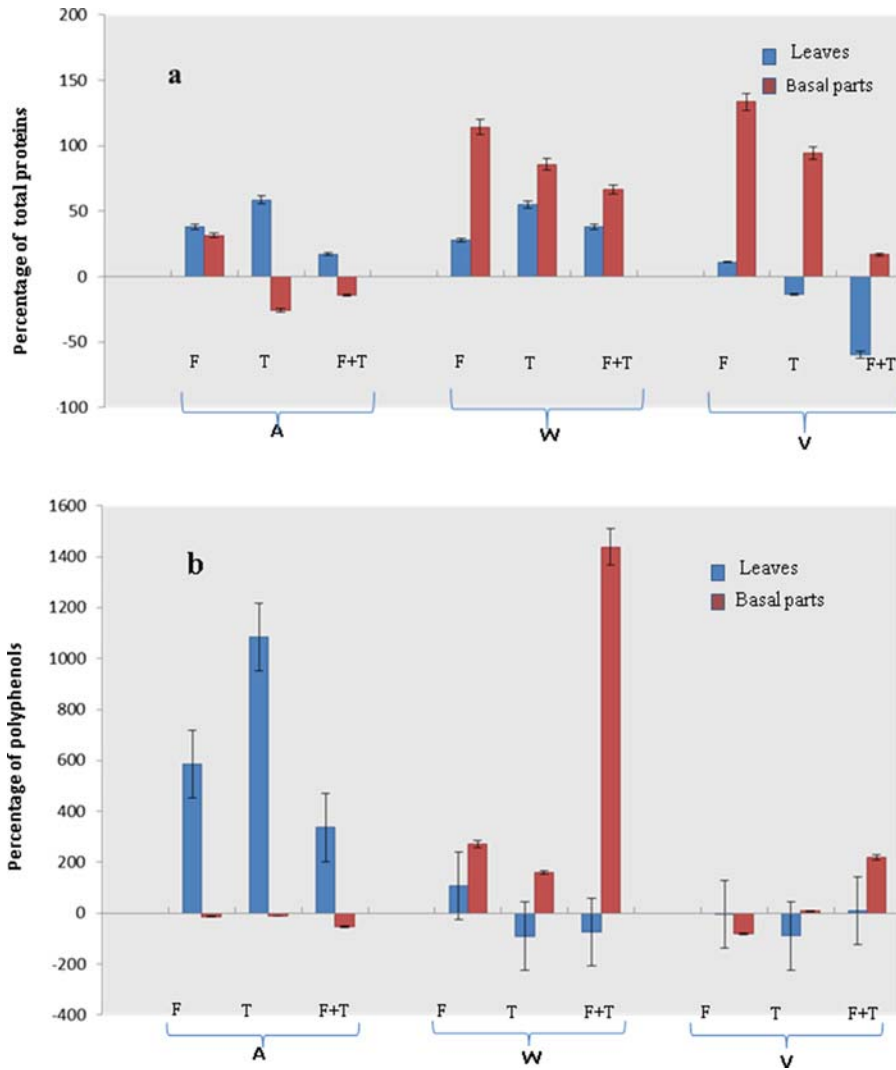


Figure 1. Effect of *Trichoderma atroviride* in inducing total protein (a) and p phenol (b) in leaves and basal parts of wheat varieties against *Fusarium culmorum*. F = inoculated with *Fusarium culmorum* alone, T = Treated with *Trichoderma* alone, F + T = coinoculated with *Trichoderma Fusarium culmorum*, A = Ain Abid, W = Waha, V = Vitron.

inoculated Waha plants had significantly increased activity in its collar, by up to 393% ($F = 23.53$, $df = 4$, $P \leq 0.0005$).

Catalase activity

Similar catalase activity was found in the uninoculated controls across all tested varieties, and catalase activity was higher in the leaves than in the basal parts for all varieties (Table 1).

Compared to the uninoculated control plants, wheat seeds inoculated with both Ta.13 and *F. culmorum* showed significant changes in the catalase activity ($F = 133.38$, $df = 12$, $P \leq 0.0005$). The maximum catalase activity was found in the basal parts and leaves of

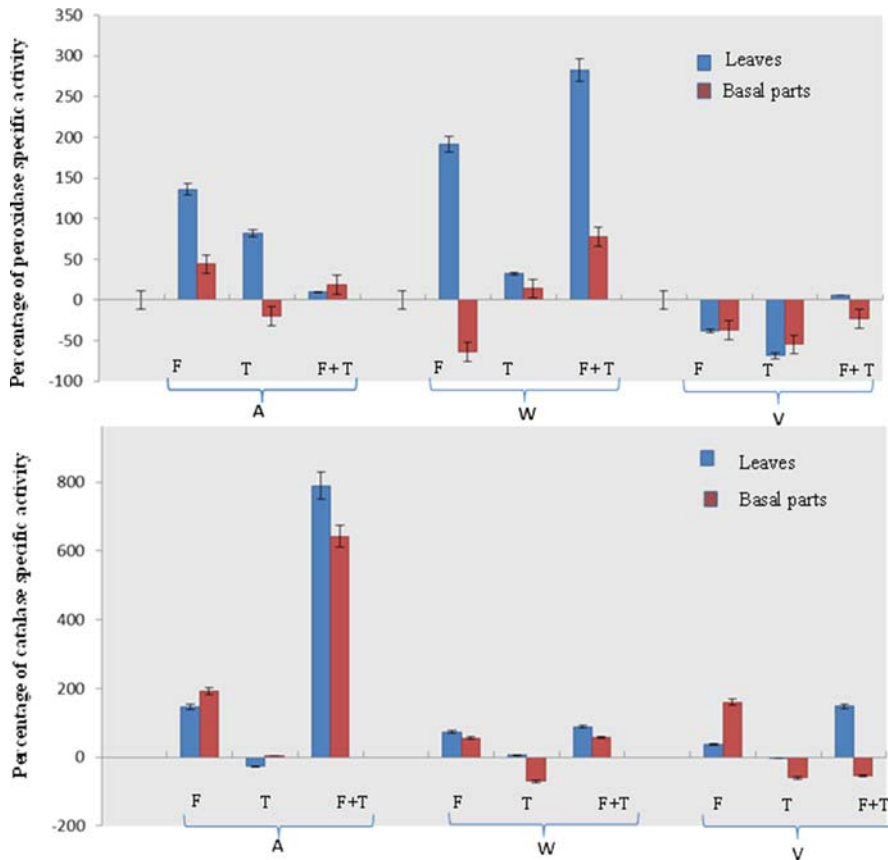


Figure 2. Effect of *Trichoderma atroviridae* in inducing peroxidase (a) and catalase (b) activity in leaves and basal parts of wheat varieties against *Fusarium culmorum*. F = inoculated with *Fusarium culmorum* alone, T = Treated with *Trichoderma* alone, F + T = coinoculated with *Trichoderma Fusarium culmorum*, A = Ain Abid, W = Waha, V = Vitron.

coinoculated plants of Ain Abid variety, up 641% and 788% compared to the uninoculated controls, respectively. This change in activity was less pronounced in the Waha variety than in Ain Abid. In fact, the Waha plants co-inoculated with Ta.13 and *F. culmorum* had a rate of change (from the control) equivalent to that of plants inoculated with *F. culmorum* alone, suggesting that Ta.13 did not have an additional effect on CAT induction. In the Vitron variety, the CAT activity in plants inoculated only with the pathogen was significantly higher in the collar than in the leaves ($F = 321.78$, $df = 11$, $P \leq 0.0005$). In contrast, in plants co-inoculated with both Ta.13 and *F. culmorum*, CAT activity was higher in leaves than in collars ($F = 321.78$, $df = 11$, $P \leq 0.0005$). All wheat varieties inoculated with Ta.13 alone showed a decrease or non-significant increase in catalase activity, particularly in leaves ($F = 133.38$, $df = 12$, $P \geq 0.05$). Compared to the plants inoculated with *F. culmorum* alone, Ain Abid plants that were co-inoculated showed the highest catalase activity, among the three varieties, in both their collars and leaves, being up 154% and 261% respectively compared to the untreated control, followed by Vitron, which showed 80% increase in CAT activity in leaves only.

Discussion

The limited efficacy chemical fungicides in protecting wheat from root and crown rots, as well as the absence of any fully disease-resistant wheat varieties, creates a need for other approaches, including biofungicidal agents. Our results show there are significant changes in protein content, total phenols, as well as levels of POX activity and CAT enzymes in wheat plants inoculated with the biofungicide *T. atroviride* (Ta.13), compared to the uninoculated control plants and co-inoculated plants. We also noticed significant differences in these responses between wheat varieties and between plant tissues (the basal area vs. leaves).

For protein levels, compared to the uninoculated controls in our study, the three wheat varieties inoculated with the pathogen *F. culmorum* alone showed an overproduction of total proteins. This overproduction was also seen in plants co-inoculated with both the pathogen and the biofungicide Ta.13, especially in the Waha variety. This increase in protein content and the level of antioxidant defense can be explained in terms of plant-defense proteins responsible for maintaining cellular functions and protecting tissues against damage from endogenous compounds (Chan & Tian, 2006). However, declines in protein content in some treatments can be associated with inhibition and degradation of protein synthesis by hydroxyl radicals under stress (Çördük et al., 2016).

In regards phenol levels, compared to the uninoculated control plants, the highest levels of phenolic compounds were in the basal stem of the Waha variety co-inoculated with Ta.13 and *F. culmorum*, followed by the leaves of the Ain Abid variety inoculated by Ta.13 alone, with increases of 1400% and 1000% over the control, respectively. Surekha et al. (2014) found the highest phenol levels in urdbean plants, *Vigna mungo* (L.) Hepper, inoculated with *Trichoderma viride* Pers. alone (up 150% over the control), followed by plants co-inoculated with both *T. viride* and *Fusarium oxysporum* Schlecht. (up by 113% over the control). The induction of phenol in the plant collars, but not leaves, was seen in the Waha and Vitron varieties, which can be related to the plants' confinement of the pathogen locally to just the collar area, where the polyphenols block the development of the pathogen. The *Trichoderma* biofungicide induces defensive metabolites, which may contribute to the plant's ability to inhibit the pathogen's progression through plant tissues (Guzmán-Valle et al., 2014; Matern & Kneusal, 1988; Viterbo & Horwitz, 2010; Zaidi & Singh, 2013).

Peroxidase levels were increased by application of *T. atroviride* in all wheat varieties, compared to the untreated controls, and the most significant induction was found in co-inoculated Waha leaf tissue, with an increase of up to 393% over the control, compared with plants inoculated only with the pathogen (for which the increase over the control was only 288%).

Several studies have focused on *Trichoderma* spp. applications in other pathosystems and have obtained similar results. Fotoohiyani et al. (2015) noted that POX induction was greater in pistachio kernels co-inoculated with *T. harzianum* Rifai and the pathogen *Verticillium dahlia* Kleb. than in plants inoculated with the pathogen alone or the antagonist alone. Singh et al. (2018) found that POX induction increased 346% in sugarcane plants infected by *Colletotrichum falcatum* Went. Guzmán-Valle et al. (2014) reported that the application of *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg to three varieties of onion

against *Sclerotium rolfsii* Sacc. increased enzymatic activity, especially in co-inoculated plants, more than *T. asperellum* alone. Mustafa et al. (2017) reported that inoculation of wheat with arbuscular mycorrhizae to control powdery mildew induced POX activity in infected leaves, compared with the uninoculated control. Sreedevi et al. (2011) reported that *T. harzianum* induced POX activity and polyphenols content in groundnut plants when applied against the pathogen *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.

In the same way, Rais et al. (2017) also found that *Bacillus* spp. improved the peroxidase activity of three Basmati rice varieties in both leaves and roots, and that the Basmati super variety showed the highest rate of increase compared to other varieties (by more than 3.5-4.1 fold). The high value of the POX enzymatic activity can be considered as a marker for fungal disease resistance, possibly by its use in lignification of the cell wall, which constitutes a physical barrier against pathogen penetration of cells or vessels (Fotoohiyan et al., 2015; Vidhyasekaran, 1997; Welinder, 1992). According to Armas et al. (2007), increases of POX activity are a very significant part of the defense mechanism but not a general determinant or resistance marker. POX activity levels can also be used in the breeding programmes to promising clones among cultivars tested.

Very high levels of induction of CAT activity in both leaves and collar area tissues were recorded in the Ain Abid variety when co-inoculated with T.a13 and *F. culmorum*. In contrast, there was only a low level of induction in the Waha and Vitron varieties under that same co-inoculation conditions. On the other hand, and for the same treatment, POX activity was very low in the Ain Abid variety compared to the Waha variety, where it was very high. This pattern may be due to the synergistic relationship between the two enzymes given that the main role of catalase is to oxidize hydrogen peroxide to oxygen, and peroxidases use this intermediate form for the degradation of other substrates rather than H₂O₂ (Leung, 2018; Njuma et al., 2017; Vidossicha et al., 2012). The presence of natural catalytic activity in the leaves of healthy plants plays a role in the degradation of the ROS and reactive nitrogen species (RNS) released from peroxisomes during photorespiration or lignification. Under biotic or abiotic stresses, ROS's peroxisomal generation is altered, leading to depression in antioxidant activity (Corpas et al., 2017; Del Rio et al., 2006; Eising et al., 1998; Heinze & Gerhard, 2002).

Besides, the detection of these defense metabolites in the leaves indicated that the response is truly systemic (Armas et al., 2007; Guzmán-Valle et al., 2014; Salas-Marina et al., 2011; Zehra et al., 2017). Several studies have shown that species of *Trichoderma* can activate defensive metabolism activity, systemic pathways against several biotic or abiotic stress (Kumar et al., 2017; Panina et al., 2007; Singh et al., 2018). Salas-Marina et al. (2015) have genetically confirmed that *T. atroviride* can induce systemic acquired resistance (SAR) and induced systemic resistance (ISR) for the protection of tomatoes against *Botrytis cinerea* Pers. and *Alternaria solani* Sorauer. Kumar and Kumar (2018) found that *T. harzianum*-induced resistance in *Brassica juncea* (L.) Czern. against *Albugo candida* (Pers.) Roussel. Similar results have been found using other antagonistic agents in other pathosystems. Chen et al. (2000) reported that the application of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in cucumber roots suppressed root rot caused by *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. through root colonisation and induction of systemic defensive enzymes.

Our study showed that peroxidase and catalase activities are induced, together with total protein and phenol production, in ways that differ among wheat varieties and

between tissues (collar vs. leaves) within the same plant. This variation may be related to plant genotype, pathogen types, or physiological and environmental conditions (Lattanzio, 2013).

In summary, *T. atroviride* showed high efficacy in inducing important biochemical parameters related to disease resistance, such as total phenol accumulation, catalase, and peroxidase activities. This induction was systemic and depended on the wheat variety. Further research, such as molecular and histological analyses, are needed to understand the mechanisms stimulated defense metabolites, by emphasizing the variety and migration of these metabolites among plant parts.

Acknowledgements

The authors thank the «Ecole Nationale Supérieure Agronomique, ENSA» and the «Direction Générale de la Recherche Scientifique et du Développement Technologique, DGRSDT» of Algiers, Algeria for their financial support of this research. The authors are also grateful to the «Institut Nationale Agronomique de Tunis, INAT» for their help in biochemical analyses, and also thank Dr Nassima Lassouane from ENSA-Algeria for reviewing this manuscript.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

References

- Abdallah-Nekache, N., Laraba, I., Ducos, C., Barreau, C., Bouznad, Z., & Bouregghda, 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>
- Alahmad, S., Simpfendorfer, S., Bentley, A. R., & Hickey, L. T. (2018). Crown rot of wheat in Australia: *Fusarium pseudograminearum* taxonomy, population biology and disease management. *Australasian Plant Pathology*, 47(3), 285–299. <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0554-z>
- Armas, A., Santiago, R., Legaz, M. E., & Vicente, C. (2007). Levels of phenolic compounds and enzyme activity can be used to screen for resistance of sugarcane to smut *Ustilago scitaminea*. *Australasian Plant Pathology*, 36(1), 32–38. <https://doi.org/10.1071/AP06077>
- Backhouse, D., Abubakar, A. A., Burgess, L. W., Dennis, J. I., Hollaway, G. J., Wildermuth, G. B., Wallwork, H., & Henry, F. J., (2004). Survey of *Fusarium* species associated with crown rot of wheat and barley in eastern Australia. *Australasian Plant Pathology*, 33(2), 255–261. <https://doi.org/10.1071/AP04010>
- Beccari, G., Prodi, A., Pisi, A., Nipoti, P., Onofri, A., Nicholson, P., Pfohl, K., Karlovsky, P., Gardiner, D. M., & Covarelli, L. (2018). Development of three *Fusarium* crown rot causal agents and systemic translocation of deoxynivalenol following stem base infection of soft wheat. *Plant Pathology*, 67(5), 1055–1065. <https://doi.org/10.1111/ppa.12821>
- Beers, R. F., & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133–140.
- Benhamou, N., Kloepper, W., Quadt-Hallman, A., & Tuzun, S. (1996). Induction of defense-related ultrastructural modifications in pea root tissues inoculated with endophytic bacteria. *Plant Physiology*, 112(3), 919–929. <https://doi.org/10.1104/pp.112.3.919>
- Bouregghda, H., & Bouznad, Z. (2009). Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 44(1), 25–38. <https://doi.org/10.1556/APhyt.44.2009.1.4>

- Bouregghda, H., & Renane, R. (2011). *In vitro* study of antagonistic activity of some isolates of *Trichoderma* spp. Against *Fusarium* spp. Isolates the causal agent of wheat head scab. *Arab Journal of Plant Protection*, 29, 51–59.
- Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Burgess, L. W., Backhouse, D., Summerell, B. A., & Swan, L. J. (2001). Crown rot of wheat. In B. A. Summerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, & L. W. Burgess (Eds.), *Fusarium – Paul E. Nelson memorial symposium* (pp. 271–295). American Phytopathological Society Press.
- Cawood, M. E., Pretorius, J. C., Visser, B., & Van der Westhuize, A. J. (2013). Induced gene expression in wheat seedlings treated with a crude extract of *Agapanthus africanus* L. prior to leaf rust infection. *African Journal of Biotechnology*, 12, 2876–2883. <https://doi.org/10.5897/AJB12.1738>
- Chan, Z., & Tian, S. (2006). Induction of H₂O₂-metabolizing enzymes and total protein synthesis by antagonistic yeast and salicylic acid in harvested sweet cherry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.10.009>
- Chekali, S., Gargouri, S., Berraies, S., Gharbi, M. S., Nicol, M. J., & Nasraoui, B. (2013). Impact of *Fusarium* foot and root rot on yield of cereals in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 8, 75–86.
- Chekali, S., Gargouri, S., Rezgui, M., Paulitz, T., & Nasraoui, B. (2016). Impacts of previous crops on *Fusarium* foot and root rot, and on yields of durum wheat in North West Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(2), 253–261. https://doi.org/10.14601/Phytopatol_Mediterr-17933
- Chen, C., Belanger, R. R., Benhamou, N., & Paulitz, T. C. (2000). Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56(1), 13–23. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1999.0243>
- Cook, R. J. (1980). *Fusarium* foot rot of wheat and its control in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, 64(12), 1061–1066. <https://doi.org/10.1094/PD-64-1061>
- Çördük, N., Akinci, N., Kaya, N., Yücel, G., & Aki, C. (2016). Effects of dodine on total protein content and peroxidase activity in *Vicia faba*. *Saü Fen Bil Der*, 20(3), 627–633.
- Corpas, F. J., Barroso, J. B., Palma, J. M., & Rodríguez-Ruiz, M. (2017). Plant peroxisomes: A nitro-oxidative cocktail. *Redox Biology*, 11, 535–542. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.12.033>
- Del Rio, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M., & Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiology*, 141(2), 330–335. <https://doi.org/10.1104/pp.106.078204>
- Demirci, E., & Dane, E. (2003). Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. from stem bases of winter wheat in Erzurum, Turkey. *Phytoparasitica*, 31(2), 170–173. <https://doi.org/10.1007/BF02980787>
- Dendouga, W., Bouregghda, H., & Belhamra, M. (2016). Biocontrol of wheat *Fusarium* crown and root rot by *Trichoderma* spp. and evaluation of their cell wall degrading enzymes activities. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 51(1), 1–12. <https://doi.org/10.1556/038.51.2016.1.1>
- Egley, G. H., Paul, R. N., Vaughn, K. C., & Duke, S. O. (1983). Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. *Planta*, 157(3), 224–232. <https://doi.org/10.1007/BF00405186>
- Eising, R., Heinze, M., Kleff, S., & Tenberge, K. B. (1998). Subcellular distribution and photooxidation of catalase in sunflower. In G. Noga, & M. Schmitz (Eds.), *Antioxidants in higher plants. Biosynthesis, characteristics, actions and specific functions in stress defence* (pp. 53–63). Shaker-Verlag.
- El-Khalifeh, M., El-Ahmed, A., Yabrak, M., & Nachit, M. (2006). Variation of cultural and morphological characteristics in *Fusarium* spp. pathogens of common root rots disease on wheat in Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 24, 67–74.

- Eslahi, M. (2012). Fungi associated with root and crown rot of wheat in Khuzestan province, Iran. *Journal of Crop Protection*, 1(2), 107–113.
- Fotoohiyan, Z., Rezaee, S., ShahidiBonjar, G. H., Mohammadi, A. H., & Moradi, M. (2015). Induction of systemic resistance by *Trichoderma harzianum* isolates in pistachio plants infected with *Verticillium dahlia*. *Journal of Nuts*, 6(2), 95–111. <https://doi.org/10.22034/JON.2015.516317>
- Guzmán-Valle, P., Bravo-Luna, L., Montes-Belmont, R., Guigón-López, C., & Sepúlveda-Jiménez, G. (2014). Induction of resistance to *Sclerotium rolfsii* in different varieties of onion by inoculation with *Trichoderma asperellum*. *European Journal of Plant Pathology*, 138(2), 223–229. <https://doi.org/10.1007/s10658-013-0336-y>
- Harman, G. E. (2006). Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 96(2), 190–194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>
- Harman, G. E., & Shores, M. (2007). The mechanism and application of symbiotic opportunistic plant symbionts. In M. Vurro, & J. Gressel (Eds.), *Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management. NATO security through science series* (pp. 131–155). Springer.
- Harman, G. E., Taylor, A. G., & Stasz, T. E. (1989). Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments. *Plant Disease*, 73(8), 631–637. <https://doi.org/10.1094/PD-73-0631>
- Heinze, M., & Gerhard, B. (2002). Plant catalases. In A. Baker, & I. A. Graham (Eds.), *Plant peroxisomes* (pp. 103–140). Springer.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., & El Mahjoub, M. (2005). Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 9(3), 163–171.
- Kotchoni, S. W., & Gachomo, E. W. (2006). The reactive oxygen species network pathways: An essential prerequisite for perception of pathogen attack and the acquired disease resistance in plants. *Journal of Biosciences*, 31(3), 389–404. <https://doi.org/10.1007/BF02704112>
- Kumar, P., & Kumar, C. (2018). Molecular and enzymatic approach to study *Trichoderma harzianum*-induced disease resistance in *Brassica juncea* against *Albugo candida*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 125(2), 167–175. <https://doi.org/10.1007/9-81-322-1792-3>
- Kumar, M., Patel, J. S., Kumar, G., Sarkar, A., Singh, H. B., & Sarma, B. K. (2017). Studies on *Pseudomonas* and *Trichoderma*-mediated root exudation pattern in chickpea against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 19, 969–978.
- Laraba, I., Keddad, A., Bouregghda, H., Abdallah, N., Vaughan, M. M., Proctor, R. H., Busman, M., & O'Donnell, K. (2017). *Fusarium algeriense*, sp. nov., a novel toxigenic crown rot pathogen of durum wheat from Algeria is nested in the *Fusarium burgessii* species complex. *Mycologia*, 109(6), 935–950. <https://doi.org/10.1080/00275514.2018.1425067>
- Lattanzio, V. (2013). Phenolic compounds: Introduction. *Natural Products*, 1543–1580. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_57
- Leung, D. W. M. (2018). Studies of catalase in plants under abiotic stress. In D. K. Gupta et al. (Eds.), *Antioxidants and antioxidant enzymes in higher plants* (pp. 27–39). Springer International Publishing AG.
- Lounaci, L., Guemouri-Athmani, S., Bouregghda, H., Achouak, W., & Heulin, T. (2016). Suppression of crown and root rot of wheat by the rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa*. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(3), 355–365. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-18055
- Matern, U., & Kneusel, R. E. (1988). Phenolic compounds in plant disease resistance. *Phytoparasitica*, 16(2), 153–170. <https://doi.org/10.1007/BF02980469>
- Matny, O., Shamsallah, S., Al Fahad, M., & Haas, M. (2019). Genetic diversity study of *Fusarium culmorum*: Causal agent of wheat crown rot in Iraq. *Journal of Plant Protection Research*, 59(2), 206–213. <https://doi.org/10.1101/341909>
- McMullen, M. P., Zhong, S., & Neate, S. (2008). *Fusarium* head blight (Scab) of small grains, North Dakota State University Extension Service. Fargo, ND.
- Miedaner, T. (1997). Breeding wheat and rye for resistance to *Fusarium* diseases. *Plant Breeding*, 116(3), 201–220. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1997.tb00985.x>

- Murray, G. M., & Brennan, J. P. (2009). Estimating disease losses to the Australian wheat industry. *Australasian Plant Pathology*, 38(6), 558–570. <https://doi.org/10.1071/AP09053>
- Mustafa, G., Khong, N. G., Tisserant, B., Randoux, B., Fontaine, J., Magnin-Robert, M., Reignault, P., & Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2017). Defence mechanisms associated with mycorrhiza-induced resistance in wheat against powdery mildew. *Functional Plant Biology*, 44(4), 443–454. <https://doi.org/10.1071/FP16206>
- Njuma, O. J., Davis, I., Ndontsa, E. N., Krewall, J. R., Liu, A., & Goodwin, D. C. (2017). Mutual synergy between catalase and peroxidase activities of the bifunctional enzyme KatG is facilitated by electron-hole hopping within the enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, 292(45), 18408–18421. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.791202>
- Panina, Y., Fravel, D. R., Baker, C. J., & Shcherbakova, L. A. (2007). Biocontrol and plant pathogenic *Fusarium oxysporum*-induced changes in phenolic compounds in tomato leaves and roots. *Journal of Phytopathology*, 155(7-8), 475–481. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01260.x>
- Qostal, S., Kribel, S., Chliyeh, M., Serghat, S., Selmaoui, K., OuazzaniTouhami, A., et al. (2019). Study of the fungal complex responsible for root rot of wheat and barley in the north-west of Morocco. *Plant Archives*, 19(2), 2143–2157.
- Rais, A., Jabeen, Z., Shair, F., Hafeez, F. Y., & Hassan, M. N. (2017). *Bacillus* spp., a bio-control agent enhances the activity of antioxidant defense enzymes in rice against *Pyricularia oryzae*. *PloS One*, 12(11), e0187412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187412>
- Salas-Marina, M. A., Isordia-Jasso, M. I., Islas-Osuna, M. A., Delgado-Sánchez, P., Jiménez-Bremont, J. F., Rodríguez-Kessler, M., Rosales-Saavedra, M. T., Herrera-Estrella, A., & Casas Flores, S. (2015). The Epl1 and Sm1 proteins from *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma virens* differentially modulate systemic disease resistance against different lifestyle pathogens in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science*, 7(6), 13.
- Salas-Marina, M. A., Silva-Flores, M. A., Uresti-Rivera, E. E., Castro-Longoria, E., Herrera-Estrella, A., & Casas-Flores, S. (2011). Colonization of *Arabidopsis* roots by *Trichoderma atroviride* promotes growth and enhances systemic disease resistance through jasmonic acid/ethylene and salicylic acid pathways. *European Journal of Plant Pathology*, 131(1), 15–26. <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9782-6>
- Saremi, H., Okhovvat, S. M., & Ashrafi, S. J. (2011). *Fusarium* diseases as the main soil borne fungal pathogen on plants and their control management with soil solarization in Iran. *African Journal of Biotechnology*, 10(80), 18391–18398. <https://doi.org/10.5897/AJB11.2935>
- Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013). *Fusarium culmorum*: Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology*, 14(4), 323–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12011>
- Shikur Gebremariam, E., Sharma-Poudyal, D., Paulitz, T. C., Erginbas-Orakci, G., Karakaya, A., & Dababat, A. A. (2018). Identity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with crown rot on wheat (*Triticum* spp.) in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 150(2), 387–399. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1285-7>
- Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48(1), 21–43. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114450>
- Singh, P., Tripathi, N., Josh, D., Pathak, A. D., & Sethi, A. (2018). *Trichoderma* elicitors create a potential chemical barrier through induced systemic resistance against *Colletotrichum falcatum* and minimise sucrose losses in sugar cane. *Journal of Plant Pathology*, 100(2), 151–162. <https://doi.org/10.1007/s42161-018-0034-x>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Siou, D. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien, thèse de Doctorat, Université de Paris Sud 11, (p. 182).

- Smiley, R. W., Backhouse, D., Lucas, P., & Paulitz, T. C. (2009). Diseases which challenge global wheat production-root, crown, and culm rots. In B. F. Carver (Ed.), *Wheat science and trade* (pp. 125–153). Wiley-Blackwell.
- Smiley, R. W., Gourlie, J. A., Easley, S. A., Patterson, L. M., & Whittaker, R. G. (2005). Crop damage estimates for crown rot of wheat and barley in the Pacific Northwest. *Plant Disease*, 89(6), 595–604. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0595>
- Smiley, R. W., & Patterson, L. M. (1996). Pathogenic fungi associated with *Fusarium* foot rot of winter wheat in the semiarid Pacific Northwest. *Plant Disease*, 80(8), 944–949. <https://doi.org/10.1094/PD-80-0944>
- Spanu, F. (2011). Functional analysis of the *Fusarium culmorum* genome: gene silencing, transposon tagging and gene knock-out by homologous recombination, thèse de doctorat, Italie, Université de Sassari (p. 127).
- Sreedevi, B., Charitha Devi, M., & Saigopal, D. V. R. (2011). Induction of defense enzymes in *Trichoderma harzianum* treated groundnut plants against *Macrophomina phaseolina*. *Journal Biological Control*, 25(1), 33–39. <https://doi.org/10.18311/jbc/2011/3838>
- Surekha, C. H., Neelapu, N. R. R., Prasad, B. S., & Ganesh, P. S. (2014). Induction of defence enzymes and phenolic content by *Trichoderma viride* in *Vigna mungo* infested with *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 4(4), 31–40.
- Tunali, B., Nicol, J. M., Hodson, D., Uçkun, Z., Büyük, O., Erdurmuş, D., Hekimhan, H., Aktaş, H., Akbudak M. A., & Bağcı S. A. (2008). Root and crown rot fungi associated with spring, facultative, and winter wheat in Turkey. *Plant Disease*, 92(9), 1299–1306. <https://doi.org/10.1094/PDIS-92-9-1299>
- Vidhyasekaran, P. (1997). *Fungal pathogenesis in plants and crops* (D. Marcel, Ed., pp. 67–73). Molecular Biology and Host defence Mechanisms.
- Vidossicha, P., Alfonso-Prietob, M., & Rovira, C. (2012). Catalases versus peroxidases: DFT investigation of H₂O₂ oxidation in models systems and implications for heme protein engineering. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 117, 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2012.07.002>
- Viterbo, A., & Horwitz, B. A. (2010). Mycoparasitism. In K. A. Borkovich, & D. J. Ebbole (Eds.), *Cellular and molecular biology of filamentous fungi* (vol. 42, pp. 676–693). American Society for Microbiology.
- Welinder, K. G. (1992). Super family of plant, fungal and bacterial peroxidases. *Current Opinion Structure Biology*, 2(3), 388–393. [https://doi.org/10.1016/0959-440X\(92\)90230-5](https://doi.org/10.1016/0959-440X(92)90230-5)
- Yedidia, I., Shosh, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2003). Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7343–7353. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7343-7353.2003>
- Zaidi, N. W., & Singh, U. S. (2013). *Trichoderma* in plant health management. In P. K. Mukherjee, B. A. Horwitz, U. S. Singh, Mukherjee, & M. Schmoll (Eds.), *Trichoderma: Biology and Applications* (pp. 230–246). CABI.
- Zehra, A., Meena, M., Dubey, M. K., Aamir, M., & Upadhyay, R. S. (2017). Synergistic effects of plant defense elicitors and *Trichoderma harzianum* on enhanced induction of antioxidant defense system in tomato against *Fusarium* wilt disease. *Botanical Studies*, 58(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0198-2>