

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL -HARRACH- ALGER

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر

## Thèse

Présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en Sciences Agronomiques

Par

CHIHAT Saliha

**Identification et étude de l'effet antagoniste de *Trichoderma* spp.  
de différents sols et écosystèmes en Algérie à l'égard  
de quelques maladies fongiques**

Soutenue le 14 / 07 / 2022

Composition du jury :

Président	M. BOUZNAD Zouaoui	Professeur	ENSA	Alger
Directeur de thèse	Mme BOUREGHDA Houda	Professeur	ENSA	Alger
Examineurs	Mme MEKLAT Atika	Professeur	ENS	Kouba
	Mme TIHAR-BENZINA Farida	MCA	UMBB	Boumerdes

Année Universitaire : 2021/2022

## Résumé

---

Les champignons constituent la cause de nombreuses maladies des plantes qui entraînent d'importantes pertes de rendement et conduisent à la destruction de cultures. Afin de limiter ces maladies, l'utilisation de souches de *Trichoderma* spp. a montré ses effets antagonistes contre plusieurs espèces de champignons phytopathogènes et leur capacité à contrôler ces maladies. Une collection de quarante-six souches de *Trichoderma* spp. ont été isolées du sol dans différents lieux (Nord, Est, Ouest et Sud) et écosystèmes en Algérie. Elles ont été identifiées au niveau de l'espèce par l'analyse des régions 1 et 2 de leurs espaceurs internes transcrits (ITS1 et ITS2) de l'ADNr et d'un fragment du gène du facteur d'élongation de la traduction 1- $\alpha$  (Tef1). Au total, 46 isolats de *Trichoderma* spp. ont été attribués à *T. atroviride* (12 souches), *T. gamsii* (10), *T. orientale* (1) et 23 au complexe d'espèces de *T. harzianum* (*T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense*). Dans la présente étude, nous soulignons que *T. gamsii*, *T. orientale*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense* sont signalées pour la première fois en Algérie. La croissance mycélienne des isolats a été évaluée à des températures allant de 10 à 40°C sur des milieux de culture PDA et SNA. En général, le taux de croissance le plus élevé a été enregistré à 25 et 30°C. Cependant, *T. orientale* a pu croître à 40°C, tandis que les autres espèces ne poussaient pas à cette température. Des tests ont été menés pour évaluer l'effet antagoniste *in vitro* de tous les isolats contre quatre espèces pathogènes associées à des cultures stratégiques en Algérie : *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani* et *Rhizoctonia solani* sur milieu PDA par confrontation directe et indirecte. Dans la confrontation directe, l'inhibition du taux de croissance se situait entre 37,22 % et 80,95 %, tandis que dans la confrontation indirecte, elle se situait entre 00 % et 88,89 %. L'essai de biocontrôle effectué sur blé a montré que *T. atroviride* (Ta.09), *T. orientale* (To.15), *T. afroharzianum* (T af. 17 et T af. 37) et *T. gamsii* (T g. 39) ont donné des résultats très prometteurs à l'égard de *F. culmorum*, le principal agent pathogène associé à la pourriture du collet et la fusariose de l'épi du blé en Algérie. Cette constatation est basée sur la diminution significative de la gravité de la maladie par rapport au témoin (> 82 %). Les données enregistrées ont également montré que *T. atroviride* (Ta.09) a enregistré le pourcentage le plus élevé de réduction de la maladie (97,28%).

**Mots clés :** *Trichoderma*, ITS, EF-1 $\alpha$ , Potentiel antagoniste, Taux de croissance

## ملخص

الفطريات هي سبب العديد من الأمراض النباتية ، وهذه الأمراض تسبب خسائر كبيرة في الغلة ، مما يؤدي في بعض الأحيان إلى تدمير المحاصيل ، أو حتى حقول بأكملها تظهر أمراض جديدة أيضاً نتيجة للطفرات في مسببات الأمراض أو تكيفها مع بيئات جديدة تعتمد. مكافحة هذه الأمراض بشكل أساسي على مبيدات الفطريات ، وهي شديدة الخطورة على الإنسان والتي يمكن أن تدمر جميع الكائنات الحية سواء كانت ضارة أو مفيدة للمحاصيل بالإضافة إلى ذلك ، فإن استخدامها المنتظم مسؤول إلى حد كبير عن مقاومة سلالات الفطريات الممرضة للنبات. تعتبر المكافحة البيولوجية لأمراض المحاصيل المختلفة حلاً طارئاً موثوقاً به لمكافحة هذه الأمراض. في الواقع ، ركزت هذه الطرق البديلة لحماية المحاصيل على إدخال العديد من الكائنات الحية الدقيقة المفيدة كمكونات نشطة في العديد من التركيبات الجديدة للمبيدات الحيوية التي تمثل أساس العديد من المنتجات الطبيعية ذات الأصل الميكروبي. لترايكوديرما تم بحثها على نطاق واسع ؛ وقد ثبت أن هذه الأنواع موثوقة في السيطرة على مجموعة واسعة من أمراض النبات ويتم تسويقها حالياً كمبيدات آفات حيوية في العديد من البلدان حول العالم. أتاح هذا العمل البحثي إمكانية تكوين مجموعة من ستة وأربعين سلالة التي تم عزلها عن الأرض في أماكن مختلفة (شمال وشرق وغرب و (Tef1) على مستوى الأنواع . و (جنوب) وأنظمة بيئية مختلفة في الجزائر، تم تحديدها من خلال إجمالي ستة وأربعين سلالة من الترايكوديرما نسبت إلى 23 سلالة تنتمي إلى rDNA من (ITS1 و ITS2) مجموعة تريكوديرما هرزينوم، 12 تريكوديرما أتروفريد، 10 تريكوديرما قامسي، 1 تريكوديرما أوريونتال. تم تقييم النمو الفطري للعزلات عند درجات حرارة تتراوح من 10 إلى 40 درجة مئوية ، بشكل عام ، تم تسجيل أعلى معدل نمو عند 25-30 درجة مئوية. تم إجراء اختبارات لتقييم التأثير المضاد في المختبر لجميع العزلات ضد أربعة أنواع ممرضة مرتبطة بالزراعات الإستراتيجية بالجزائر عن طريق المواجهة المباشرة وغير المباشرة ل رزوكتونيا صولني، الترناريا صولني، بوترتيس سنريا كولموروم فوزاريوم.

في المواجهة المباشرة تراوحت نسبة تثبيط النمو بين 37.22% و 80.95% بينما تراوحت في المواجهة غير المباشرة بين 00% و 88.89%. أظهر اختبار المكافحة البيولوجية التي أجريت على نبات القمح نتائج جيدة ضد عفن التاج ولفحة سنابل القمح في الجزائر. تستند هذه النتيجة إلى الانخفاض الكبير في شدة المرض مقارنة بالسيطرة

الكلمات المفتاحية: TS, EF-1 $\alpha$ ، الترايكوديرما ، قدرة التضاد، معدل النمو، المكافحة الحيوي

## Abstract

---

Fungi are the cause of many plant diseases, these diseases cause significant yield losses, sometimes leading to the destruction of crops, or even entire fields. To control these diseases by biological methods, the use of strains of *Trichoderma* spp has been extensively researched and proven to have antagonistic effects against several species of pathogenic fungi and to be reliable in the fight against these diseases. This thesis work made it possible in particular to constitute a collection of forty-six strains of *Trichoderma* spp which were isolated from the soil in different places (North, East, West and South) and ecosystems in Algeria. They were identified at the species level by analyzing regions 1 and 2 of their transcribed internal spacers (ITS1 and ITS2) of rDNA and a fragment of the translation elongation factor gene 1-  $\alpha$  (Tef1). A total of 46 *Trichoderma* spp. were identified of which attributed to *T. atroviride* (12 strains), *T. gamsii* (10), *T. orientale* (1) and 23 to the species complex of *T. harzianum* (*T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum* and *T. guizhouense*). In the present study, we highlight that *T. gamsii*, *T. orientale*, *T. atrobrunneum* and *T. guizhouense* are reported for the first time in Algeria. The mycelial growth of the isolates was evaluated at temperatures ranging from 10 to 40 ° C on PDA and SNA culture media. In general, the highest growth rate was recorded at 25-30 ° C. However, *T. orientale* was able to grow at 40 ° C, while other species did not grow at this temperature. Tests were carried out to evaluate the antagonist effect in vitro of all the isolates against four pathogenic species associated with strategic cultures in Algeria: *Fusarium culmorum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani* and *Rhizoctonia solani* on PDA medium by direct and indirect confrontation. In the direct confrontation, the inhibition of the growth rate was between 37.22% and 80.95%, while in the indirect confrontation it was between 00% and 88.89%. The wheat plant biocontrol test showed that *T. atroviride* (Ta.09), *T. orientale* (To.15), *T. afroharzianum* (T af. 17 and T af. 37) and *T. gamsii* (T g. 39) have given good results against *F. culmorum*, the pathogen of crown rot and *fusarium* wilt of wheat in Algeria. This finding is based on the significant decrease in disease severity compared to control (> 82%). The recorded data also showed that *T. atroviride* (Ta.09) recorded the highest percentage of disease reduction (97.28%).

**Key words:** *Trichoderma*, Antagonist potential, Biocontrol, Growth rate, ITS, EF-1 $\alpha$

# Sommaire

Résumé.....	i
المُلخَص.....	ii
Abstract .....	iii
Sommaire.....	iv
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations.....	xii
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>
<b>Chapitre 1. Synthèse bibliographique.....</b>	<b>3</b>
<b>1. Données sur le genre <i>Trichoderma</i>.....</b>	<b>3</b>
1.1. Historique du genre et taxonomie.....	3
1.2. Caractéristiques et morphologie de <i>Trichoderma</i> / <i>Hypocrea</i> .....	7
1.2.1. Caractéristiques macroscopiques.....	7
1.2.2. Caractéristiques microscopiques .....	8
<b>1.3. Habitat de <i>Trichoderma</i> spp.....</b>	<b>10</b>
<b>1.4. <i>Trichoderma</i> et la lutte biologique .....</b>	<b>12</b>
1.4.1. Efficacité de <i>Trichoderma</i> dans la lutte contre les agents phytopathogènes.....	13
1.4.2. Mécanismes utilisés par <i>Trichoderma</i> spp. dans la lutte biologique.....	13
• La compétition.....	14
• Le mycoparasitisme.....	14
• L'antibiose.....	15
1.4.3. Métabolites secondaires et enzymes impliqués dans l'action antagoniste de <i>Trichoderma</i> .....	17
1.4.3.1. Métabolites secondaires.....	17
1.4.3.1.1. Les peptaibols .....	17
1.4.3.1.2. Diketopiperazines.....	18
- La gliotoxine .....	18
- la gliovirine.....	18

1.4.3.1.3. Les terpènes .....	19
1.4.3.1.4. Les pyrones .....	19
1.4.3.1.5. les polyketides .....	20
1.4.3.2. Les enzymes .....	21
1.4.3.2.1. Enzymes lytiques .....	21
- Les chitinases .....	22
-Les endochitinases.....	22
-Les exochitinases.....	23
<b>1.5. Induction de la résistance systémique chez les plantes par <i>Trichoderma</i> spp</b> .....	24
<b>1.6. Stimulation de la croissance des plantes par les espèces de <i>Trichoderma</i></b> .....	25
<b>1.7. Application de <i>Trichoderma</i> en agriculture</b> .....	26
<b>2. Données générales sur les champignons phytopathogènes affectants</b>	
<b>des cultures stratégiques en Algérie</b> .....	27
2.1. <i>Fusarium culmorum</i> .....	27
2.1.1. Les symptômes de la maladie.....	28
2.2. <i>Botrytis cinerea</i> .....	28
2.2.1. Symptôme de la pourriture grise sur tomate .....	29
2.3. <i>Alternaria solani</i> .....	30
2.3.1. Symptôme de l'alternariose de la pomme de terre.....	30
2.4. <i>Rhizoctonia solani</i> .....	31
<b>Chapitre 2. Matériel et méthodes</b> .....	32
<b>1 Matériels</b> .....	32
<b>1.1. Matériel fongique</b> .....	32
1.1.1. Agent pathogène.....	32
<b>1.2. Matériel végétal</b> .....	32
<b>2. Méthodes</b> .....	32
<b>2.1. Echantillonnage du sol pour l'obtention de <i>Trichoderma</i></b> .....	32
<b>2.2. Isolement de <i>Trichoderma</i> spp</b> .....	33
<b>2.3. Identification des souches de <i>Trichoderma</i> spp</b> .....	33
2.3. 1. Identification morphologique.....	33

2.3. 2. Identification moléculaire.....	34
2.3. 2.1. Extraction de l'ADN .....	34
2.3. 2.2. Amplification de l'ADN par PCR.....	35
- Amplification de la région d'ADNr ITS.....	35
- Amplification d'une partie du gène TEF 1- $\alpha$ .....	35
2.3.2.3. séquençage.....	35
2.3.2.4. Analyse phylogénétique.....	35
<b>2.4. Effet de la température sur la croissance des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.</b> .....	<b>36</b>
2.4.1. L'effet de la température sur la croissance des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu PDA et SNA.....	36
<b>2.5. Evaluation de l'activité antagoniste <i>in vitro</i> des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.</b> .....	<b>36</b>
2.5.1. Confrontation directe .....	36
2.5.2. Confrontation indirecte.....	37
<b>2.6. Essai de protection (<i>in planta</i>) des plants de blé à l'égard de la pourriture     du collet causée par <i>F. culmorum</i> par l'utilisation de quelques isolats     de <i>Trichoderma</i> spp.....</b>	<b>38</b>
2.6.1. Traitement des graines de blé par <i>Trichoderma</i> spp. ....	38
2.6.2. Inoculation par <i>F. culmorum</i> .....	38
2.6.3. Notation des symptômes.....	39
<b>2.7. Analyses statistiques.....</b>	<b>39</b>
<b>Chapitre 3. Résultats et discussion.....</b>	<b>40</b>
<b>1. Résultats.....</b>	<b>40</b>
<b>1.1. Identification des souches de <i>Trichoderma</i>.....</b>	<b>40</b>
1.1.1. Identification morphologique.....	40
1.1.2. Identification moléculaire des espèces de <i>Trichoderma</i> spp.....	40
1.2.2.1. Analyse phylogénétique.....	43
<b>1.3. Effet de la température sur la croissance des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.....</b>	<b>50</b>
1.3.1. Effet de la température sur la croissance des isolats de <i>Trichoderma</i> sur milieu PDA.....	50

1.3.2. Effet de la température sur la croissance des isolats de <i>Trichoderma</i> sur milieu SNA.....	59
<b>1.4. Activité antifongique <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma</i> spp.....</b>	<b>68</b>
1.4.1. Confrontation directe.....	68
1.4.2. Confrontation indirecte.....	81
1.4.3. Corrélation entre l'effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. en confrontation directe et indirecte.....	82
<b>1.5. Essai de protection (<i>in planta</i>) des plants de blé à l'égard de la pourriture du collet causée par <i>F. culmorum</i> par l'utilisation de quelques isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....</b>	<b>91</b>
1.5.1. Corrélation entre l'activité antagoniste des cinq isolats de <i>Trichoderma</i> spp. <i>in vitro</i> et <i>in planta</i> à l'égard de <i>F. culmorum</i> .....	93
<b>2. Discussion.....</b>	<b>94</b>
<b>4. Conclusion générale et perspectives.....</b>	<b>98</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>101</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>120</b>

## Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1.</b> Les biopesticides à base de <i>Trichoderma</i> commercialisés dans le monde .....	27
<b>Tableau 2.</b> Régions et dates de prélèvement des sols .....	33
<b>Tableau 3.</b> Origine et identité des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. ....	45
<b>Tableau 4.</b> Effet de <i>Trichoderma</i> spp. sur la croissance mycélienne des quatre agents pathogènes en confrontation directe.....	73
<b>Tableau 5.</b> Effet de <i>Trichoderma</i> spp. sur la croissance mycélienne des quatre agents pathogènes en confrontation indirecte.....	83

## Liste des figures

---

<b>Figure 1.</b> Illustration des cinq sections reconnues dans <i>Trichoderma</i> .....	4
<b>Figure 2.</b> Structure de la région de l'ADN ribosomal nucléaire.....	5
<b>Figure 3.</b> Structure schématique du gène EF-1 $\alpha$ de l'espèce <i>Hypocrea jecorina</i> , avec la localisation des amorces utilisées pour son amplification.....	6
<b>Figure 4.</b> La variation des couleurs et la morphologie des colonies fongiques de <i>Trichoderma</i> spp. ....	8
<b>Figure 5.</b> Aspect morphologique des conidies, des conidiophores et des phialides de <i>Trichoderma</i> spp. ....	9
<b>Figure 6.</b> Aspect morphologique des chlamydospore de <i>Trichoderma harzianum</i> sur milieu PDA.....	10
<b>Figure 7.</b> Occurrence de <i>Trichoderma</i> spp. dans la nature.....	11
<b>Figure 8.</b> Mycoparasitisme de <i>Trichoderma virens</i> .....	16
<b>Figure 9.</b> Les événements pré-contact de l'interaction <i>Trichoderma</i> -champignon hôte.....	16
<b>Figure 10.</b> Structures des Diketopiperazines de <i>Trichoderma</i> spp. ....	18
<b>Figure 11.</b> La structure du 6-PP isolé de <i>T. viride</i> .....	20
<b>Figure 12.</b> Structure moléculaire de la chitine.....	23
<b>Figure 13.</b> Structure du $\beta$ -glucan des champignons.....	23
<b>Figure 14.</b> Interactions d' <i>Hypocrea/Trichoderma</i> spp. avec d'autres organismes de la rhizosphère.....	25
<b>Figure 15.</b> Schéma de la confrontation directe du pathogène et de <i>Trichoderma</i> spp. ....	36
<b>Figure 16.</b> Schéma de la confrontation à distance entre le pathogène et <i>Trichoderma</i> spp. ....	37
<b>Figure 17.</b> Aspect morphologique et microscopique des conidies, des conidiophores et des phialides de <i>Trichoderma</i> spp. ....	41
<b>Figure 18.</b> Profil d'amplification par PCR de l'ADNr de la région ITS de quelque isolats de <i>Ttrichoderma</i> spp., utilisant des amorces ITS1 et ITS4.....	42
<b>Figure 19.</b> <i>Trichoderma</i> spp. cultivés sur milieu PDA après quatre jours d'incubation à l'obscurité à 25 ° C.....	47
<b>Figure 20.</b> Carte de l'Algérie montrant la distribution des espèces de <i>Trichoderma</i> dans différentes régions en Algérie.....	48
<b>Figure 21.</b> L'arbre phylogénétique basée sur l'analyse des séquences TEF des 46 souches de <i>Trichoderma</i> spp. ....	49
<b>Figure 22.</b> Diamètres des colonies de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu PDA après 48 h d'incubation a l'obscurité à 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40°C.....	51

<b>Figure 23.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. A 10°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	52
<b>Figure 24.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. A 15°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	53
<b>Figure 25.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. A 20°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	54.
<b>Figure 26.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. A 25°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	55
<b>Figure 27.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 30°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	56
<b>Figure 28.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 35°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	57
<b>Figure 29.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 40°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation.....	58
<b>Figure 30.</b> Diamètres des colonies <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu SNA après 48 h d'incubation a l'obscurité à 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40°C.....	60
<b>Figure 31.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 10°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	61
<b>Figure 32.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 15°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	62
<b>Figure 33.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 20°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	63
<b>Figure 34.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 25°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	64
<b>Figure 35.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 30°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	65
<b>Figure 36.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 35°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	66
<b>Figure 37.</b> Aspect culturale des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. à 40°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation.....	67

<b>Figure 38.</b> Activité antagoniste de <i>T. atrobrunneum</i> (T at. 16), <i>T. guizhouense</i> (T gu. 46) et <i>T. orientale</i> (To. 15) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes.....	75
<b>Figure 39.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. harzianum</i> (T.h) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes.....	76
<b>Figure 40.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. atroviride</i> (T.a) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes.....	77
<b>Figure 41.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. gamsii</i> (T. g) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes.....	78
<b>Figure 42.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. afroharzianum</i> (T. af) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes.....	79
<b>Figure 43.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. afroharzianum</i> (T. af) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes.....	80
<b>Figure 44.</b> Activité antagoniste de <i>T. atrobrunneum</i> (T at. 16), <i>T. guizhouense</i> (T gu. 46) et <i>T. orientale</i> (To. 15) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes.....	85
<b>Figure 45.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. harzianum</i> (T. h) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes.....	86
<b>Figure 46.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. atroviride</i> (T. a) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes.....	87
<b>Figure 47.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>Trichoderma gamsii</i> (T. g) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes.....	88
<b>Figure 48.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>T. afroharzianum</i> (T. af) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes.....	89
<b>Figure 49.</b> Activité antagoniste des isolats de <i>Trichoderma afroharzianum</i> (T. af) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes.....	90
<b>Figure 50.</b> Essai de protection du blé par <i>Trichoderma</i> à l'égard de <i>F. culmorum</i> agent de la pourriture du collet.....	92
<b>Figure 51.</b> Degré de l'attaque du collet du blé par <i>F. culmorum</i> .....	92
<b>Figure 52.</b> Effet des cinq isolats T a. 09 ( <i>T. atroviride</i> ), T o. 15 ( <i>T. orientale</i> ), T af. 17; T af. 37 ( <i>T. afroharzianum</i> ) et T g. 39 ( <i>T. gamsii</i> ) sur l'indice de maladie de la pourriture du collet sur la culture du blé dur.....	93

## Liste des abbreviations

---

**ADNr** : ADN ribosomal

**cm** : centimeter

**EDTA** : Acide éthylène-diamine-tétra-acétatique

**ENSA** : Ecole Nationale Supérieure Agronomique

**FOASTAT**: The Food and Agriculture Organization statistics

**INRAA** : Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie

**ITGC** : Institut Technique des Grandes Cultures

**ITS** : Intragenic Transcribed Spacer (Espaceurs Internes Transcrits)

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

**Pb** : paire de base

**PCR**: Polymerase Chain Reaction

**PDA**: Potato Dextrose Agar

**PDB** =Potato Dextrose Broth

**RSI** : résistance systémique induite

**SDS** : Sodium dodecyl sulfate (Sulfate de Dodécyle de sodium)

**SNA** : Spezieller Nährstoffärmer Agar

**T** : *Trichoderma* spp.

**T a** : *Trichoderma atroviride*

**T af** : *Trichoderma afroharzianum*

**T at** : *Trichoderma atrobrunneum*

**T g** : *Trichoderma gamsii*

**T gu** : *Trichoderma guizhouense*

**T h** : *Trichoderma harzianum*

**T o** : *Trichoderma orientale*

**TEF 1- $\alpha$** : Translation Elongation Factor 1-alpha

**V**: volt

## Introduction générale

---

Les champignons sont la principale cause de nombreuses maladies des plantes cultivées et par conséquent, jouent un rôle direct dans la destruction des ressources naturelles en agriculture. Les champignons ont un impact négatif sur l'économie et l'environnement, entraînant chaque année des pertes de rendement considérables dans plusieurs pays du monde ainsi qu'une forte diminution de la qualité des récoltes, menaçant de ce fait la sécurité alimentaire mondiale ainsi que la biodiversité (**Grandaubert et al., 2013**). Les champignons phytopathogènes tels que *Alternaria*, *Botrytis*, *Rhizoctonia* et *Fusarium* sont capables de résister longtemps en dehors de leur hôte, et peuvent même se répandre sur de longues distances (**Gilbert et Fernando, 2004 ; Leyronas, 2019**). Parmi, ces agents phytopathogènes de nombreuses espèces de *Fusarium* et d'*Alternaria* sont capables de produire des mycotoxines, dangereuses pour la santé humaine, qui constituent des contaminants naturels des aliments et principalement des denrées végétales telles que les céréales (**Tabuc, 2007**). Des stratégies de prévention et de lutte contre ces agents ont été adoptées, parmi lesquelles la lutte chimique, qui constitue la méthode de traitement la plus répandue pratiquée depuis des années en utilisant des fongicides extrêmement dangereux pour l'homme et pouvant détruire des organismes nuisibles ou utiles aux cultures. Ainsi, l'utilisation systématique de ces produits est largement responsable du phénomène de résistance observé actuellement sur la plupart des souches de champignons phytopathogènes ce qui rend leur contrôle très difficile (**Tamra et al., 2017 ; Abdel-lateif, 2017**). Comme il est également possible que des résidus de ces produits chimiques soient présents dans les cultures. En conséquence, il était devenu primordial de trouver des moyens de lutte alternative pour combattre ces maladies afin de préserver en qualité et en quantité des produits agricoles. Pour cela, depuis de nombreuses années, les efforts de recherche se sont tournés vers les moyens de lutte biologique, cette dernière a fait l'objet de plusieurs travaux plus ou moins fructueux. La lutte biologique est une alternative utile à la lutte chimique et constitue l'une des méthodes prometteuses, caractérisée par la capacité d'utiliser des organismes vivants ou leurs produits pour lutter contre d'autres organismes considérés comme nuisibles. En effet, parmi celles-ci l'utilisation de champignons telluriques non pathogènes qui ont la spécificité d'être antagonistes d'agents phytopathogènes. Le genre *Trichoderma* pers. a été reconnu comme un agent antagoniste mondialement répandu et qui a des effets antagonistes à l'égard d'au moins 18 genres et 29 espèces de champignons phytopathogènes. Les *Trichoderma* spp. s'adaptent à une multitude de conditions de l'environnement et leurs taux de croissance sont généralement beaucoup plus rapides que ceux des agents phytopathogènes (**Wu et al., 2017**). Ce travail a pour objectif :

(i) isoler et identifier les souches de *Trichoderma* dans les sols de différentes régions

d'Algérie, (ii) étudier la croissance de souches de *Trichoderma in vitro* à différentes températures, sur deux milieux de culture PDA et SNA, (iii) évaluer l'activité antagoniste *in vitro* par des confrontations directes et indirectes vis-à-vis des agents pathogènes comme *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout, *Botrytis cinerea* (Pers.), *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn et *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo qui sont associés à certaines cultures stratégiques en Algérie en particulier le blé, la pomme de terre et la tomate. (iv) sélectionner un certain nombre de souches de *Trichoderma* ayant donné les meilleurs résultats de l'inhibition de la croissance mycélienne de *F. culmorum in vitro* en vue d'évaluer leur efficacité par des tests *in vivo* contre ce même agent pathogène, principal responsable de la pourriture du collet du blé en Algérie.

## Chapitre 1. Synthèse bibliographique

### 1. Données sur le genre *Trichoderma*

#### 1.1 Historique du genre et taxonomie

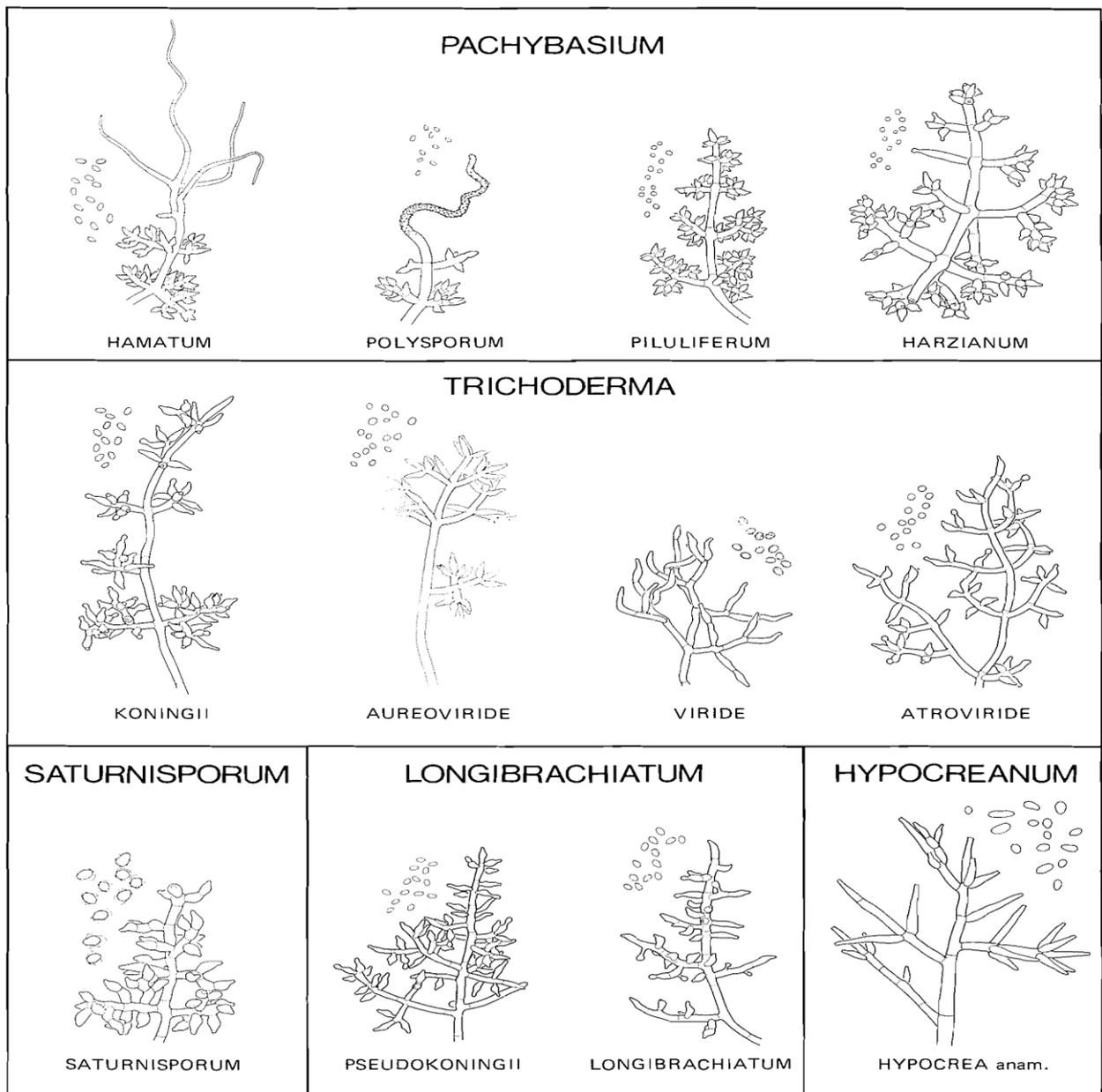
Le genre *Trichoderma* a été introduit et décrit pour la première fois dans la littérature mycologique par le mycologue sud Africain Christiaan Hendrik Persoon en 1794, sur la base de matériel collecté en Allemagne (Samuels, 2006 ; Druzhinina et al., 2006 ; Lopes et al., 2012). Dans un premier temps, ce genre avait inclus quatre espèces, mais parmi celles-ci seul *Trichoderma viride* Pers. est encore présente dans ce genre.

La plupart des souches de *Trichoderma* ont d'abord été identifiées uniquement sous la forme asexuée (anamorphique ou mitosporale), appelée *Trichoderma*, tandis que la forme sexuée (téléomorphique) rattachée pour la plupart des espèces au genre *Hypocrea* n'a été reconnue qu'en 1865 par les frères Tulasne qui ont suggéré que *Hypocrea rufa* est le téléomorphe de *Trichoderma viride* (Bisby, 1939 ; Gams et Bissett, 1998 ; Chaverri et Samuels, 2004 ; Schuster et Schmoll, 2010). En 1891 Brefeld a réussi à isoler une seule ascospore à partir de *H. rufa* et à obtenu *T. viride* en culture (Chaverri et Samuels, 2004 ; Samuels, 2006). Cependant, les différentes espèces attribuées aux genres *Trichoderma/Hypocrea* étaient difficiles à distinguer morphologiquement (Schuster et Schmoll, 2010).

Une confusion dans la nomenclature des espèces de ce genre est apparue au cours des années suivantes, Il a même été proposé de réduire la taxonomie à une seule espèce, *Trichoderma viride* par Bisby (1939). Celle-ci a été considérée comme l'espèce type du genre et durant cette période, toutes les souches de *Trichoderma* étaient identifiées comme "*T. viride*". (Bisby, 1939 ; Rifai, 1969 ; Gams et Bissett, 1998 ; Schuster et Schmoll, 2010). Cette espèce unique a été très bien prise en compte et aucune connaissance approfondie n'a été nécessaire pour procéder à une nouvelle identification.

Par conséquent, ce n'est qu'en 1969 que le développement d'un concept d'identification a été initié grâce à Rifai (1969) qui était le premier mycologue moderne à entreprendre une taxonomie des *Trichoderma*. Il a rapporté dans ces travaux que le genre comprend plus qu'une seule espèce, il a décrit ainsi en neuf espèces "agrégées", qu'il a reconnues comme étant des complexes d'espèces plutôt que des espèces biologiques. Ces neuf espèces agrégées de *Trichoderma* sont: *T. aureoviride* Rifai, *T. hamatum* (Bonord.) Bain, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudem, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Rifai, *T. polysporum* (Link: Fr.) Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai, et *T. viride* Pers.:Fr. (Rifai, 1969).

La taxonomie de *Trichoderma* a connu une transformation remarquable au cours des années qui suivent. Une étude plus approfondie des variations morphologiques au sein du genre a été entreprise par Bissett (1984 ; 1991a ; 1991b ; 1991c ; 1992), qui a décrit 27 espèces de *Trichoderma* sur la base de leurs caractéristiques morphologiques. En effet, Bissett (1991a) a pratiquement élevé les agrégats de Rifai au rang de section, soit 5 sections reconnues : *Trichoderma Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum* (Bisset et al., 2003) (Fig.1).

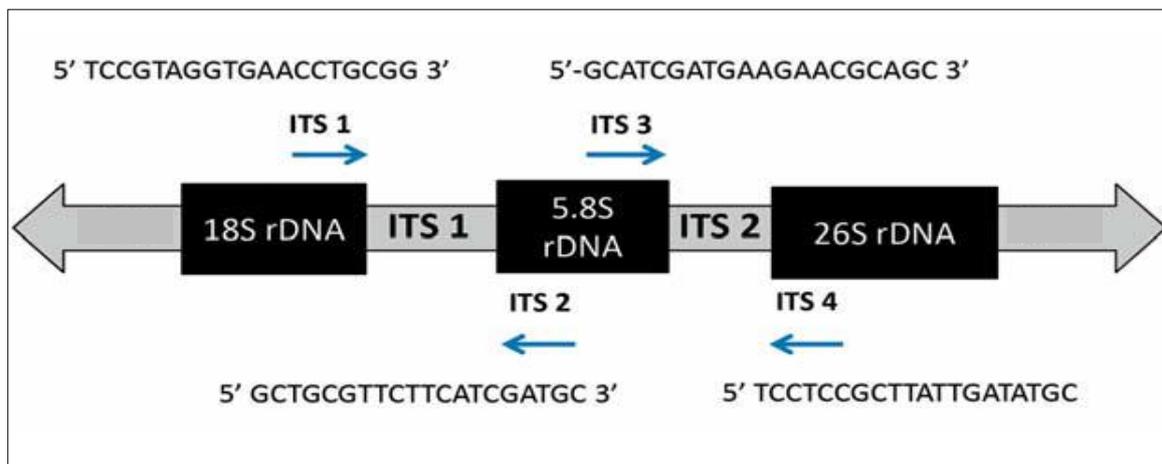


**Figure 1.** Illustration des cinq sections reconnues dans *Trichoderma* (Bissett 1991a).

Dans les années 90, l'utilisation de l'analyse des séquences d'ADN est devenue le nouveau paramètre de la systématique fongique. **White et al., (1990)** ont défini les premières amorces pour l'amplification des gènes codant pour l'ADNr 18S et les ITS des champignons (**Suong, 2011**) (**Fig. 2**).

Grâce à cette possibilité d'analyser l'ADN, les chercheurs travaillant sur *Trichoderma* ont rapidement intégré les techniques RFLP, RAPD, puis l'analyse des séquences dans la taxonomie de *Trichoderma / Hypocrea*. **Kuhls et al. (1996) et (1997)** ont principalement utilisé l'analyse des séquences de la région nucléaire de l'ADN ribosomique contenant les espaceurs internes transcrits (ITS-1 et ITS-2) et le gène de l'ARNr 5.8S pour la révision de la section *Longibrachiatum*. **Kindermann et al. (1998)** ont réalisé une première analyse phylogénétique du genre *Trichoderma*, en utilisant l'analyse de la séquence de la région ITS1 de l'ADNr.

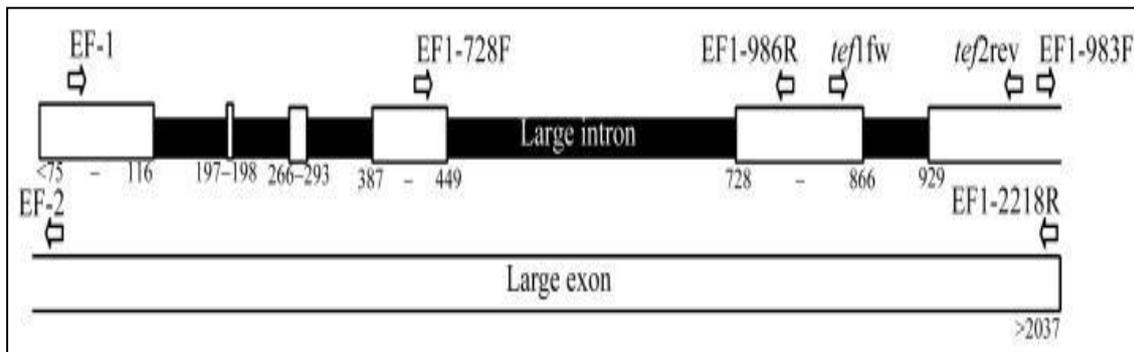
Les premiers travaux réalisés ont été publiés par **Lieckfeldt et al. (1998)**. Le programme de codes à barres en ligne basé sur ITS TrichOKEY ([www.isth.info](http://www.isth.info); **Druzhinina et al., 2005; Druzhinina et al., 2006**) a fourni un outil utile pour l'identification des espèces *Trichoderma / Hypocrea* (**Kredics et al., 2014**).



**Figure 2.** Structure de la région de l'ADN ribosomal nucléaire. Les amorces indiquées sur la figure sont les plus couramment employées (**Coutinho Moraes et al., 2015**).

Le genre *Trichoderma* en 2015 contenait plus de 260 espèces, dont la majorité ont été décrites au cours de ces deux dernières décennies, principalement sur la base d'analyses phylogénétiques des séquences d'ADN (Bissett et al., 2015; Chaverri et al., 2015). Les approches récentes de la classification de *Trichoderma* répartissent les espèces en clades phylogénétiques sur la base de l'analyse des séquences (Druzhinina et al., 2012; Chaverri et al., 2015).

Druzhinina et al., (2012) et Samuels et al., (2012) ont examiné le clade *Longibrachiatum* sur la base d'analyses phylogénétiques utilisant les données de séquence du facteur d'élongation de la traduction TEF1- $\alpha$  (Fig. 3), calmodulin (CAL) et de l'endochitinase (CHI18-5, syn. ECH42). Ils ont reconnu 21 espèces au sein du clade, dont huit nouvelles espèces.



**Figure 3.** Structure schématique du gène EF-1 $\alpha$  de l'espèce *Hypocrea jecorina*, avec la localisation des amorces utilisées pour son amplification (Druzhinina et Kubicek, 2005).

Chaverri et al. (2015) ont révisé le complexe d'espèces de *T. harzianum* pour inclure au moins 14 espèces sur la base des séquences d'ADN combinées de  $\alpha$ -actine (ACT), calmoduline (CAL), espaceurs internes transcrits de l'ADNr (ITS), ARN polymérase II sous-unité 2 (RPB2) et TEF1- $\alpha$ , en incluant deux nouvelles espèces (*T. lentiforme* (Rehm) P. Chaverri, Samuels & F.B. Rocha, et *T. lixii* (Pat.) P. Chaverri, ainsi que 9 autres espèces décrites (*T. afarasin* P. Chaverri & FB Rocha, *T. afroharzianum* P. Chaverri, FB Rocha, Degenkolb & Druzhin., *T. atrobrunneum* FB Rocha, P. Chaverri & Jaklitsch, *T. camerunense* P. Chaverri & Samuels, *T. endophyticum* FB Rocha, Samuels & P. Chaverri, *T. neotropicale* P. Chaverri & FB Rocha, *T. pyramidale* Jaklitsch & P. Chaverri, *T. rifaii* FB Rocha, P. Chaverri & Samuels et *T. simmonsii* P. Chaverri, FB Rocha, Samuels, Degenkolb et Jaklitsch).

Récemment, en utilisant les données des séquences CAL, ECH42, RPB2 et TEF1- $\alpha$ , cinq nouvelles espèces supplémentaires du genre *Trichoderma* ont été signalées et décrites en Afrique du Sud. Ces espèces sont nommées *T. beinartii* du Plessis, Druzhin., Atan., Yarden & K. Jacobs, *T. caeruleimontis* du Plessis & K. Jacobs, *T. chetii* du Plessis, Druzhin., Atan., Yarden & K. Jacobs, *T. restrictum* du Plessis & K. Jacobs et *T. undulatum* du Plessis & K. Jacobs (Du Plessis et al., 2018).

En effet, la diversité de *Trichoderma* était limitée à quelques dizaines d'espèces, mais l'introduction des méthodes basées sur l'évolution moléculaire ont entraîné l'expansion exponentielle de la taxonomie de *Trichoderma*, avec jusqu'à 50 nouvelles espèces reconnues par an (Cai et Druzhinina, 2021). Selon Cai et Druzhinina (2021), 464 épithètes d'espèces de *Trichoderma* existent, parmi eux, 90 noms ne sont pas actuellement utilisés. La nomenclature valide contemporaine de *Trichoderma* spp. se compose de 375 noms d'espèces retenus jusqu'à juillet 2020.

Actuellement le genre *Trichoderma* est rattaché au Phylum: *Ascomycota*, Subphylum: *Pezizomycotina*, Classe: *Sordariomycètes*, Ordre: *Hypocreales*, Famille: *Hypocreaceae*, (Gorai et al., 2020).

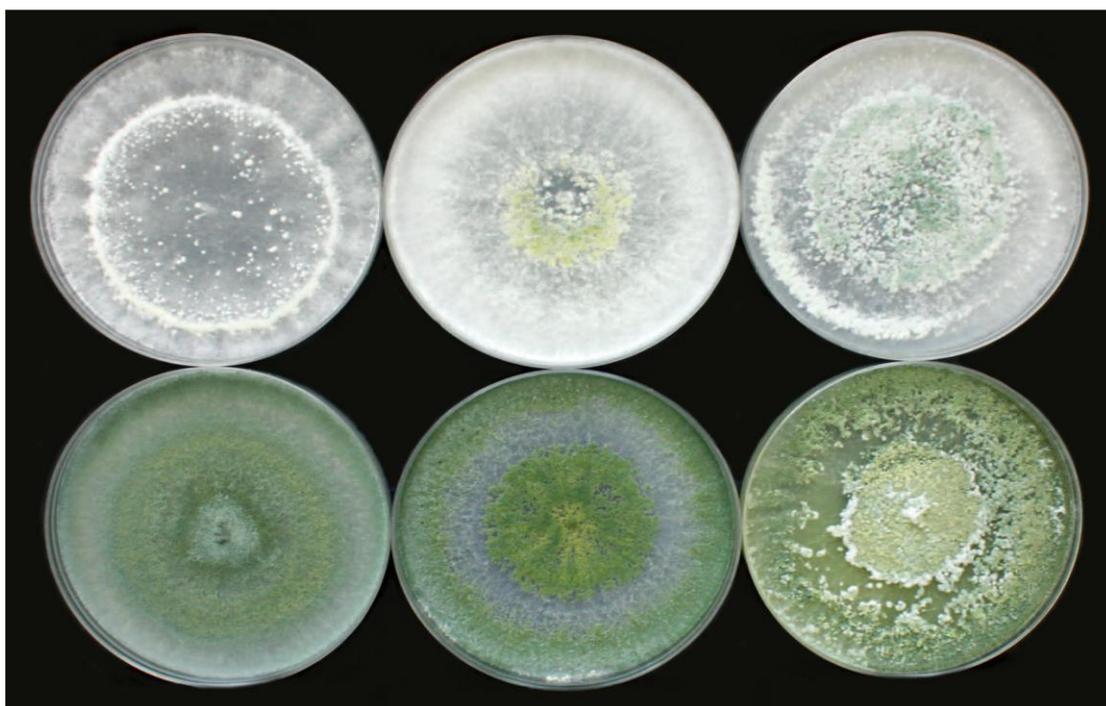
## 1.2. Caractéristiques et morphologie de *Trichoderma* / *Hypocrea*

La caractérisation morphologique de *Trichoderma* n'est pas une tâche facile à entreprendre, en raison du degré de similarité morphologique existant entre les différentes espèces. Cette caractérisation est en effet utilisée depuis 1969 pour différencier les différentes espèces de *Trichoderma* (Gams et Bissett, 1998). Malgré le grand nombre d'informations sur les caractéristiques morphologiques utiles, telles que la couleur, le taux de croissance, la formation de pustules, le mode de ramification des conidiophores ou d'autres caractéristiques, mais reste suffisamment limité pour fournir une description précise permettant de définir l'espèce *Trichoderma* (Gams et Bissett, 1998). Rifai (1969) et Bissett (1991a) ont discuté des caractères morphologiques qu'ils ont utilisés pour caractériser et différencier les espèces de *Trichoderma*, en soulignant les difficultés rencontrées pour définir ces espèces (Gams et Bissett, 1998).

### 1.2.1 Caractéristiques macroscopiques

Le genre *Trichoderma* se caractérise par des colonies à croissance rapide sur le milieu de culture (PDA), qui ont initialement une surface lisse et presque translucide ou blanc cassé, devenant ensuite floconneuse ou compacte en touffes ou pustules, et se développant souvent

en anneaux concentriques distincts avec de multiples nuances de pigments verdâtres, jaunâtres ou, plus rarement, blanchâtres qui peuvent être sécrétés dans le milieu de culture (**Fig. 4**) (**Rifai, 1969 ; Bissett, 1984**). La croissance des colonies est rapide à des températures optimales comprises entre 25 et 30 °C, et généralement minimale ou nulle à des températures supérieures à 35 °C (**Samuels et al., 2012**), bien que certaines espèces se développent bien à 35 °C, ces observations ont été très utiles pour distinguer les espèces morphologiquement similaires (**Samuels et al., 2002**). Certaines espèces, comme *T. atroviride*, produisent une odeur caractéristique de noix de coco (**Bissett, 1984 ; 1991a**).



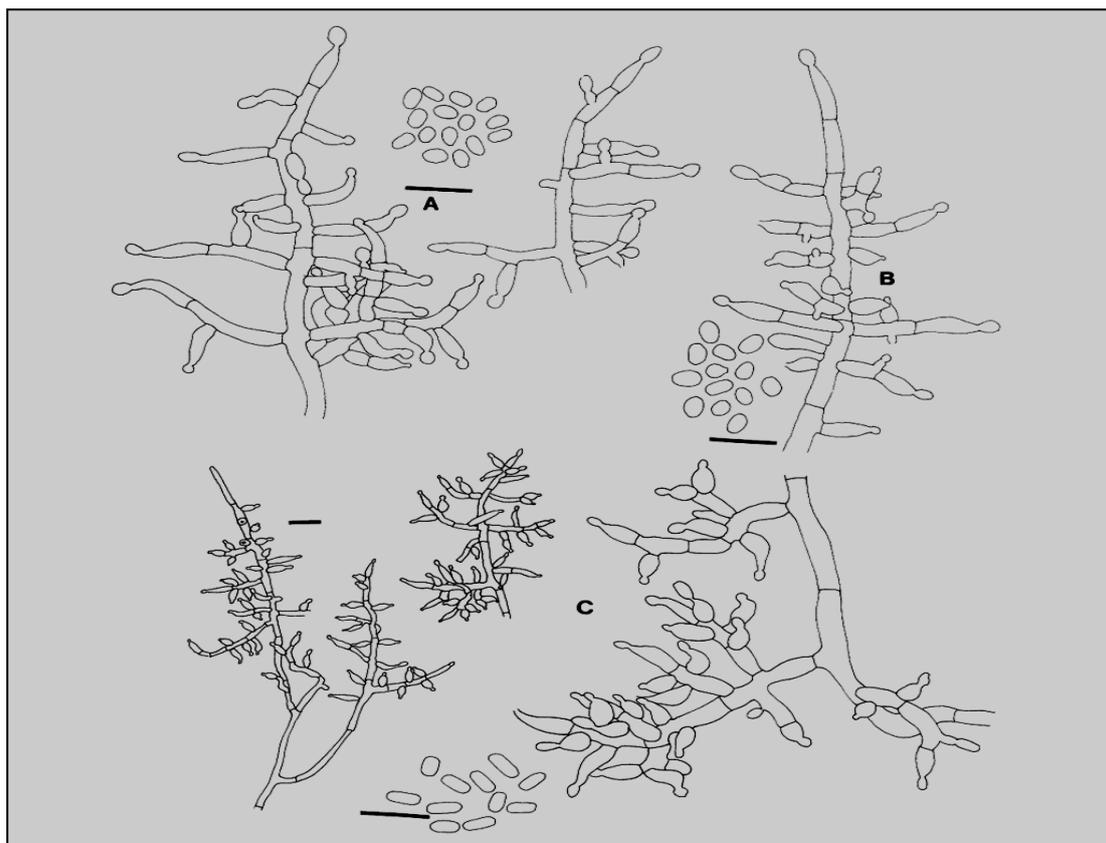
**Figure 4.** La variation des couleurs et la morphologie des colonies fongiques de *Trichoderma* spp. sont montrées sur le milieu PDA. La rangée supérieure, puis la rangée inférieure (à partir de la gauche) sont : *T. cremeum*, *T. longipile*, *T. viride*, *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. citrinoviride* (**Błaszczyk et al., 2014**).

### 1.2.2 Caractéristiques microscopiques

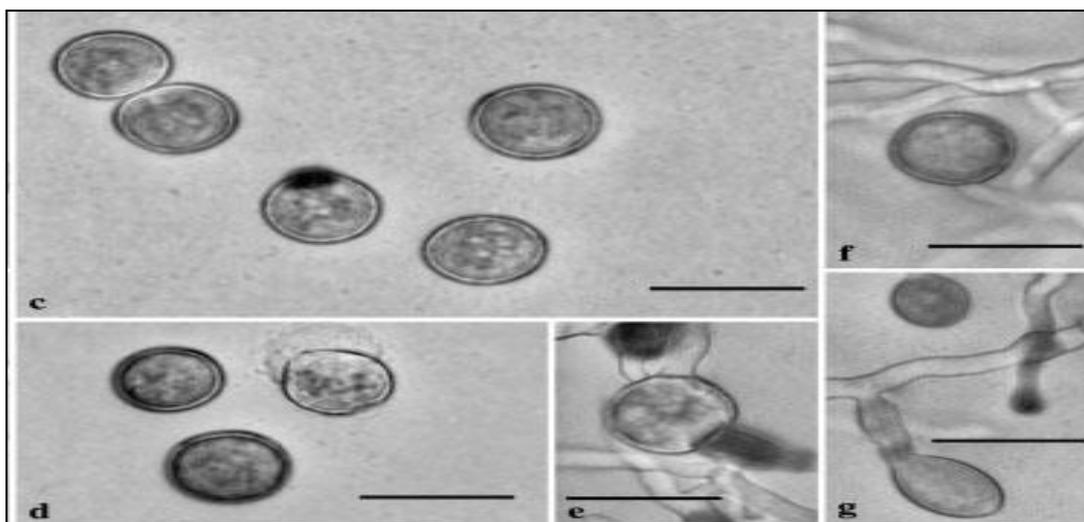
En général, les espèces de *Trichoderma* ont des hyphes végétatifs cloisonnés, hyalins et à parois lisses (**Gams et Bissett, 1998**). Le conidiophore de *Trichoderma* est hautement ramifié, généralement de manière régulière et dendritique, c'est-à-dire qu'il se ramifie à un nombre indéfini de niveaux. Les branches primaires produisent des branches secondaires plus petites qui peuvent également se ramifier, et ainsi de suite, les branches formées en premier étant longues, les branches successives aux niveaux supérieurs étant apicales et distales, progressivement plus courtes, et les branches et les phialides divergeant à tous les niveaux.

Les phialides sont de forme ampulliforme à lageniforme, généralement resserrées à la base, plus ou moins gonflées au milieu et se terminant au sommet par un étranglement court. Elles sont disposées en verticilles à l'extrémité des branches du conidiophore, ou plus rarement seules ou en verticilles directement sous les cloisons le long du conidiophore et de ses branches (**Bissett, 1984; Bissett, 1991b**) (**Fig. 5**).

Chez certaines espèces, vu au microscope, les conidies matures sont de couleur vert foncé, chez d'autres elles sont seulement pâles (**Gorai et al., 2020**). Les surfaces des conidies sont généralement lisses chez la plupart des espèces, mais des conidies rugueuses peuvent exister chez quelques espèces, comme *T. viride* (**Gams et Bissett, 1998 ; Samuels et al., 2002a**). Les chlamydospores sont communes et présentes chez de nombreuses espèces, elles se forment à partir du mycélium et apparaissent en abondance dans les cultures les plus anciennes, ce sont des cellules végétatives lisses, à parois épaisses et élargies avec un cytoplasme dense, hyalin ou verdâtre, ayant une forme subglobuleuse à ellipsoïdale, elles sont solitaires, intercalaires ou terminales, disposées sur de courtes branches latérales (**Bissett, 1984 ; Gams et Bissett, 1998 ; Samuels et al., 2002**) (**Fig. 6**).



**Figure 5.** Aspect morphologique des conidies, des conidiophores et des phialides de *Trichoderma* spp. : **A.** *T. longibrachiatum*, **B.** *T. reesei*, **C.** *T. pseudokoningii*. Barres d'échelle = 10  $\mu$ m (**Samuels et al., 1994**)



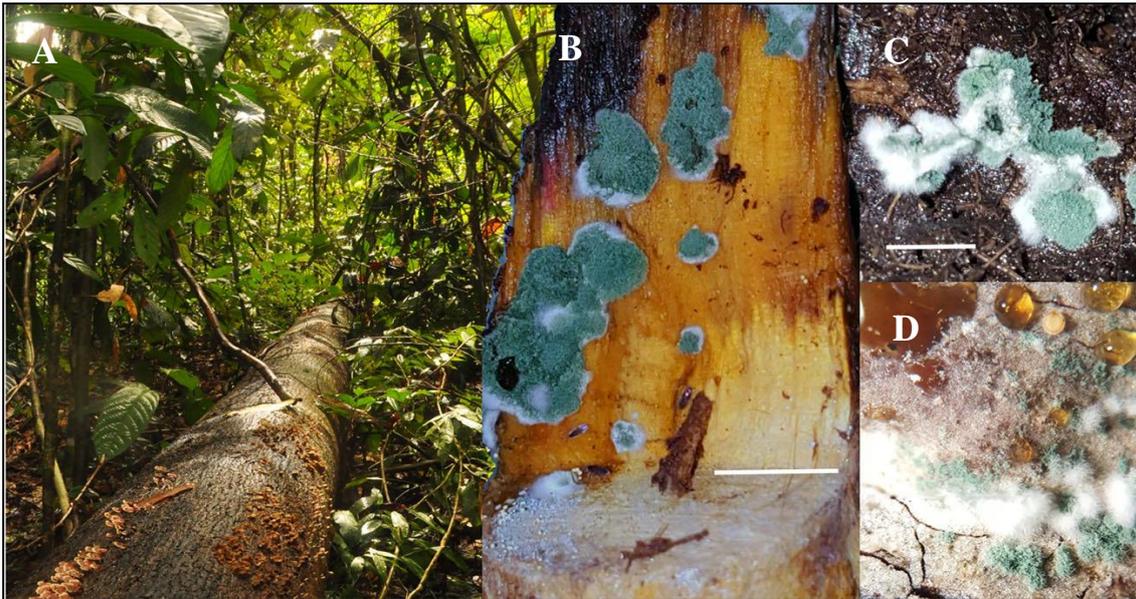
**Figure 6.** Aspect morphologique des chlamydospores de *Trichoderma harzianum* sur PDA : (c et d) chlamydospores ; (e) chlamydospore qui se forme en intercalaire sur les hyphes ; (f et g) chlamydospores terminales formées à l'extrémité des hyphes. Barres d'échelle = 20  $\mu$ m (Li et al., 2005)

### 1.3. Habitat de *Trichoderma* spp.

Les espèces de *Trichoderma* sont considérées comme une importante ressource naturelle durable. Leur diversité d'espèces riche dans différentes régions géologiques et niches écologiques ne peut jamais être sous-estimée (Zhang et Zhuang, 2018).

Le genre *Trichoderma* constitue l'un des plus grands taxons avec de nombreuses espèces distribuées à travers le monde entier (Kubicek et al., 2019). La plupart des espèces de *Trichoderma* sont souvent prédominantes sur de grandes zones géographiques dans toutes les zones climatiques, qui se trouvent dans de nombreux pays. En effet elles sont répandues dans les régions tempérées froides, et également dans les climats chauds, et dominantes même dans des conditions d'humidité excessive (Kubicek et al., 2008 ; Kredics et al., 2014). Elles ont été isolées à partir des sols des forêts pluviales et dans d'autres habitats spécifiques tels que le sable de rivière, l'humus, les bois, les débris végétaux, le bois en décomposition (Gams et Bissett, 1998 ; Hoyos-Carvajal et Bissett, 2011), l'éponge marine (Touati et al., 2018), à partir du tissu interne de l'algue rouge marine *Chondria tenuissima* (C.Agardh) (Shi et al., 2020), le corps humain (Walsh et al., 2004 ; Kantarcioglu et al., 2009 ; Sandoval-Denis et al., 2014) ainsi que des sols agricoles et des vergers.

Des études écologiques et bio-géographiques détaillées sur les *Trichoderma* ont révélé que les espèces de ce genre se trouvent le plus souvent sur les fructifications d'autres champignons et le bois mort. (Druzhinina et Kubicek, 2014 ; Jaklitsch, 2009 ; Atanasova, 2014 ; Kubicek et al., 2019) (Fig. 7). De plus, elles peuvent se développer sur les structures fongiques latentes (sclérotés) de divers champignons phytopathogènes (Druzhinina et al., 2011).



**Figure 7.** Occurrence de *Trichoderma* spp. dans la nature. **A)** bois mort colonisé par *Trichoderma* spp. **B)** *T. atroviride* sur le bois mort. **C)** *T. harzianum* sur le sol. **D)** *T. simonsii* sur les sporocarpes de *Stereum* sp. La barre d'échelle sur B et C correspond à 1 cm (Kubicek et al., 2019).

Les espèces de *Trichoderma* sont bien connues pour leur présence abondante au niveau des racines des plantes mono- et dicotylédones, qu'elles colonisent rapidement et facilement, entraînant des changements importants dans le métabolisme des plantes. Ces changements concernent la teneur en hormones, en sucres solubles, en composés phénoliques et en acides aminés, le taux de photosynthèse, la transpiration et la teneur en eau (Yedidia et al., 2003). Elles comptent parmi les microorganismes rhizosphériques les plus concurrentiels (Contreras-Cornejo et al., 2016). Elles profitent de l'apport en nutriments émis par le système racinaire des plantes. La pénétration des *Trichoderma* dans les tissus racinaires est généralement limitée aux couches externes des cellules racinaires (Yedidia et al., 1999). Elles sont connues comme des colonisateurs performants de leurs habitats, luttant

efficacement contre leurs concurrents (**Schuster et Schmoll, 2010**). Cette prédominance peut être attribuée à la diversité des capacités métaboliques et à la nature de ces espèces qui sont généralement considérées comme des concurrents agressifs (**Samuels, 1996 ; Gams et Bissett, 1998 ; Lopes et al., 2012**). Toutes ces caractéristiques citées sur *Trichoderma* témoignent de leur caractère opportuniste et de leur grande adaptabilité (**Druzhinina et al., 2011**).

#### **1.4. *Trichoderma* et la lutte biologique**

**Cook et Baker (1983)**, ont défini la lutte biologique comme étant « la réduction de la quantité d'inoculum ou de l'activité productrice de maladie d'un pathogène réalisée par le biais d'un ou plusieurs organismes vivants. En effet c'est une méthode qui permet d'utiliser les capacités biologiques d'un organisme vivant pour réduire, empêcher ou stopper le développement d'un autre organisme vivant tout en évitant l'utilisation de pesticide chimique.

La nécessité d'augmenter la productivité agricole et la qualité a conduit à une utilisation excessive d'engrais chimiques, créant une grave pollution environnementale (**Hermosa, 2012**). En effet les différentes méthodes appliquées dans le secteur agricole ont permis d'améliorer la production dans ce domaine, mais certaines pratiques telles que les applications de fongicides ont des répercussions sur l'environnement et constituent une sérieuse menace pour la santé humaine. Le récent défi auquel est confrontée l'agriculture est d'obtenir des rendements plus élevés tout en préservant l'environnement. La recherche de solution donc doit être écologique et qui consiste à trouver des traitements alternatifs plus sûrs, c'est-à-dire sans impact sur les consommateurs, l'environnement ou la qualité des produits agricoles. Par conséquent, la lutte biologique est considérée comme une alternative à l'utilisation de produits chimiques et il en résulte que plusieurs produits biofongicides et biopesticides sont commercialisés et appliqués dans différentes parties du monde et qu'ils sont fabriqués à base de combinaisons d'agents microbiens (**Lorito, 2010**).

De nombreux micro-organismes ont été utilisés dans la lutte contre les maladies phytopathogènes, notamment *Trichoderma* qui est l'un des agents de lutte biologique les plus couramment utilisés contre un large spectre d'agents phytopathogènes aussi bien telluriques que foliaire. Le potentiel de *Trichoderma* pour la lutte biologique a été connu au début des années 1930 (**Lopes et al., 2012**) par Weindling et ses collaborateurs qui ont montré qu'une espèce du genre *Trichoderma* était capable d'inhiber d'autres champignons et de contrôler les maladies des plantes (**Weindling, 1932 ; 1934**).

#### 1.4.1. Efficacité de *Trichoderma* dans la lutte contre les agents phytopathogènes

*Trichoderma* est un genre fongique qui comprend des espèces actuellement utilisées comme agents de lutte biologique en raison de leur capacité à inhiber d'autres champignons (Howell, 2003). De nombreuses souches ont été identifiées comme étant efficaces pour lutter contre certaines maladies fongiques et bactériennes (Sriram et al., 2013). En effet 90 % des applications des agents antagonistes dans la lutte biologique ont été réalisées avec des souches de *Trichoderma* (Benítez et al., 2004). Ces dernières sont les plus utilisées contre un grand nombre de champignons phytopathogènes (Liu et al., 2010; Huang et al., 2011; Montero-Barrientos et al., 2011), notamment contre les ascomycètes, les deutéromycètes et les basidiomycètes, qui sont principalement des agents pathogènes telluriques et aériens (Monte, 2001 ; Druzhinina et al., 2018).

En réalité plusieurs espèces ont été exploitées comme antagonistes contre certains des plus importants champignons phytopathogènes dans le monde (*Fusarium oxysporum* Schltdl., *Rhizoctonia solani*, *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) rendant *T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens* et *T. atroviride* les meilleures options pour le contrôle biologique des maladies des plantes (Jorge, 2014). Les espèces les plus utilisées en lutte biologique sont *T. harzianum*, *T. atroviride*, *T. polysporum*, *T. asperellum* et *T. viride* (Woo et al., 2014).

En Algérie, des isolats appartenant aux espèces *T. atroviride*, *T. harzianum* et *T. longibrachiatum* ont été utilisées en expérimentation pour la lutte biologique contre l'agent du flétrissement fusarien du pois chiche causé par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick) Matuo et K. Sato (Foc), et ont entraîné une diminution significative de la gravité de la maladie avec des taux de réduction élevés (Bouregghda et Bouznad, 2009). Il a également été montré que *T. harzianum*, *T. viride* et *T. hamatum* sont efficaces dans le biocontrôle de la pourriture du collet et des racines du blé causée par les espèces de *Fusarium* (Dendouga et al., 2016). Des études menées par Debbi et al. (2018) ont montré que les espèces *T. ghanense* Yoshim. Doi, Y. Abe & Sugiy et *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg sont efficaces dans la protection de la tomate de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder et Hansen (FOL), responsable du flétrissement vasculaire, et *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici* Jarvis et Shomaker (FORL), responsable de la pourriture du collet et des racines.

#### 1.4.2. Mécanismes utilisés par *Trichoderma* spp. dans la lutte biologique

Les mécanismes de lutte biologique utilisés par les espèces de *Trichoderma* sont étudiés depuis des années (Howell, 2003 ; Benitz et al., 2004 ; Harman et al., 2004a, b ; Atanasova et al., 2013a). En raison de leur présence dans différents environnements,

*Trichoderma* spp. sont en concurrence avec de nombreux autres organismes pour les nutriments et l'espace. Les mécanismes de lutte biologique attribués à *Trichoderma* spp. sont les suivants : compétition pour les nutriments et l'espace, le parasitisme, l'antibiose, la sécrétion d'enzymes et la production de composés inhibiteurs, ainsi que l'induction de la résistance chez les plantes (Howell, 2003).

- **La compétition** : La compétition est définie comme le comportement inégal de deux ou plusieurs organismes devant un même besoin (substrat, nutriments), lorsque l'utilisation de ce substrat par l'un des organismes réduit la quantité ou l'espace disponible pour les autres (Hjeljord et Tronsmo, 1998). C'est un phénomène dans lequel les espèces de *Trichoderma* et l'agent pathogène concurrencent au niveau de la rhizosphère pour une disponibilité limitée de nutriments (le carbone, l'azote, le fer) ainsi que pour l'espace. La compétition pour l'espace et les nutriments est l'un des mécanismes classiques de la lutte biologique utilisé par *Trichoderma*. En effet *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des champignons phytopathogènes. Par exemple, *Trichoderma* spp. concurrençaient *Pythium* pour la disponibilité du fer dans le sol (Gorai et al., 2020). Dans le sol, *Trichoderma* a la capacité d'assimiler les nutriments plus rapidement que les agents phytopathogènes, favorisant son établissement et son développement, contrôlant ainsi l'infection et la dissémination des pathogènes (González-Estrada et al., 2018).

- **Le mycoparasitisme** : Le mycoparasitisme est un processus complexe (Harman et al., 2004a) qui implique l'interaction parasitaire de deux ou plusieurs champignons dans lesquels l'un parasite le mycélium de l'autre (Druzhinina et al., 2011). C'est un mode de vie que l'on peut dater d'au moins 400 millions d'années grâce à des preuves fossiles (Taylor et al., 2005). Cette propriété est très répandue dans la famille des Hypocreaceae, et la capacité de parasiter ou même de tuer d'autres champignons (hyperparasitisme, nécrotrophe) est particulièrement courante chez le genre *Trichoderma* (Druzhinina et al., 2011 ; Kubicek et al., 2019). Une étude récente sur plus de 1100 souches d'*Hypocrea/Trichoderma* provenant de 75 espèces moléculairement définies, a révélé que toutes ces espèces testées ont un potentiel mycoparasitaire contre trois agents phytopathogènes : *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Botrytis cinerea* et *Sclerotinia sclerotiorum* (Druzhinina et al., 2011).

Dans ce processus, les espèces de *Trichoderma* détectent d'abord l'agent pathogène et l'attaquent par la suite, entraînant des changements morphologiques tels que l'enroulement et la formation d'appressoriums qui provoquent des perforations au niveau de la paroi du pathogène, suivis d'une pénétration progressive des hyphes de *Trichoderma* à l'intérieur des

hyphes du pathogène pour aboutir à sa mort (**Fig. 8 et 9**) (**Vinale et al., 2008a; Omann et Zeilinger, 2010**). Ce mécanisme peut être décrit en quelques étapes comme suit :

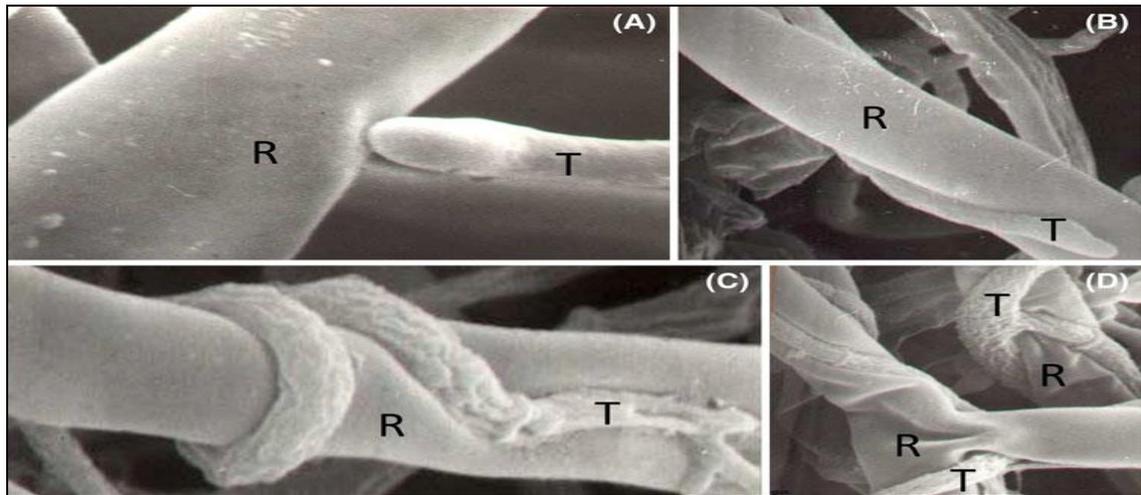
- **Reconnaissance** : elle s'effectue entre *Trichoderma* et le champignon phytopathogène par l'intermédiaire de molécules peptidiques qui sont libérées par l'agent pathogène suite à l'action des protéases sécrétées par *Trichoderma* (**Druzhinina et al., 2011**).

- **Adhésion et enroulement** : lorsque la réponse de reconnaissance est positive, les hyphes de *Trichoderma* adhèrent aux processus enzymatiques déclenchés par l'hôte. L'adhésion des hyphes se fait par l'association de la paroi de l'antagoniste composée de glucides avec une lectine présente dans la paroi de l'agent pathogène.

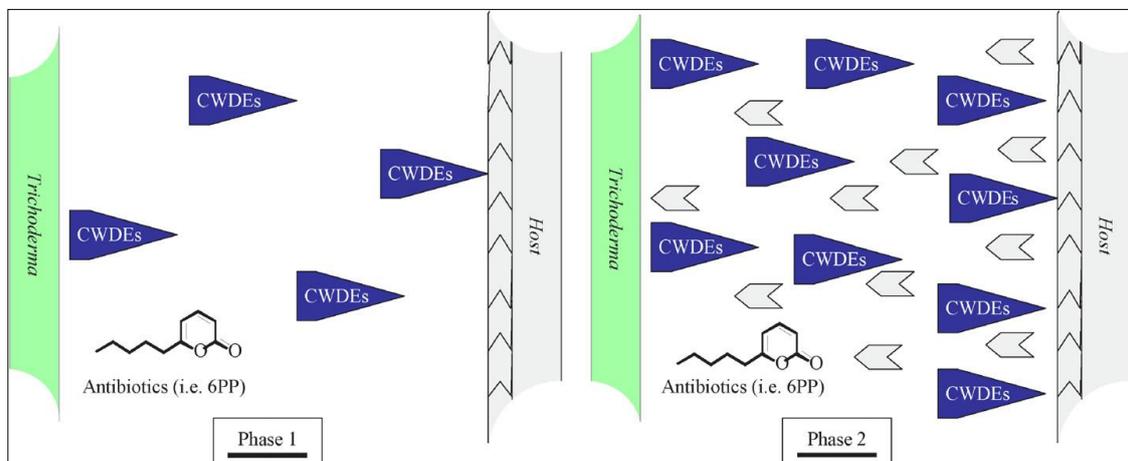
- **Activité lytique** : dans cette étape, un rôle considérable est joué par les enzymes lytiques CWDE « Cell Wall Degrading Enzymes », sécrétées par les espèces de *Trichoderma*, principalement des chitinases, des glucanases et des protéases qui dégradent les parois cellulaires de l'hôte composées de polysaccharides de chitine et de glucane, facilitant ainsi la pénétration à l'intérieure des hyphes pour l'absorption des nutriments de l'agent pathogène, ce qui entraîne la perte du contenu cytoplasmique de la cellule hôte (**Blaszczyk et al., 2014**).

• **L'antibiose** : Le mot "antibiose" fait référence à la production de substances qui jouent le rôle d'antibiotiques contre l'agent pathogène. Il s'agit d'un important mécanisme de contrôle biologique dans lequel les espèces de *Trichoderma* produisent différents types de substances (s) de faible poids moléculaire volatils ou non volatils, en particulier des substances métaboliques toxiques qui agissent comme antibiotiques ou antifongiques provoquant la dégradation des champignons phytopathogènes.

**Dennis et Webster (1971)** ont été les premiers à décrire les propriétés antagonistes de *Trichoderma* en termes de production d'antibiotiques (**Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991**). Ils ont pu montrer que les espèces de *Trichoderma* produisent des composés volatils et non volatils capables d'inhiber la croissance mycélienne de divers champignons et que la production de substances antifongiques varie selon l'isolat, même au sein d'un même agrégat d'espèces (**Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991**). Ce travail marque en quelque sorte le début des recherches modernes sur le rôle des antibiotiques dans la lutte biologique contre les agents phytopathogènes par les espèces de *Trichoderma*.



**Figure 8.** Mycoparasitisme de *Trichoderma virens* (T) sur *Rhizoctonia solani* (R). **A :** Attraction, **B :** Attachement, **C :** Enroulement, **D :** Lyse des hyphes de l'hôte (Mukherjee, 2011).



**Figure 9.** Les événements pré-contact de l'interaction *Trichoderma*-champignon hôte. **Phase 1 :** *Trichoderma* produit des composés de haut poids moléculaire qui atteignent l'hôte. **Phase 2:** les produits de dégradation de faible poids moléculaire qui sont libérés par les parois cellulaires de l'hôte atteignent *Trichoderma* et activent la cascade de l'expression mycoparasitaire génétiquement (Vinale, 2008a)

### 1.4.3. Métabolites secondaires et enzymes impliqués dans l'action antagoniste

#### de *Trichoderma*

Les *Trichoderma* spp. sont considérés comme une source abondante de métabolites secondaires (Mukherjee et al., 2012), en effet 373 composés différents ont été identifiés dans la base de données Antibase (Laatsch, 2012), dont certains ont une importance médicinale ou agronomique (Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998 ; Reino et al., 2008). Ces dernières années, un grand nombre de métabolites ont été isolés à partir d'espèces de *Trichoderma* (Zhang et al., 2021). La production de métabolites secondaires par *Trichoderma* spp. dépend de la souche et comprend des substances antifongiques appartenant à diverses classes de composés chimiques (Vinale et al., 2008b; Bhardwaj et Kumar, 2017).

Le pouvoir mycoparasitaire de *Trichoderma* sur un agent pathogène est dû à la production de métabolites secondaires à activité antifongique et/ou la production d'enzymes hydrolytiques extracellulaires. Il existe des preuves directes et indirectes de l'implication des métabolites secondaires (produits naturels) dans l'activité antagoniste de *Trichoderma* contre un nombre considérable de bactéries, de levures et de champignons, ainsi que dans les effets bénéfiques que *Trichoderma* exerce sur les plantes cultivées (Zeilinger et al., 2016).

#### 1.4. 3.1 Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont un groupe hétérogène de composés naturels dont on considère qu'ils aident l'organisme qui les produit à survivre et à assurer ses fonctions de base, telles que la compétition, la symbiose, le transport des métaux, la différenciation, etc (Demain et Fang, 2000). Les champignons appartenant au genre *Trichoderma* sont des producteurs bien connus de métabolites secondaires ayant une activité directe contre les agents phytopathogènes et les composés qui affectent sensiblement le métabolisme de la plante (Vinale et al., 2014). Les espèces de *Trichoderma* peuvent produire un grand nombre de métabolites secondaires de différentes classes de composés chimiques (Klein et Eveleigh, 1998; Reino et al., 2008), dont on peut citer les peptaïbols, les diketopiperazines (gliotoxine et la gliovirine), les terpènes, les pyrones et les polykétides (Hermosa et al., 2014).

##### 1.4.3.1.1. Les peptaïbols

Les peptaïbols sont constitués d'une chaîne d'acides aminés reliés entre eux par des liaisons dites peptidiques (Cardoza et al., 2005 ; Poirier, 2007). Ces peptides linéaires contiennent 7 à 20 acides aminés (Hermosa et al., 2014 ; Reino et al., 2008). Les peptides contenant de l'acide  $\alpha$ -aminoisobutyrique et un alcool C-terminal) constituent le plus grand groupe qui est

caractérisé par une extrémité N-terminale acylée et un amino-alcool lié à un amide à l'extrémité C-terminale (par exemple, phénylalaninol, valinol, tryptophanol, leucinol, isoleucinol) (Zeilinger et al., 2016). Les peptaïbols agissent en synergie avec les chitinases et la P-1,3-glucanase dans l'inhibition de la germination des spores fongiques et de l'élongation des hyphes (Schirmbock, 1994).

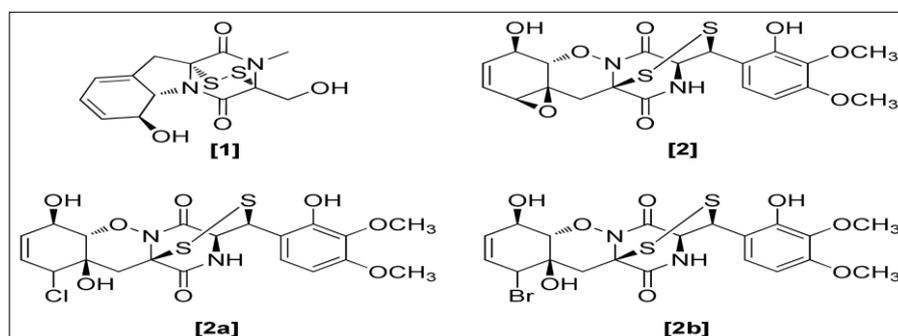
Les espèces de *Trichoderma* sont généralement considérées comme la source la plus riche en peptaïbols et les espèces les plus étudiées sont *T. viride*, *T. brevicompactum*, *T. virens*, *T. parceramosum*, *T. ghanense* et *T. harzianum* (Neumann et al., 2015).

#### 1.4.3.1.2. Les diketopiperazines

Dans cette classe de composés, La gliotoxine et la gliovirine sont les deux plus importants métabolites secondaires des espèces de *Trichoderma* (Vinale et al., 2014) (Fig. 10).

- **La gliotoxine** : est le premier métabolite décrit chez *Trichoderma* (Brian, 1944), de type fongistatique et qui a été impliquée dans l'antagonisme contre *Rhizoctonia* dans le sol dès les années 1930 (Weindling, 1934 ; Weindling et Emerson, 1936). Depuis, il a été largement étudiée pour son rôle dans le biocontrôle des champignons pathogènes du sol (Howell, 2006). Selon Pietro et al., (1993), la gliotoxine agit en synergie avec la chitinase dans le processus d'activité antifongique de *T. virens* (Fig. 10).

- **la gliovirine** : est un métabolite avec de puissantes propriétés antimicrobiennes (en particulier contre les Oomycètes) (Howell et al., 1993 ; 2003). C'est un composé qui a une activité antifongique hautement toxique à l'égard de *Pythium ultimum* Trow (Howell et stipanovic, 1983) et l'espèce *Phytophthora palmivora* (E.J. Butler) E.J. Butler agent responsable de la maladie de la cabosse noire du cacao (Pakora et al., 2018) (Fig. 10).



**Figure 10.** Structures des Diketopiperazines de *Trichoderma* spp : [1] gliotoxine isolée de *T. lignorum*, [2] gliovirine isolée de *T. virens*, [2a, 2b] analogues de la gliovirine isolés de *T. longibrachiatum* (Khan et al., 2020)

#### 1.4.3.1.3. Les terpènes

Les terpènes représentent l'un des plus grands groupes de produits naturels, qui comprennent de nombreux métabolites secondaires ayant d'importantes activités pharmacologiques telles que des activités antivirales, antibactériennes, antipaludéennes et anti-inflammatoires, ainsi que l'inhibition de la synthèse du cholestérol et une activité anticancéreuse (**Hermosa et al., 2014**). Ces composés ont été utilisés dans le biocontrôle pour leurs propriétés antifongiques, à savoir les ergokonines et les viridines, et ces derniers sont produits en grande quantité par *Trichoderma* (**Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998 ; Reino et al., 2008**).

Les terpènes comprennent les monoterpènes, les diterpènes, les triterpènes, dont le composé tétracyclique harziandione est déclaré être le premier diterpène isolé de l'espèce *Trichoderma* (**Ghisalberti et al., 1992**). Les sesquiterpènes de *Trichoderma* ont montré des activités antibactériennes, antifongiques et neuroleptiques (**Bennett et Klich, 2003 ; Berg et al., 2003**).

Les toxines fongiques connues sous le nom de trichothécènes constituent un groupe particulier de sesquiterpènes, en effet, seules certaines espèces de *Trichoderma* peuvent produire les trichothécènes, à savoir la trichodermine et le harzianum A (HA) (**Cardoza et al., 2011**). Ce dernier produit par *T. harzianum* a des propriétés utiles pour les plantes et une activité inhibitrice sur la croissance des champignons phytopathogènes (**Malmierca et al., 2012**).

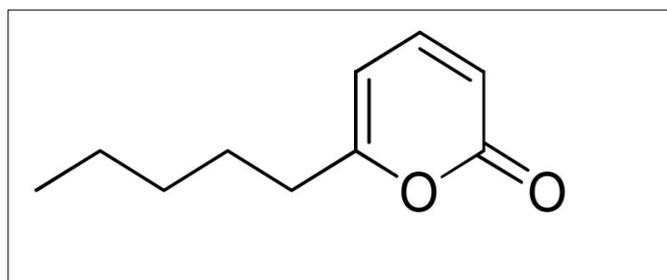
Récemment huit nouveaux dérivés du trichothécène, à savoir les trichodermarines, ont été isolés de la souche fongique *T. brevicompactum* (G.F. Kraus, C.P. Kubicek & W. Gams) A-DL-9-2 obtenue à partir du tissu interne de l'algue rouge marine *Chondria tenuissima* (**Shi et al., 2020**). Ces composés ont été testés pour l'inhibition de la croissance de cinq champignons phytopathogènes (*Botrytis cinerea*, *Cochliobolus miyabeanus* (S. Ito & Kurib.), *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerium* J.H. Owen, *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (E.F. Sm. ex Wollenw.) W.C. Snyder & H.N. Hansen, et *Phomopsis asparagi* Sacc. et ont montré des activités inhibitrices significatives (**Shi et al., 2020**).

#### 1.4.3.1.4. Les pyrones

Les pyrones constituent une famille de composés cycliques insaturés à six éléments constitués de cinq atomes de carbone et un oxygène, et contenant deux doubles liaisons (**Lee, 2015**). L'un des premiers composés antifongiques volatils isolés des espèces de *Trichoderma* est le 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone (6-PP.) (**Fig. 11**) ce composé est un agent aromatisant non toxique qui a été synthétisé chimiquement à des fins industrielles avant sa découverte en tant que produit

naturel (Cardoza et al., 2005). Le 6-PP appartient au groupe chimiquement diversifié des métabolites de faible poids moléculaire ayant une pression de vapeur élevée à température ambiante et une faible solubilité dans l'eau, classés comme composés organiques volatils (COV) (Zeilinger et al., 2016). Celui-ci a été isolé pour la première fois à partir de *T. viride* (Collins et Halim, 1972).

Par la suite, d'autres souches de *Trichoderma* (*T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. koningii*) ont également été identifiées comme productrices de 6-PP (Vinale et al., 2014). Il est responsable de l'arôme de noix de coco dégagé par les colonies développées. Le 6-PP a montré des activités antifongiques *in vivo* et *in vitro* contre plusieurs champignons phytopathogènes (Vinale et al., 2008b). En effet le traitement par ce métabolite réduit la gravité de la pourriture grise causée par *B. cinerea* sur les cotylédons de la tomate et les symptômes de la maladie de *Leptosphaeria maculans* sur *Brassica napus* (colza) (Reithner et Mach, 2014). Il a également réduit la croissance de *F. oxysporum* et de *R. solani* de 31,7 % et 69,6 %, respectivement (Khan et al., 2020). De même, le 6-PP trouvé chez *T. harzianum* T77 et SQR-T037 ont été utilisés pour la lutte contre les maladies du tronc de la vigne (Mutawila et al., 2016).



**Figure 11.** La structure du 6-PP isolé de *T. viride* (Khan et al., 2020)

#### 1.4.3.1.5. Les polyketides

Les polykétides constituent un vaste groupe de métabolites secondaires qui contiennent alternativement des groupes carbonyles et des groupes méthylènes (-CO-CH<sub>2</sub>-). Ce sont des produits naturels d'une immense importance clinique et économique et sont impliqués dans la compétition et la communication entre les organismes (Zeilinger et al., 2016). Ce groupe à une structure très variée, de métabolites secondaires produits par les bactéries et les champignons, comprend des substances ayant une activité antibiotique comme les tétracyclines et les macrolides (Zeilinger et al., 2015 ; Hermosa et al., 2014). Ils

représentent une partie importante des divers métabolites secondaires produits par les espèces de *Trichoderma* (Atanasova et al., 2013b)

Les polykétides et leurs analogues sont connus pour leur activité antifongique. En 2017 cinq nouveaux polycétides fongiques comprenant l'ent-koninginine A, la 1,6-di-épi-koninginine A, la 15-hydroxykoninginine A, la 10-désacétylkoningiopsine D et la koninginine T, ainsi que deux analogues connus, la koninginine L et le trichokétide A ont été isolés et identifiés à partir de l'extrait de culture de *T. koningiopsis* QA-3. Ces composés ont été testés pour leurs activités antimicrobiennes contre les champignons phytopathogènes suivants (*Bipolaris sorokiniana* Shoemaker, *Ceratobasidium cornigerum* (Bourdot) D.P. Rogers, *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, *Fusarium graminearum* Schwabe, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc., *Phylospora piricola* Nose, et *Valsa mali* Miyabe & G. Yamada) et la plupart de ces composés ont montré une activité antifongique. En effet, particulièrement, le composé trichokétide a montré une activité à large spectre contre l'ensemble des huit champignons phytopathogènes testés (Shi et al., 2017).

#### **1.4. 3.2. Les enzymes**

Les champignons sont des hétérotrophes qui vivent à l'intérieur ou à la surface de leur nourriture. Ils se nourrissent en sécrétant des cocktails d'enzymes digestives qui décomposent une diversité de biopolymères, tels que la cellulose, l'hémicellulose, la lignine, la chitine, les lipides et les protéines, il en résulte des produits solubles qui sont ensuite absorbés par les cellules fongiques (Druzhinina et al., 2012 ;Wessels et Sietsma, 1881).

##### **1.4.3.2.1. Les enzymes lytiques**

Les espèces de *Trichoderma* inhibent la croissance des champignons phytopathogènes par la production d'enzymes lytiques (Viterbo et al., 2002b). Ces dernières sont des enzymes hydrolytiques telles que les chitinases, les cellulases, les amylases, les  $\beta$ -1,3-glucanases, les protéases et d'autres hydrolases qui dégradent la paroi cellulaire des champignons phytopathogènes (Hamrouni, 2019). Elles sont parmi les principales enzymes impliquées dans le mécanisme de défense déployé par *Trichoderma* (Howell, 2003 ; Harman, 2004a ; Druzhinina et al., 2011). L'inhibition de la croissance est également potentialisée par des substances biologiquement actives produites par les espèces de *Trichoderma* qui inhibent la synthèse des parois cellulaires des agents phytopathogènes (Harman et al., 1993; Lorito et al., 1993; Lorito ,1996a, b; Witkowska et Maj, 2002; Sanz et al., 2004).

Une partie fondamentale du système antifongique de *Trichoderma* repose sur une série de gènes codant pour une variété d'enzymes lytiques extracellulaires (Sanz et al., 2004).

Il a été montré que les espèces de *Trichoderma* produisent des enzymes hydrolytiques comme les chitinases, les  $\beta$ -glucanases et les protéases pour dégrader les parois cellulaires des champignons phytopathogènes (**Dendouga et al., 2016 ; Bekkar et al., 2016**) et que la présence de chitinases et de  $\beta$ -1,3-glucanases est considérée comme la clé de la lyse des parois cellulaires dans l'action mycoparasitaire contre les champignons phytopathogènes (**De La Cruz et al., 1992 ; 1995**). Le mycoparasitisme de plusieurs souches de *Trichoderma* spp. est lié à la présence d'enzymes lytiques telles que la chitinase et la  $\beta$ -1,3-glucanase (**Sahai et Manocha, 1993**). La production de ces deux enzymes a été induite par différentes souches de *Trichoderma harzianum* dans des milieux de culture contenant des parois cellulaires composées de  $\beta$ -1,3-glucane et de chitine provenant des espèces *Rhizoctonia solani* et de *Sclerotium rolfsii* Sacc. comme seule source de carbone (**Elad et al., 1982**)

### - Les chitinases

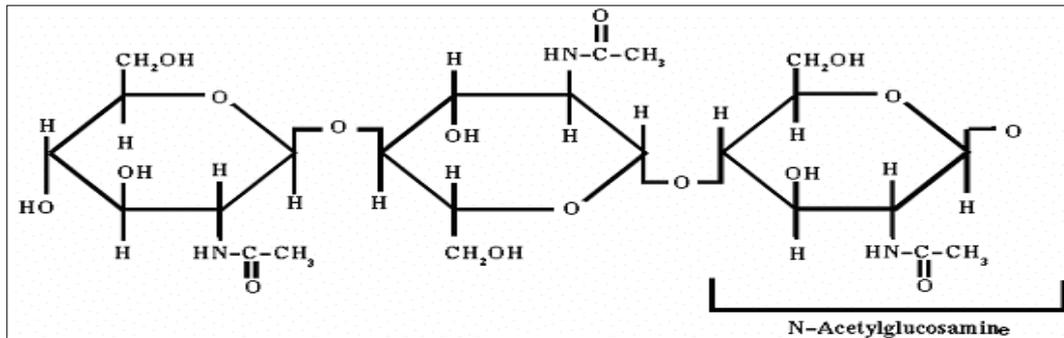
Les chitinases fongiques ont de multiples fonctions physiologiques, notamment la dégradation de la chitine exogène présente dans les parois cellulaires fongiques et le remaniement de la paroi cellulaire pendant la croissance des hyphes, tout en sachant que les génomes des champignons filamenteux contiennent généralement entre 10 et 25 gènes codant pour les chitinases différentes (**Seidl, 2008**). La première création d'une liste complète d'enzymes chitinolytiques basée sur des données de séquences génomiques a été réalisée chez *T. reesei* E.G. Simmons (**Seidl et al., 2008**).

Les chitinases sont impliquées dans l'hydrolyse de la paroi cellulaire lors des attaques mycoparasitaires par certaines espèces de *Trichoderma* (**Benitez et al., 2004 ; Hjeljord et Tronsmo, 1998**). Elles sont les principales enzymes hydrolytiques responsables de la dégradation de la chitine (**Henrissat et Bairoch, 1993**). La chitine, qui est le composant le plus abondant dans de nombreuses parois cellulaires fongiques (**Song et Suh, 1996 ; Nasraoui, 2015**). C'est un homopolysaccharide composé d'unités N-acétyl- $\beta$ -D-glucosamine liées entre elles par des liaisons glycosidiques (1 $\rightarrow$ 4) (**Saguez, 2007**) (**Fig. 12**).

Les chitinases sont des glycosides hydrolases, qui assurent la rupture des liaisons  $\beta$ -1,4 glycosidiques qui lient les carbones C1 et C4 de deux résidus N-acétylglucosamine consécutifs (**Saguez, 2007**). Elles peuvent être classées en deux grandes catégories :

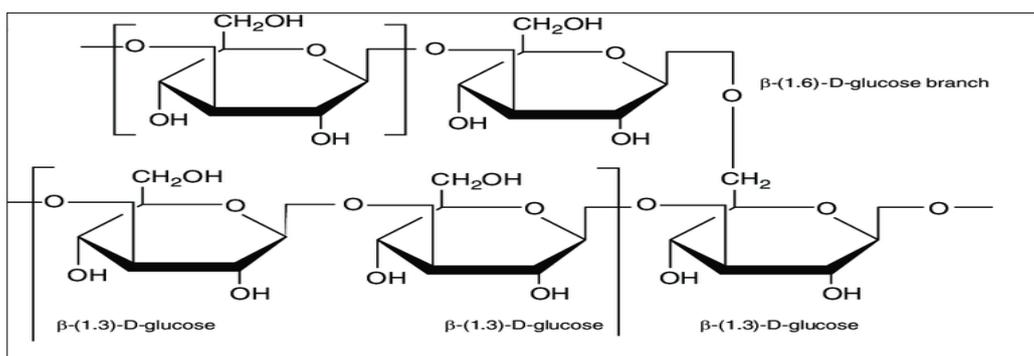
-**Les endochitinases** (EC 3.2.1.14) clivent la chitine au hasard à sites internes, générant des multimères de faible masse moléculaire GlcNAc, comme le chitotétraose, le chitotriose et le diacétylchitobiose (**Dahiya et al., 2006**).

-Les **exochitinases** peuvent être divisées en deux sous-catégories : les **chitobiosidases** (EC 3.2.1.29), qui catalysent la libération progressive de diacétylchitobiose à partir de l'extrémité non réductrice de la microfibrille de chitine, et les  **$\beta$ -(1,4) N-acétyl glucosaminidases** (EC 3.2.1.30), qui clivent les produits oligomères des endochitinases et des chitobiosidases, générant des monomères de GlcNAc (**Sahai et Manocha, 1993**).



**Figure 12.** Structure moléculaire de la chitine (**Okay, 2005**)

**$\beta$ -1,3-Glucanase**, est une enzyme (glycoside hydrolase) dégradant les  $\beta$ -1,3-glucanes. Un  $\beta$ -glucane est un polysaccharide entièrement constitué de D-glucose liés par des liaisons bêta. Les liaisons peuvent être  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3),  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4) ou  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 6), les chiffres indiquant les atomes de D-glucose concernés (**Fig. 13**).  $\beta$ -1,3-Glucan est un composant de la paroi cellulaire de la plupart des champignons et les  $\beta$ -1,3--glucanases se sont avérées être directement impliquées dans l'interaction mycoparasitaire entre *Trichoderma* et son hôte (**Harman, 2000**). Elles sont constituées principalement de deux enzymes, à savoir l'exo-glucanase (EC 3.2.1.58) et l'endoglucanase (EC 3.2.1.39) qui attaquent spécifiquement et qui agissent sur les positions (1, 3) et (1, 6) du  $\beta$ -D-glucane pour libérer du glucose (**Giese et al., 2011 ; Chen et Wang, 2017 ; Sutherland, 1999**)

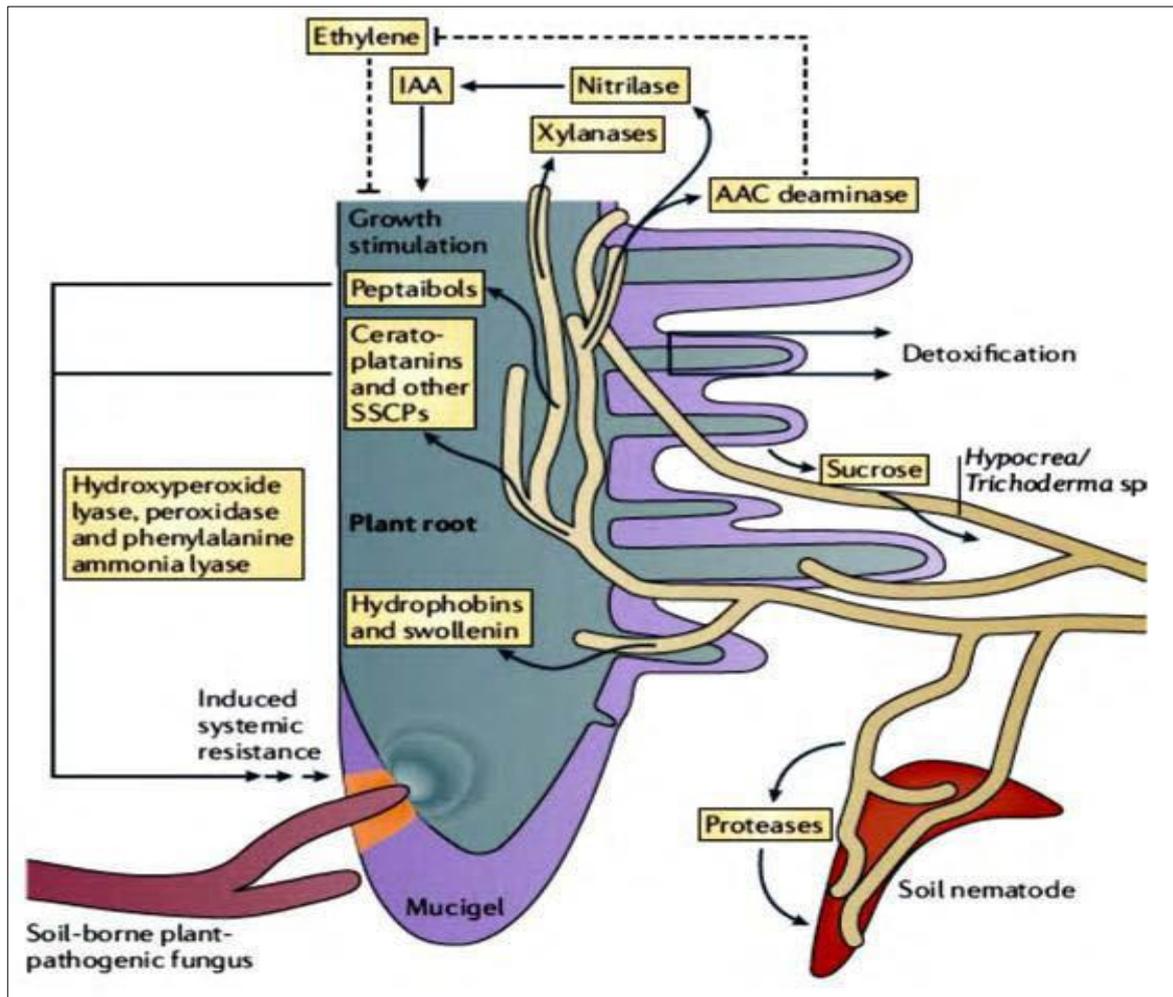


**Figure 13.** Structure du  $\beta$ -glucan des champignons (**Abuajah, 2017**)

### **1.5. Induction de la résistance systémique chez les plantes par *Trichoderma* spp.**

La résistance systémique induite (RSI) des plantes contre les agents phytopathogènes est un phénomène très répandu. En effet, après une infection par un agent pathogène donné, les plantes sont capables de déclencher une réponse immunitaire qui conduit à la production de signaux au site de l'infection, qui se propagent ensuite de manière systémique dans toute la plante, ce qui va induire les plantes à développer une résistance contre une future attaque par divers pathogènes microbiens (Heil, 2001 ; Srivastava et al., 2016).

La RSI est un phénomène principalement induit par des micro-organismes phytopathogènes, mais elle peut être déclenchée par d'autres organismes, tels que *Trichoderma* qui a montré sa capacité à protéger les plantes en renforçant leur système de défense par l'induction de leur résistance systémique (Scherin 2007 ; Hartman et al., 2016). Plusieurs études ont montré le rôle de certaines souches de *Trichoderma* dans l'amélioration de la résistance des plantes. En effet les souches colonisent la surface des racines dans lesquels s'effectue la production de différents composés (les peptides, les protéines et les composés de bas poids moléculaire) ce qui induit la production d'éthylène, une réponse hypersensible et d'autres réactions liées à la défense chez les plantes (Harman et al., 2004a; Scherin, 2007). Il a été montré que *T. asperellum* peut pénétrer dans les racines des plants de concombre et coloniser l'épiderme et le cortex racinaire externe (Yedidia et al., 1999). Ces interactions induisent également une résistance de la plante hôte aux agents pathogènes, même dans sa partie supérieure (Yedidia et al., 1999 ; Yedidia et al., 2003). Plusieurs gènes de défense des plantes sont exprimés en présence de certaines *Trichoderma* spp. par la voie de signalisation Acide/éthylène ce qui rend les plantes plus résistantes à l'infection par les pathogènes (Viterbo et al., 2002a) (Fig.14).



**Figure 14.** Interactions d'*Hypocrea/Trichoderma* spp. avec d'autres organismes de la rhizosphère. Les hyphes d'*Hypocrea/Trichoderma* spp. libèrent plusieurs composants qui déclenchent la résistance systémique de la plante (**Druzhinina et al., 2011**)

### 1.6. Stimulation de la croissance des plantes par les espèces de *Trichoderma*

*Trichoderma* spp. ne se limitent pas à contrôler les agents pathogènes, mais favorisent également la croissance des plantes et le bon développement des racines (biofertilisant). La colonisation du système racinaire par des souches de *Trichoderma* entraîne un développement accru des systèmes racinaires et/ou aériens et des rendements des cultures (**Yedidia et al., 2001**). Il a été montré que la souche T-22 de *T. harzianum* augmente le développement des racines du maïs et de certaines autres plantes (**Harman, 2000 ; Harman et al., 2004a**). Il a aussi été montré que *Trichoderma* spp. améliore la croissance des plants de laitue, de tomate et de poivron (**Vinale et al., 2004 ; 2008b**). La productivité des cultures dans les champs a augmenté, après traitement avec *T. hamatum* ou *T. koningii*, comme le

montre la comparaison des parcelles traitées avec des témoins non traités sur la base de mesures du poids des racines fraîches/sèches et de la biomasse aérienne, de la hauteur des plantes, du nombre de feuilles et de fruits (**Benitz et al., 2004 ; Vinale et al., 2008b**). Les travaux de **Sherm (2007)** ont montré que la production des phytoalexines par la plante été augmentée en présence de *Trichoderma* spp.

### **1.7. Application de *Trichoderma* en agriculture**

*Trichoderma* spp. sont des agents de contrôle biologique très efficaces dans la gestion des maladies fongiques des cultures. Ces agents font preuve de mycoparasitisme à l'égard d'un large éventail d'agents phytopathogènes. Pour lutter biologiquement contre ces derniers et pour garantir une agriculture durable et un environnement plus sain, cette efficacité a été exploitée pour la fabrication commerciale de biofongicides comme agent de biocontrôle. En effet *Trichoderma* spp. ont été largement étudiées et sont actuellement commercialisées comme biopesticides, biofertilisants et amendements du sol, en raison de leur capacité à protéger les plantes, à améliorer la croissance végétative et à limiter les populations pathogènes dans de nombreuses conditions agricoles (**Vinale et al., 2008a**). Près de 20 préparations fongiques de biocontrôle sont à base de *Trichoderma* (**Cumagun, 2012**) (**Tableau 1**). L'espèce prédominante dans la majorité des produits à base de *Trichoderma* est *T. harzianum* (83 %), dont 55 % sont associés à *T. viride* et 28 % à *T. koningii* (**Woo et al., 2014**).

*T. harzianum* et *T. viride* largement utilisés sont principalement appliqués comme traitement du sol dans environ 87 cultures diverses contre 70 pathogènes du sol et 18 pathogènes foliaires, principalement des champignons (**Sharma et al., 2014 ; Sharma, 2018**).

Les biofongicides à base de *Trichoderma* sont aujourd'hui présentés avec plus de 250 produits disponibles dans le monde et représentent environ 60% du marché international des biofongicides (**Topolovec-Pintarić, 2019**). Le pays le plus important en termes d'utilisation massive des produits *Trichoderma* est l'Inde, qui représente 90 % du marché asiatique (**Woo et al., 2014**), suivi par le Brésil dont la production est la plus importante en Amérique du Sud et en Amérique centrale (**Topolovec-Pintarić, 2019**).

**Tableau 1.** Les biopesticides à base de *Trichoderma* commercialisés dans le monde (Cumagun, 2012)

Product	Strain	Company, Country
Topshield, Rootshield	<i>T. harzianum</i> T-22	Bioworks, Geneva, N.Y.
T-22G, T-22B	<i>T. harzianum</i> T-22	TGT Inc., New York
T35	<i>T. harzianum</i>	Makhteshim-Agan Chemicals, Israel
Harzian 20, Harzian 10	<i>T. harzianum</i>	Natural Plant Protection, Noguerres, France
F-stop	<i>T. harzianum</i>	Eastman Kodak Co., United States TGT Inc., New York
Supraavit	<i>T. harzianum</i>	Bonegaard and Reitzel, Denmark
Solsain, Hors-solsain, Plantsain	<i>Trichoderma</i> spp.	Prestabiol, Montpellier, France
ANTI-FUNGUS	<i>Trichoderma</i> spp.	Grondontsmettingen De Ceuster, Belgium
Ty	<i>Trichoderma</i> spp.	Mycontrol, Israel
GlioGard and SoilGard	<i>T. virens</i> ( <i>Gliocladium virens</i> )	Grace-Sierra Co., Maryland
Bip T	<i>T. viride</i>	Poland
Promot PlusWP Promot PlusDD	<i>Trichoderma</i> spp. <i>Trichoderma koningii</i> <i>Trichoderma harzianum</i>	Tan Quy, Vietnam
TRiB1	<i>Trichoderma</i> spp.	National Institute of Plant, Vietnam
TRICÔ-DHCT	<i>Trichoderma</i> spp.	Can Tho University, Vietnam
Vi - ĐK	<i>Trichoderma</i> spp.	Pesticide Corp., Vietnam
NLU-Tri	<i>Trichoderma virens</i>	Ho Chi Minh University of Agriculture and Forestry, Vietnam
Biobus 1.00WP	<i>Trichoderma viride</i>	Nam Bac, Vietnam
Bio - Humaxin Sen Vàng 6SC,	<i>Trichoderma</i> spp.	An Hung Tuong, Vietnam
Fulhumaxin 5.15SC		
BioSpark Trichoderma	<i>T. parceramosum</i> , <i>T. pseudokoningii</i> , and Ultraviolet irradiated strain of <i>T. harzianum</i>	BioSpark Corporation, Philippines

## 2. Données générales sur les champignons phytopathogènes affectants des cultures stratégiques en Algérie

### 2.1. *Fusarium culmorum*

*Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Saccardo est un champignon du sol largement répandu dans le monde entier. C'est un agent pathogène affectant différentes céréales à petits grains, en particulier le blé et l'orge. *F. culmorum* est l'un des agents pathogènes les plus nocifs affectant le blé dur (Pasquali et al., 2013). Cette espèce est également connu comme un agent pathogène post-récolte, en particulier sur les céréales fraîchement récoltées qui n'ont pas été séchées ou stockées correctement (Eifler et al., 2011; Lowe et al., 2012). Le *F. culmorum* provoque deux maladies distinctes sur le blé : la pourriture du collet (FCR= fusarium crown rot) ; aussi appelée pourriture du pied et des racines (Fusarium foot et Fusarium root rot) et la fusariose de l'épi (FHB = fusarium head blight). Comme il est capable

de produire toute une gamme de mycotoxines nuisibles à la santé humaine et animale (**Wagacha et Muthomi, 2007 ; Scherm et al., 2013 ; Siou, 2013**).

En Algérie, le *F. culmorum* est considéré comme la principale espèce associée avec la fusariose de l'épi et la pourriture du collet du blé (**Laraba et al., 2017 ; Abdallah-Nekache et al., 2019**). Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est sensible à la fusariose de l'épi et à la pourriture du collet FHB. Il s'est avéré difficile d'améliorer sa résistance en raison de l'étroite variation génétique de ce caractère dans le pool génétique du blé dur (**Prat et al., 2014**).

En Algérie, les céréales occupent une place importante dans le système alimentaire ainsi que dans le secteur économique du pays. Ce sont principalement le blé dur et l'orge qui sont produits, représentant respectivement 51% et 29% de la production céréalière totale en moyenne (**MADR 2017**). La superficie emblavée en céréales est en moyenne de 3 385 560 ha (**MADR 2017**), dont le blé seul occupe une superficie de récolte de 1 974 987 ha, pour une production de 3876876 tonnes, et un rendement de 19630 kg/ha (**FOASTAT 2019**).

### **2.1.1. Les symptômes de la maladie**

**La pourriture du collet (FCR):** brûlure des semis avec mort de la plante avant ou après la levée ; coloration brune des racines et des coléoptiles des semis infectés ; coloration brune de la sous-couronne et des deux à trois premiers entre-noeuds de la tige principale blanchiment et formation d'épis inproductifs dans le cas des attaques sévères (**Hare et Parry 1996 ; Scherm et al., 2013**).

**La Fusariose de l'épi :** Les symptômes comprennent des lésions brunâtres sur l'épi, avec l'apparition d'un ou plusieurs épillets prématurément blanchis, ou l'apparition de l'épi entier blanchis, qui est facilement observable lorsque le blé se trouve encore au stade de la maturation, l'épi infectée reste vide ou contient des grains de couleur sombre (**Scherm et al., 2013**).

### **2.2. Botrytis cinerea**

*Botrytis cinerea* Pers. (téléomorphe *Botryotinia fuckeliana* de (Bary) Whetzel) est un ascomycète phytopathogène nécrotrophe qui provoque des moisissures grises (maladie de la pourriture grise) sur une large gamme d'hôtes (**Mosbach et al., 2011**). Il est également capable de se développer comme un saprophyte sur des matières végétales mortes et en décomposition (**Williamson et al., 2007**). La pourriture grise est une maladie ancienne,

connue depuis l'antiquité, est la maladie la plus répandue dans le monde, elle touche un grand nombre de plantes, dont les légumes (par exemple, la tomate, le concombre), les plantes ornementales (par exemple, la rose, le gerbera), les bulbes (par exemple, l'oignon) et les fruits (par exemple, les fraise, les pommes, le raisin, etc.) (**Diguta, 2010**). *B. cinerea* affecte plus de 1400 espèces de cultures, dont beaucoup sont des cultures qui ont un intérêt commercial important (**Fillinger et Elad, 2016**). Ce pathogène peut attaquer la culture à n'importe quel stade de son développement et peut infecter n'importe quelle partie de la plante (**Benito et al., 2000 ; Carisse et Van der Heyden 2015**). De plus, ce pathogène très répandu est souvent présent sous forme d'infection latente il s'agit donc d'une maladie dite latente dont l'agent causal pénètre dans le tissu végétal par des blessures ou des ouvertures naturelles (**Fernández-Baldo et al., 2011**). La latence est généralement définie comme la période entre l'infection et l'apparition des symptômes visibles et peut, dans le cas de *B. cinerea*, être longue et variable (**De Kock et Holz, 1992**).

En Algérie, la pourriture grise est l'une des plus redoutables maladies de la tomate (*Solanum lycopersicum* L.). La tomate est l'un des légumes-fruits les plus importants pour la consommation humaine en Algérie et considérée comme un aliment très nutritif en raison de sa teneur élevée en vitamines A et C ainsi qu'en lycopène - antioxydant naturel, que l'on ne trouve pas dans les autres cultures de solanacées (**Chohan et al., 2015**). Ces dernières années, la culture de cette plante a connu un développement très rapide (**Lakhdari et al., 2017**). C'est l'une des plus importantes cultures de *Solanaceae* qui fait partie des cultures industrielles du pays. En effet, celle-ci est confrontée à plusieurs problèmes dont notamment la pourriture grise qui entraîne une baisse importante de la production et une détérioration de la qualité du fruit.

### **2.2.1. Symptôme de la pourriture grise sur tomate**

*B.cinerea* est capable d'attaquer toutes les parties aériennes de la plante. Il provoque l'avortement des fleurs et la chute prématurée des jeunes fruits (**Eden et al., 1996**). Les symptômes sur fleurs, conduisent à la perte totale de la récolte et sont foudroyantes. Au niveau des feuilles, les blessures nécrotiques se développent soit sous forme de cercles concentriques autour du lieu de l'infection, soit sous forme de brûlure sur la nervure médiane. Au niveau des tiges, des chancres se forment, ce qui peut entraîner la mort des plantes ; les symptômes sur les fruits sont de deux types, on observe des halos jaunâtres appelés « taches fantômes » lorsque l'infection a été initiée mais stoppée par les mécanismes de défense de l'hôte, ou on observe encore une pourriture mole (**Aissat, 2008**).

### 2.3. *Alternaria solani*

Les espèces du genre *Alternaria* sont très communes et abondantes. En général, toutes les espèces de ce genre, y compris *Alternaria solani* ont une répartition géographique mondiale (Rotem, 1994). Le genre *Alternaria* comprend des champignons saprophytes ainsi que des espèces phytopathogènes qui ont un impact économique important (Wolters et al., 2018). Elles provoquent l'alternariose (Early blight) de la pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) l'une des principales maladies fongiques de la pomme de terre et des autres solanacées ; une maladie grave du feuillage et des tubercules de la pomme de terre, présente dans la plupart des régions productrices de pommes de terre du monde entier (Christ et Haynes 2001 ; Leiminger et al., 2013 ; 2014 ; Alvarenga et al., 2016 ; Abuley et Nielsen, 2017).

En effet, l'alternariose de la pomme de terre est considérée comme la deuxième maladie foliaire la plus destructrice des cultures de pommes de terre dans le monde après le mildiou (Late blight) causé par *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary (De Vijver, et al., 2019) l'alternariose peut entraîner des pertes de rendement allant jusqu'à 50 % (Horsfield et al., 2010 ; Leiminger et Hausladen, 2012).

En Algérie, au cours de ces dernières années, cette maladie est devenue une menace majeure pour la production de la pomme de terre et des incidences élevées de l'alternariose (pouvant atteindre 80 %) ont été enregistrées dans les régions du nord-ouest de l'Algérie (Bessadat et al., 2016). La pomme de terre est une culture importante en Algérie. Elle est répartie différemment dans les différentes zones bioclimatiques du pays. Elle occupe une place importante dans plusieurs régions d'Algérie, du nord au sud et de l'est à l'ouest (Ayad et al., 2019). Tant du point de vue de la surface que de la production, la culture de la pomme de terre occupe la première place parmi les cultures maraîchères cultivées en Algérie (Messaoudi , 2019)

#### 2.3.1. Symptôme de l'alternariose de la pomme de terre

Les symptômes typiques de la maladie sont caractérisés par des lésions sombres et concentriques, semblables à des anneaux, qui sont limitées par les nervures des feuilles (Waals et al., 2003 ; Abuley et Nielsen, 2017). Les symptômes sont initialement observés sur des feuilles plus âgées et vieillissantes (Waals et al., 2003). En général, la maladie s'intensifie sur les pommes de terre âgées ou vieillissantes (Pelletier et Fry, 1990). Sur les tubercules, l'alternariose se manifeste par l'apparition d'une pourriture sèche de couleur brun-violet. L'alternariose est une maladie qui se caractérise par sa nature multicyclique, plusieurs infections se manifestant tout au long de la saison de croissance (Weber et Dennis, 2012).

Mais sa gravité varie d'une année à l'autre en fonction des conditions climatiques (principalement la température et l'humidité), de l'âge de la culture et de la maturité de la pomme de terre (**Rotem, 1994**). Le champignon peut se conserver dans le sol, sur des résidus de culture ou des tubercules infectés.

#### **2.4. *Rhizoctonia solani***

*Rhizoctonia solani* J.G. Kühn, (téléomorphe *Thanatephorus cucumeris* Frank Donk), l'espèce la plus importante du genre *Rhizoctonia*, est un champignon phytopathogène nécrotrophe très répandu dans le sol qui cause des dégâts à un large éventail de cultures importantes sur le plan économique (**Banville, 1989 ; Sneh et al., 1996 ; Ogoshi, 1996 ; Ajayi-Oyetunde et Bradley, 2017**). Comme il peut attaquer des plantes spontanées appartenant à différentes familles botaniques (**Roussell et al., 1996**). Parmi les cultures affectées, la pomme de terre. Une importante propagation de cet agent pathogène peut avoir lieu dans différentes parties du monde par le biais de tubercules contaminés (**Ferrucho et al., 2012 ; Mumia et al., 2018**).

En Algérie les variétés les plus communément rencontrés (Spunta, Kondor, Désère et Timate) de la pomme de terre sont touchées par *R. solani* (**Midoune, 2014**). En effet ce dernier est l'agent causal de différentes maladies. Il est associé à des chancre sur la tige (stem cankers) et à des défauts sur les tubercules. Ces maladies peuvent causer des dommages quantitatifs et qualitatifs à la culture. Les pertes quantitatives sont dues à l'infection des tiges, des stolons et des racines, qui affectent la taille et le nombre des tubercules, tandis que les pertes qualitatives sont principalement dues à la production de tubercules déformés et fissurés et aussi dues au développement de sclérotés à la surface des tubercules appelés rhizoctone brun (black scurf) (**Woodhall et al., 2007 ; Carling et al., 1989**).

## Chapitre 2. Matériel et méthodes

### 1 Matériel

#### 1.1 Matériel fongique

##### 1.1.1. Agent pathogène

Quatre isolats pathogènes des espèces, *F. culmorum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani* et *Rhizoctonia solani* isolés respectivement du collet du blé, de la tomate et de la pomme de terre, ont été fournis par le laboratoire de Mycologie du Département de Botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA). Les isolats ont été maintenus sur milieu PDA et stockés à 4°C jusqu'à leur utilisation.

#### 1.2. Matériel végétal

Le blé dur (*Triticum durum* Desf) (variété Vitron), a été utilisé pour le test *in vivo*. Ce cultivar largement cultivé en Algérie a été sélectionné sur la base de sa sensibilité à la fusariose en plein champs dans en Algérie. Les semences de ce cultivar ont été aimablement fournies par l'ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) d'Alger. Pour vérifier la faculté de germination des graines, un test de germination a été effectué. Les graines ont été placées sur un papier buvard humide au fond d'une boîte de Petri à température ambiante (20°C à 25°C), et après une semaine, nous avons compté les graines germées.

### 2. Méthodes

#### 2.1. Echantillonnage du sol pour l'obtention de *Trichoderma*

La collection des échantillons a été effectuée dans différentes régions d'Algérie (Nord, Est, Ouest et Sud) (**Tableau 2**) à partir des sols agricoles d'un certain nombre de cultures (pommes de terre, blé, haricots, poivrons, lentilles, petit pois et pois chiche) ainsi que des sols de palmeraies, de jardins publics et d'oliveraies. Les prélèvements de sol ont été effectués à partir des couches superficielles à une profondeur d'environ 15 à 20 cm. Des échantillons de sol rhizosphérique ont également été prélevés sur différentes cultures telles que le pois chiche, le blé, l' haricot, l'avoine, la tomate ainsi que le palmier dattier. Les échantillons ont été apportés au laboratoire, puis séchés à l'air libre et conservés à température ambiante jusqu'à leur utilisation.

**Tableau 2.** Régions et dates de prélèvement des sols

Régions	Dates de prélèvements	Nombre d'isolat
Adrar	Décembre 2013	6
Chlef	Septembre 2013	1
Béjaia	Avril 2014	3
Blida	Octobre 2013	4
Tlemcen	Septembre 2013	1
Tiziouzou	Juin 2013	1
Alger	Septembre 2013	22
Jijel	Mars 2014	1
Sétif	Janvier 2014	2
Constantine	Octobre 2013	2
Medea	Mai 2014	1
Mostaganem	Février 2014	13
Mascara	Juin 2013	1
Boumerdes	Juin 2013	33
Oran	Septembre 2013	1
Tipaza	Septembre 2013	1
Ain Timouchent	Septembre 2013	1
Ghardaïa	Septembre 2013	1

## 2.2. Isolement de *Trichoderma* spp.

La technique de dilution en suspension décrite par **Rapilly (1968)** a été utilisée, chaque échantillon de sol (10 g) a été mélangé avec 90 ml d'eau distillée stérile et agité pendant 30 minutes, puis une série de dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-4}$  a été préparée pour chaque suspension de sol. Une aliquote de 10 ml de la dilution choisie a été ajoutée au flacon contenant 90 ml de milieu Potato Dextrose Agar (PDA) en surfusion (Annexe 1). Après avoir versé le milieu PDA dans des boîtes de Petri, elles ont été incubées à 22°C sous lumière continue pendant 4 à 7 jours ou jusqu'à ce qu'une croissance fongique soit observée. Les colonies de *Trichoderma* spp. ont été sélectionnées en fonction de leur morphologie et de la morphologie des conidiophores, des phialides et des conidies. Les colonies de *Trichoderma* ont d'abord été purifiées par une série de repiquage sur milieu PDA puis par monospore, et incubées à 22 ° C pendant 7 à 10 jours. Une fois purifiées, les cultures ont été conservées dans des tubes inclinés contenant le milieu PDA à 4°C jusqu'à leur utilisation.

## 2.3. Identification des isolats de *Trichoderma* spp.

### 2.3.1. Identification morphologique

Des observations culturales et morphologiques ont été effectuées sur des cultures fongiques qui ont poussé sur milieu PDA à 25°C sous lumière blanche artificielle pendant 3 à 7 jours.

Les caractéristiques culturales comprenaient la croissance, la couleur, l'aspect de la colonie, la production de pigment dans le milieu. Les caractéristiques microscopiques comprenaient la morphologie des conidies, du conidiophore et de ses ramifications, ainsi que la morphologie des phialides. La présence de chlamydospores et leur morphologie ont été également prises en considération. Les isolats fongiques ont été attribués au genre *Trichoderma* en fonction des caractères morphologiques décrits par **Rifai (1969)**, **Bissett (1991a, b, c)**, **Gams et Bissett (1998)** et **Samuels et al. (2002)**.

### **2.3.2. Identification moléculaire**

L'identification de *Trichoderma* spp. au niveau de l'espèce a été basée sur le séquençage de l'ADN des régions 1 et 2 des espaceurs internes transcrits (ITS1 et ITS2) de l'ADNr et d'une partie du gène du facteur d'élongation -1alpha (TEF 1- $\alpha$ )

#### **2.3.2.1 Extraction de l'ADN**

L'ADN génomique a été extrait selon le protocole décrit par **Lee et Taylor (1990)** avec quelques modifications. Le mycélium de *Trichoderma* spp. a été prélevé après 4 jours de culture dans un milieu PDB (Potato Dextrose Broth) (Annexe 1) à l'obscurité à 25°C. Le mycélium a été récupéré par centrifugation pendant 15 minutes à 8000 tours/minute dans une microcentrifugeuse, le surnageant étant éliminé. Une quantité de 100  $\mu$ l du tampon d'extraction a été ajouté (200 mM Tris HCL pH 8,5, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA, 0,5% SDS). Le mycélium a été ensuite broyé avec un broyeur conique, ajusté exactement au tube et homogénéisé par agitation manuelle pendant une minute. Ensuite, les échantillons ont été placés d'abord pendant 20 minutes à - 20 °C, puis pendant 20 minutes à 65 °C et 20 minutes à - 20 °C. Des volumes de 200 $\mu$ l du tampon d'extraction ont été ajoutés et le mycélium a été à nouveau broyé pendant une minute. Les échantillons ont été placés ensuite pendant 30 minutes à 65 °C. Un volume de 150  $\mu$ l d'acétate de sodium 3 M, pH 5,2 a été ajouté et les échantillons ont été incubés à - 20 °C pendant 10 min. Le lysat (après 10 minutes à température ambiante) a été centrifugé à pleine vitesse à 4 °C pendant 20 minutes et le surnageant a été transféré dans un nouveau tube de 1,5 ml. L'ADN a été précipité par l'ajout de 450  $\mu$ l d'isopropanol glacé. Après 15 minutes à température ambiante, l'ADN a été mis en pelote à pleine vitesse pendant 30 minutes à 4 °C (après avoir éliminé le surnageant de centrifugation). La pelote a été lavée deux fois avec de l'éthanol glacé à 70 %, ensuite centrifugée pendant 5 minutes à pleine vitesse (après élimination des surnageants de centrifugation), puis la pelote a été séchée à 65 °C pendant 15 minutes. L'ADN a été remis en suspension dans 20  $\mu$ l d'eau stérile ultra pure et la qualité de l'ADN a été ensuite contrôlée sur un gel d'agarose.

### **2.3.2.2. Amplification de l'ADN par PCR**

#### **Amplification de la région ITS de d'ADNr**

Deux amorces décrites par **White et al. (1990)** : ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGGGGG-3') et ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ont été utilisées pour l'amplification de la région ITS. L'amplification a été réalisée dans un volume total de 25 µl en mélangeant 1 µl d'ADN, 1 µl de chaque amorce, 12,5 µl d'ADN polymérase Taq (MyTaq HS Mix) et 9,5 µl d'eau ultra-pure. Les conditions de cycle thermique pour l'amplification étaient les suivantes : une dénaturation initiale à 95 °C pendant 1 minute, suivie de 34 cycles consistant chacun en une étape de dénaturation à 95 °C pendant 15 s, une hybridation à 55 °C pendant 15 s et une extension à 72 °C pendant 10 s puis une dernière période d'extension à 72 °C pendant 10 min.

#### **Amplification d'une partie du gène TEF 1- $\alpha$**

La séquence TEF1- $\alpha$  a été amplifiée par le couple d'amorces EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') et EF1-1199R (5'-GGGAAGTACCMGTGATCATGT-3') (**Druzhinina et al., 2005**) dans un volume total de 25 µl, en mélangeant 1µl d'ADN, 1µl de chaque amorce, 12,5µl d'ADN polymérase Taq (MyTaq HS Mix) et 9,5 µl d'eau ultra-pure. Les paramètres d'amplification suivants ont été utilisés: dénaturation initiale pendant 7 min à 95 ° C, suivie de 34 cycles de dénaturation pendant 30 s à 95 ° C, une hybridation pendant 45 s à 58 ° C, extension pendant 30 s à 72 ° C et une étape finale d'extension à 72 ° C pendant 10 min. Les produits amplifiés ont été séparés sur un gel d'agarose à 1,5% à 90 V et un marqueur d'ADN d'un poids moléculaire de 1 Kb a été utilisé comme témoin.

### **2.3.2.3. Séquençage**

Les produits PCR ont été purifiés par le kit "PCR clean-up, Gel extraction" et transférés dans des tubes de 1,5 ml, puis 2,5 µl d'amorces (les mêmes amorces utilisés pour l'amplification des ITS et du Tef- 1  $\alpha$  ont été utilisées pour le séquençage) ont été ajoutés à chaque tube, et les tubes ont été séchés à l'air à 65 °C. Après le séchage, des quantités de 10 µl d'eau ultra-pure ont été ajoutées à chaque tube et ont ensuite été envoyées pour séquençage par le laboratoire Eurofin Scientific (Luxembourg).

Les séquences obtenues ont été traitées par le logiciel BioEdit version 7.0 et ensuite comparées aux séquences de la banque génomique NCBI.

### **2.3.2.4. Analyse phylogénétique**

Les analyses phylogénétiques ont été effectuées en utilisant le logiciel Mega (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) version 7.0. L'alignement des séquences a été effectué par le

programme clustal et l'arbre phylogénétique a été obtenu par la méthode Neighbor-Joining (NJ). Les supports relatifs des groupes obtenus par NJ ont été estimés en utilisant 100 répliques de la procédure bootstrap.

#### **2.4. Effet de la température sur la croissance des isolats de *Trichoderma* spp.**

Cette étude a été menée pour déterminer le taux de croissance à différentes températures et la température de croissance optimale selon le protocole établi par **Samuels et al. (2002)**.

##### **2.4.1. L'effet de la température sur la croissance des isolats de *Trichoderma* spp. sur milieu PDA et SNA**

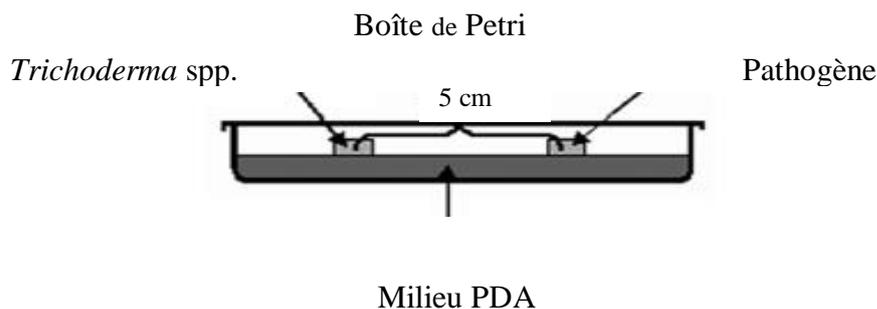
Des boîtes de Petri contenant le milieu PDA ou SNA (Annexe 1) ont été inoculées avec des explants mycéliens (5 mm) d'une culture âgée de 7 jours de chaque isolat de *Trichoderma* à 1,5 cm de la périphérie de la boîte. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque isolat/milieu, les cultures ont été incubées à différentes températures, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C et 40°C à l'obscurité et la croissance de chaque colonie a été enregistrée toutes les 24 heures jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour de l'incubation.

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

L'effet antagoniste de tous les isolats de *Trichoderma* à l'égard des quatre agents phytopathogènes (*F. culmorum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani* et *Rhizoctonia solani*) a été évalué sur milieu PDA par des tests de confrontation directe et indirecte.

##### **2.5.1. Confrontation directe**

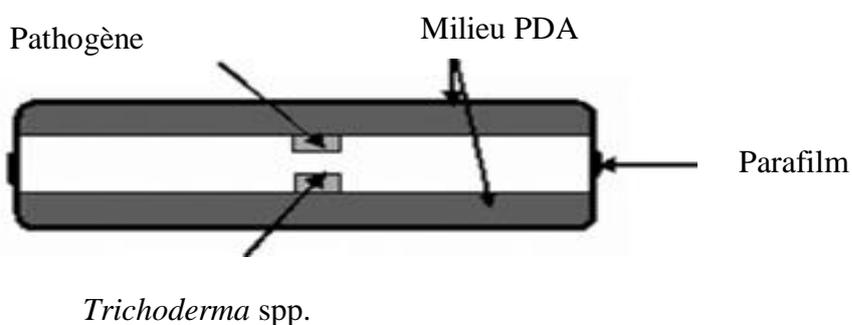
Le test a été réalisé selon le protocole décrit par **Benhamou et Chet (1996)** où l'antagoniste et l'agent pathogène ont été co-inoculés dans la même boîte de Petri (90 mm de diamètre), contenant le milieu PDA. Deux explants de mycélium (5 mm de diamètre) obtenus à partir des marges actives des cultures en croissance de colonies des deux champignons âgés de 7 jours ont été placés à une distance de 5 cm et à une équidistance du centre de la boîte de Petri. Pour le témoin, un explant de mycélium de 5 mm de diamètre de l'agent pathogène a été placé de la même manière dans la boîte de Petri sans l'antagoniste. Les cultures ont été incubées à 25 °C à l'obscurité pendant 7 jours. Les boîtes de Petri ont été examinées quotidiennement pour évaluer la réduction de la croissance des colonies de l'agent pathogène (**Fig. 15**)



**Figure 15.** Schéma de la confrontation directe du pathogène et de *Trichoderma* spp. sur milieu PDA

### 2.5.2. Confrontation indirecte

Selon le protocole décrit par **Olivier et Germain (1983)**, des explants mycéliens de 5 mm de diamètre obtenus à partir des marges actives de cultures âgées de 7 jours de chaque agent pathogène (*F. culmorum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani* et *Rhizoctonia solani*) et de chaque antagoniste ont été placés au centre de deux boîtes de Petri séparées contenant du milieu PDA. Les couvercles des boîtes de Pétri ont été retirés, et un assemblage a été fait par superposition des boîtes, *Trichoderma* en bas et l'agent pathogène en haut. Pour éviter la perte de substances volatiles, les boîtes superposées ont été entourées de parafilm. Comme témoin, deux boîtes contenant du PDA ont été superposées, la boîte supérieure inoculée avec des fragments de mycélium de 5 mm de diamètre de l'agent pathogène et la boîte inférieure contenant uniquement du milieu PDA. Trois répétitions pour chaque traitement ont été réalisés et les cultures ont été incubées à 25 °C à l'obscurité pendant 4 jours et des mesures de la croissance de la colonie de l'agent pathogène ont été enregistrés (**Fig. 16**).



**Figure 16.** Schéma de la confrontation à distance entre le pathogène et *Trichoderma* spp. sur milieu PDA

Le pourcentage d'inhibition de la croissance de l'agent pathogène dans les deux confrontations est évalué selon la formule :  $I (\%) = [1 - (C_n / C_0)] \times 100$ .  $C_n$  : diamètre de la colonie des agents pathogènes en présence d'isolats de *Trichoderma* (mm).  $C_0$  : diamètre de la colonie des témoins (mm).

## **2.6. Essai de protection (*in planta*) des plants de blé à l'égard de la pourriture du collet causée par *F. culmorum* par l'utilisation de quelques isolats de *Trichoderma* spp.**

Cinq isolats de *Trichoderma* spp., T a. 09 (*T. atroviride* P. Karst.), T o. 15 (*T. orientale* (Samuels & Petrni) Jaklitsch & Samuels), T af. 17 ; T af. 37 (*T. afroharzianum* P. Chaverri, F.B. Rocha, Degenkolb & Druzhin.) et T g. 39 (*T. gamsii* Samuels & Druzhin) qui ont montré une forte inhibition par les tests *in vitro* contre *F. culmorum* ont été sélectionnés pour les essais de protection du blé à l'égard de la pourriture du collet causée par le même agent pathogène.

### **2.6.1. Traitement des graines de blé par *Trichoderma* spp.**

Les conidies ont été prélevées par raclage de la surface des isolats de *Trichoderma* âgés de 7 jours, cultivés sur un milieu PDA à 25°C, et mises en suspension dans 50 ml d'eau distillée stérile. La concentration des conidies a été ajustée à  $10^7$  spores/ml. Les graines de blé ont été désinfectées pendant 5 minutes dans de l'hypochlorite de sodium à 5 %, puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile, séchées sur du papier filtre stérile, puis trempées dans la suspension de spores de *Trichoderma* à raison de 3 ml par 10 g de graines de blé et laissées pendant 2 heures à température ambiante avant le semis.

### **2.6.2. Inoculation par *F. culmorum***

L'inoculation a été effectuée selon la méthode décrite par **Demirci et Dane (2003)**. Des graines de blé enrobées de la suspension de spores de *Trichoderma* ont été plantées à raison de 5 graines dans chaque pot (9×9×9,5) cm, à une profondeur de 2 cm dans un mélange de terre et de terreau préalablement stérilisé (2/1) puis immédiatement inoculées en plaçant un fragment de mycélium de 5 mm de diamètre prélevé sur des colonies de pathogènes (*F. culmorum*) âgées de 7 jours en contact direct avec chaque graine. Les graines et les inoculums ont été recouverts par le mélange de terre.

Les pots ont été placés dans une serre à  $25 \pm 2$  °C jour/nuit. Quatre répétitions par isolat ont été utilisées, et chaque répétition consiste en deux pots. Des graines non traitées plantées en contact avec un fragment mycélium du pathogène de 5 mm de diamètre ont été utilisées comme témoins positifs et des graines non traitées plantées en contact avec des disques de 5 mm de diamètre du milieu PDA ont été utilisés comme témoins négatifs.

### 2.6. 3. Notation des symptômes

Les plants ont été observés périodiquement pour suivre l'apparition et la progression des symptômes. Les notations sont effectuées après 40 jours du semis, au moment où les plants sont arrachés. L'intensité de la maladie sur le collet du blé a été évaluée sur une échelle de 0 à 3, comme décrit par **Grey et Marthre (1988)** :

- **0** : Absence de 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.

L'indice de maladie (IM) a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\mathbf{IM} = (0 \times \mathbf{F0} + 1 \times \mathbf{F1} + 2 \times \mathbf{F2} + 3 \times \mathbf{F3}) / \mathbf{N}$$

Où :

- **IM** = indice de maladie.
- **F** = nombre de plants pour chaque degré dans l'échelle d'évaluation de 0 à 3.
- **N** = nombre total de plants utilisés.

Le pourcentage de réduction de l'indice de maladie a été calculé à l'aide de la formule suivante:

$$\mathbf{PR} (\%) = [1 - (\mathbf{IM_T} / \mathbf{IM_0})] \times 100$$

Où :

- **IM<sub>T</sub>** : indice de maladie des plants provenant de semences traitées avec *Trichoderma* et inoculées avec *F. culmorum*,
- **IM<sub>0</sub>** : indice de maladie de témoin positif (plants provenant de semences non traitées et inoculées avec *F. culmorum*).

### 2.7. Analyses statistiques

Les résultats des tests effectués *in vitro* et *in vivo* ont été soumis à une analyse de la variance (ANOVA) par l'utilisation du logiciel Statistica version 6. Les différences entre les moyennes ont été déterminées à l'aide du test HSD de Tukey et les résultats ont été jugés significatifs au seuil de 5 % ( $P \leq 0,05$ ) avec un intervalle de confiance de 95 %.

## Chapitre 3. Résultats et discussion

### 1. Résultats

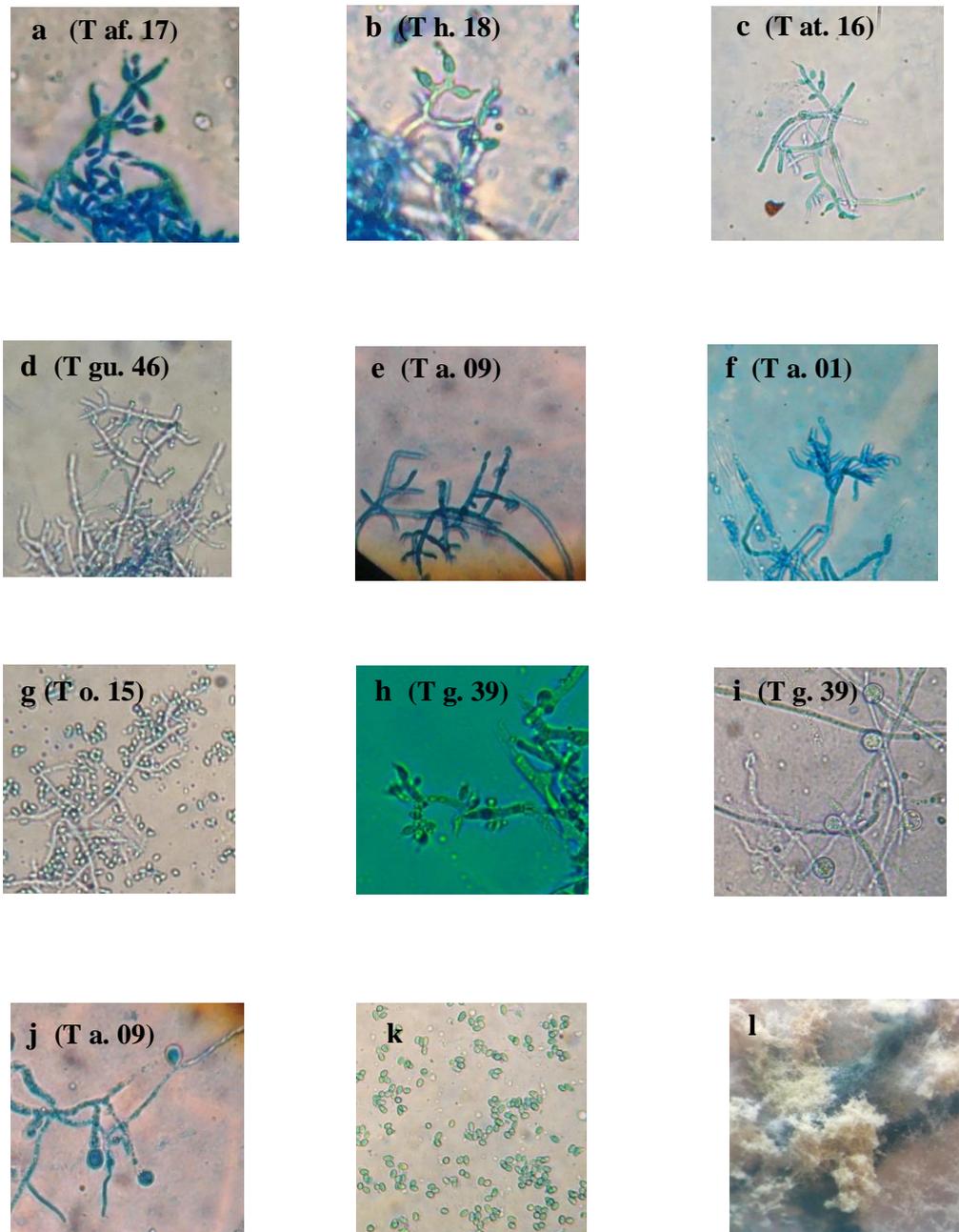
#### 1.1. Identification des souches de *Trichoderma*

##### 1.1.1. Identification morphologique

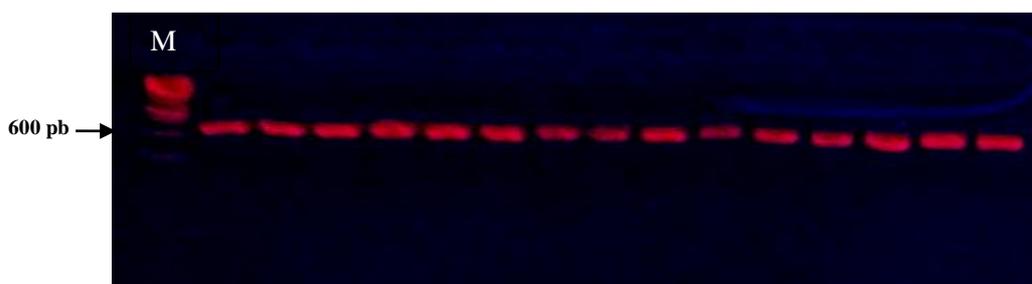
Quarante-six colonies formées sur milieu PDA ont été attribuées au genre *Trichoderma* sur la base de caractéristiques morphologiques. Après quatre jours de culture, les 46 colonies présentaient une croissance rapide et une distribution irrégulière de pustules blanches, jaune ou vertes sur la surface des cultures sur milieu PDA (**Fig. 17**). La couleur de ces colonies varie du vert foncé à jaune ou jaune foncé. L'observation microscopique a montré un mycélium composé d'hyphes hyalins à paroi lisse, de conidiophores très ramifiés, en forme pyramidale portant des phialides lagéniformes. Celles-ci sont disposées en verticilles en position terminale sur les branches du conidiophore, ou moins fréquemment seules ou en verticilles directement sous les cloisons le long du conidiophore et de ses branches (**Fig. 17**). Ainsi que de nombreuses conidies de forme arrondie ont été observées, tandis que certains isolats présentaient des chlamydospores globulaires, terminales ou intercalaires (**Fig. 17**). Autre particularité importante à mentionner dans cette étude est l'odeur de noix de coco dégagée par certains isolats.

##### 1.1.2. Identification moléculaire des espèces de *Trichoderma* spp.

L'amplification de la région ITS a donné une bande unique d'environ 600 paires de bases (pb) pour tous les isolats de *Trichoderma* (**Fig. 18**). Après séquençage, les séquences ITS ont été comparées aux séquences ITS de la base de données GenBank (NCBI), à l'aide du BLAST (Base Local Alignment and Search Tool) (Annexe 2). Le résultat a été le suivant : seuls 23 isolats ont été identifiés parmi les 46 étudiés dont 11 isolats ont été identifiés comme étant *T. atroviride*, 9 isolats comme étant *T. afroharzianum* et 3 isolats comme étant *T. harzianum*.



**Figure 17.** Aspect microscopique des conidies, des conidiophores et des phialides de *Trichoderma* spp. *T.afroharzianum* G 10x40 x 2.6 (a), *T. harzianum* G 10x40 x 2.6 (b), *T. atrobrunneum* G 10x40 (c), *T. guizhouense* G 10x40 x 2.3 (d), *T. atroviride* G 10x40 (e , f) , *T. orientale* G 10x40 (g), *T. gamsii* G 10x40 (h), chlamydospores et mycélium de *T. gamsii* G 10x40 (i), chlamydospores et mycélium de *T. atroviride* G 10x40 (j), conidies (k), pustules sur milieu PDA à 25°C (l)



**Figure 18.** Profil d'amplification par PCR de l'ADNr de la région ITS de quelques isolats de *Trichoderma* spp., utilisant des amorces ITS1 et ITS4 (M : marqueur de poids)

Les séquences ITS de ces isolats ont montré une grande similarité rangée entre 99 et 100% avec les séquences des isolats existants au niveau de GenBank. Les autres (23 isolats) n'ont pas pu être identifiés en raison de la grande similarité avec plus d'une espèce sur GenBank pour le même isolat.

L'amplification du gène TEF 1- $\alpha$  a donné une seule bande d'environ 700 (pb) pour tous les isolats. Les 46 séquences TEF 1- $\alpha$  de *Trichoderma* ont été comparées aux séquences TEF 1- $\alpha$  du GenBank et ont montré une grande similarité classée entre 98 et 100% avec les séquences d'espèces telles que *T. atroviride*, *T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum*, *T. guizhouense*, *T. orientale* et *T. gamsii* (Annexe 2). Sur la base de ces résultats, les 46 isolats de *Trichoderma* ont été identifiés et attribués à des espèces de *Trichoderma*.

Le plus grand nombre (23 isolats) identifiés appartenait au complexe d'espèces de *T. harzianum* avec 17 isolats de *T. afroharzianum* (T af) avec une similarité de (98, 22 - 100%) par rapport aux souches types de l'espèce *T. afroharzianum* ( FJ463301.1 GJS 04-186 CBS:124620 et *T. afroharzianum* KP115273.1 - BPI:GJS 08137), 4 isolats de *T. harzianum* (T h) avec (98,16 -99,32%) de similarité avec les souches types de *T. harzianum* (AY605833 CBS : 226.95 ) et *T. harzianum* : FJ463308.1 GJS 06-124, 1 isolat de *T. atrobrunneum* (T at) avec 99,81% de similarité avec *T. atrobrunneum* FJ463392.1 GJS 05-101 et 1 isolat *T. guizhouense* (Tgu) avec 99,81% de similarité avec la souche type de *T. guizhouense* (JN215484.1 HGUP0038 CBS : 131803). Parmi les 46 isolats, 12 isolats ont été attribués à l'espèce *T. atroviride* (T a), avec un pourcentage de similarité de 100% avec *T. atroviride* : KJ871107. DAOM : 230838 et AF456894.1 G.J.S. 95-8. *T. gamsii* (T g) était représenté par 10 isolats ayant (99, 40- 100%) de similarité avec *T. gamsii* : KJ871264.1 DAOM : 233985 et une seule souche a été identifiée comme *T. orientale* (T o) avec 99% de similarité avec *T. orientale* : EU401581.1 G.J.S 88-81 (**Tableau 3**).

Les séquences TEF 1- $\alpha$  de *Trichoderma* spp. obtenues dans la présente étude ont été déposées dans la base de données européenne tandis que les séquences ITS ont été déposées dans la base de données Genbank du NCBI sous les numéros d'accès indiqués dans le **tableau 3**. L'aspect morphologique de chaque espèce est illustré dans la **Figure 19**. Les 46 isolats de *Trichoderma* sont répartis dans différents lieux géographiques en Algérie (**Fig.20**).

### 1.1.2.1. Analyse phylogénétique

L'arbre phylogénétique basé sur les analyses des séquences TEF 1- $\alpha$  et montrant la position des 46 isolats de *Trichoderma* spp. par rapport aux séquences de référence des espèces de *Trichoderma* déposées dans les banques génomiques et aux séquences des souches types de *Trichoderma* spp. est présenté dans la **Figure 21**. Les analyses bootstrap pour 100 répliques, en ne considérant que les valeurs supérieures à 50%, montrent la présence de trois groupes principaux.

- **Le premier groupe principal**, soutenu par des valeurs bootstrap de 97%, comprend les 23 isolats appartenant au complexe d'espèces de *T. harzianum*. Ce même groupe est subdivisé en deux sous-groupes, dans le premier sous-groupe soutenu par des valeurs bootstrap de 97% est regroupé l'unique isolat *T. guizhouense* 46 avec les souches type de *T. guizhouense* (JN215484.1 HGUP0038 CBS : 131803) et les souches de référence (*T. guizhouense* : MG797484.1 GJS 08-102, *T. guizhouense* : MG797483.1 GJS 08-121 et *T. guizhouense* : MG797482.1 VAB-T047). Le deuxième sous-groupe, dont la valeur bootstrap est de 52 %, est subdivisé en deux sous-groupes. Le premier, dont la valeur bootstrap est de 75%, comprend les quatre isolats de *T. harzianum* regroupés en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe soutenu par une valeur bootstrap de 100% comprend l'isolat *T. harzianum* 18 regroupé avec la souche type de *T. harzianum* (AY605833 CBS : 226,95) et la souche de référence (*T. harzianum* : AY605777.1 DAOM 229907), et le second sous-groupe soutenu par une valeur bootstrap de 79 % comprend *T. harzianum* 23, *T. harzianum* 24 et *T. harzianum* 34 avec la souche de référence FJ463308.1 GJS 06-124. Le second, dont la valeur bootstrap est de 68%, est divisé à son tour en deux sous-groupes. Dans le premier, dont la valeur bootstrap est de 88%, sont regroupés les 17 isolats de *T. afroharzianum* (T af. 17 , T af. 19 , T af. 20 , T af. 21 , T af. 22, T af. 25, T af. 27, T af. 28, T af. 29, T af. 32, T af. 33, T af. 35, T af. 36, T af. 38, T af. 42 et T af. 43 avec la souche type de *T. afroharzianum* (FJ463301.1 GJS 04-186 CBS : 124620) et avec d'autres souches de référence (*T. afroharzianum* : FJ463378.1 GJS 05-113, *T. afroharzianum* : KP115273.1 - BPI : GJS 08137). Le second supporté par une valeur bootstrap de 45% renferme l'isolat unique de *T. atrobrunneum* 16 avec la souche type

(AF443942.1 GJS92-110 CBS: 548.92) et la souche de référence (*T.atrobrunneum* FJ463392.1 GJS 05-101).

**-Le deuxième groupe principal**, dont les valeurs bootstrap sont de 100 %, se compose de l'isolat unique *T. orientale* 15 avec la souche type (*T. orientale* : EU401581.1 CBS : 130428) et la souche de référence *T. orientale* (KJ713200.1 DAOM : 220795).

- **Le troisième groupe principal** est soutenu par des valeurs bootstrap de 100% et est subdivisé en deux sous-groupes. Le premier sous-groupe, dont les valeurs bootstrap sont de 100%, renferme les 10 isolats appartenant à l'espèce *T. gamsii* (T g. 02 , T g. 10 , T g. 11, T g. 12, T g. 26, T g. 30, T g. 31, T g. 39, T g. 41, T g. 45 ) groupés avec la souche type *T. gamsii* : KT028598.1 GJS 06-09 CBS : 120075, et la souche de référence *T. gamsii* : KJ871264. Tandis que dans le second sous-groupe, avec une valeur bootstrap de 97%, sont regroupés les 12 isolats appartenant à l'espèce *T. atroviride* (T a. 01, T a. 03 , T a. 04 , T a. 05, T a 06 , T a. 07, T a. 08, T a. 09, T a. 13 , T a. 14, T a. 40 , T a. 44 ) avec la souche type *T. atroviride* : AY376051 CBS : 142,95 et avec les souches de référence : *T. atroviride* : AF456894.1 G.J.S. 95-8 et *T. atroviride* : AF456887.1 G.J.S. 98-134.

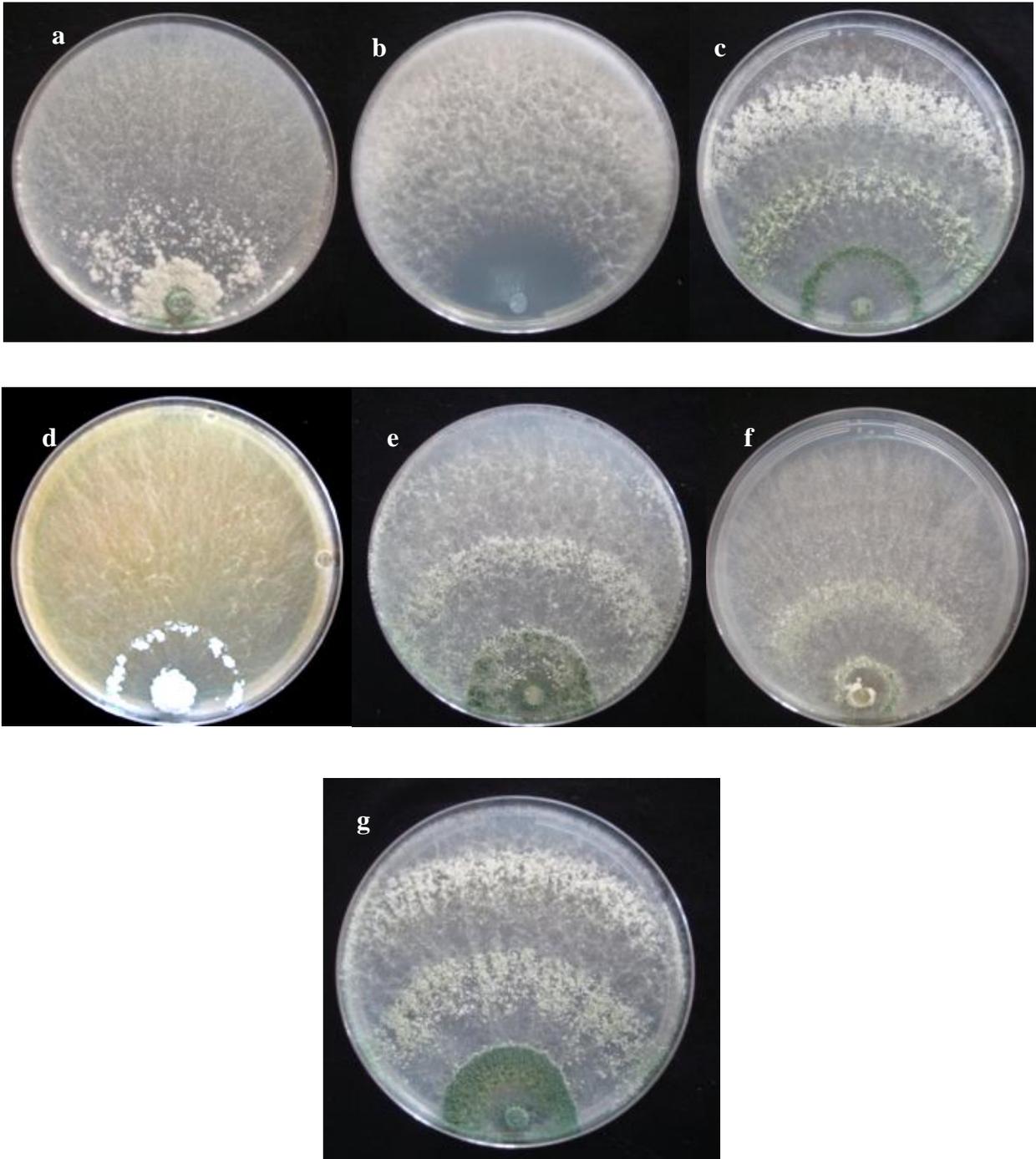
Après identification moléculaire, il a été précisé que les isolats dégageant l'odeur de noix de coco, sont tous les 12 isolats (T a. 01, T a. 03, T a. 04, T a. 05, T a. 06, T a. 07, T a. 08, T a. 09, T a. 13, T a. 14, T a. 40, T a. 44) appartenant à l'espèce *T. atroviride* et les 10 isolats (T g. 02, T g. 10, T g. 11, T g. 12, T g. 26, T g. 30, T g. 31, T g. 39, T g. 41 et T g. 45) de l'espèce *T. gamsii*.

**Tableau 3.** Origine et identité des isolats de *Trichoderma* spp.

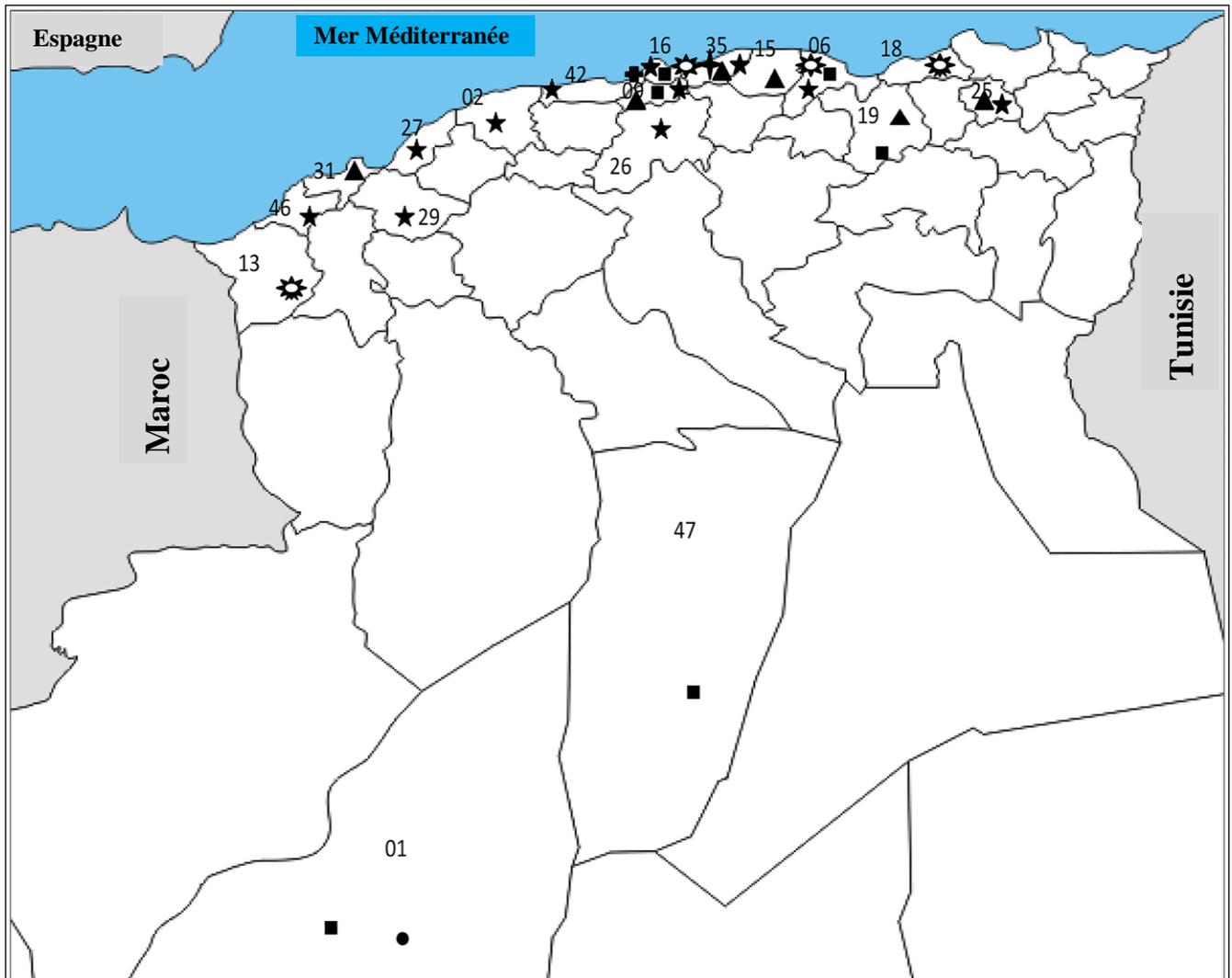
Codes des isolats	Origine géographique en Algérie / habitat	ITS	TEF 1- $\alpha$	Numéros d'accès GenBank	
				ITS	TEF 1- $\alpha$
T a. 01	Adrar (Bouda) / sol de rhizosphère du palmier	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK942741	MN175393
T g. 02	Sétif (Ain el fawara) / fleur (public garden soil)	/	<i>T. gamsii</i>	/	MN175394
T a. 03	Algiers (El harrach) / sol de la rhizosphère de pois chihe (Station Experimentale ENSA)	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943679	LR699019
T a. 04	Sétif (Ain oulmene) / sol de l'olivier	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943680	LR699172
T a. 05	Adrar (Tililane) / sol de rhizosphère du palmier	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943681	LR699173
T a. 06	Adrar (Mahdia) / sol de rhizosphère du palmier	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943682	LR699174
T a. 07	Ghardaia /sol de palmeraie	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943683	LR699175
T a. 08	Béjaia (Tichy)/ sol de rhizosphère de blé	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943684	LR699176
T a. 09	Adrar / sol de rhizosphère du palmier (Station Experimentale INRAA)	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943685	LR699177
T g. 10	Boumerdes / sol agricole de pomme de terre	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699206
T g. 11	Boumerdes (Zemmouri) / sol agricole de blé	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699207
T g. 12	Boumerdes (Zemmouri) / sol agricole de blé	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699208
T a. 13	Blida (Meftah) / sol agricole de blé	/	<i>T. atroviride</i>	/	LR699178
T a. 14	Algiers (Ain Taya ) / sol agricole de l'haricot	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943686	LR699179
T o. 15	Adrar (Mahdia) / sol de rhizosphère du palmier	/	<i>T. orientale</i>	/	LR699180
T at. 16	Boumerdes (Zemmouri) / sol agricole de blé	/	<i>T. harzianum</i> / <i>T. atrobrunneum</i>	/	LR699181
T af. 17	Medea / sol agricole de l'haricot	/	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	/	LR699182
T h. 18	Béjaia (Tichy) / sol agricole de poivre	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>	MK943687	LR699183
T af. 19	Constantine / sol agricole de lentilles	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	MK943688	LR699184
T af. 20	Blida (Ahmar El Ain) / sol de rhizosphère de blé	/	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	/	LR699185
T af. 21	Mostaganem / sol agricole de pomme de terre	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	MK943689	LR699186
T af. 22	Béjaia (Tichy) / sol de rhizosphère de l'haricot	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	MK943690	LR699187
T h. 23	Jijel / sol de rhizosphère de tomate	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>	MK943691	LR699188
T h. 24	Alger (Oued Smar,ITGC) / sol de rhizosphère de blé	<i>T. harzianum</i>	<i>T. harzianum</i>	MK943692	LR699189
T af. 25	Tipaza / sol agricole de petit pois	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	MK943693	LR699190
T g. 26	Boumerdes (Zemmouri) / sol de rhizosphère de blé	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699209
T af. 27	Mascara / laurier-rose (sol de jardin public)	/	<i>T. harzianum</i> / <i>T. afroharzianum</i>	/	LR699191

**Tableau 3** (suite)

T af. 28	Mostaganem / sol agricole de pomme de terre	<i>T. harzianum/T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	MK943694	LR699192
T af. 29	Chlef/sol agricole de l'haricot	<i>T. harzianum/T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	MK943695	LR699193
T g. 30	Constantine / sol agricole de lentilles	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699210
T g. 31	Blida (Souakria) / sol agricole de l'haricot	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699211
T af. 32	Ain Timouchent (Tamzoura) /sol agricole de blé	/	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	/	LR699194
T af. 33	Alger (El Harrach) / sol de rhizosphère de l'haricot	<i>T. harzianum/T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	MK943696	LR699195
T h. 34	Tlemcen (Hannaia) / sol de rhizosphère de blé	/	<i>T. harzianum</i>	/	LR699196
T af. 35	Boumerdes (Zemmouri) //sol agricole de blé	/	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	/	LR699197
T af. 36	Blida (Ahmar El Ain) / sol de rhizosphère de blé	/	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	/	LR699198
T af. 37	Mostaganem / sol agricole de pomme de terre	/	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	/	LR699199
T af. 38	Boumerdes (Zemmouri) / sol de rhizosphère de blé	/	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	/	LR699200
T g. 39	Tiziouzou / sol de rhizosphère de l'haricot	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699212
T a. 40	Adrar (Mahdia) / sol de rhizosphère du palmier	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943697	LR699201
T g. 41	Boumerdes (Zemmouri) / sol de rhizosphère de blé	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699213
T af. 42	Alger (Oued Smar, ITGC) / sol de rhizosphère de l'Avoine	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	MK943698	LR699202
T af. 43	Alger (Oued Smar) (ITGC) / sol de rhizosphère de pois chiche	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	<i>T. harzianum / T. afroharzianum</i>	MK943699	LR699203
T a. 44	Alger (El Harrach) / sol de rhizosphère de pois chiche	<i>T. atroviride</i>	<i>T. atroviride</i>	MK943700	LR699204
T g. 45	Oran (Ain Allah) / sol agricole de blé	/	<i>T. gamsii</i>	/	LR699214
T gu. 46	Alger (Staouli) / sol agricole de pomme de terre	/	<i>T. harzianum / T. guizhouense</i>	/	LR699205



**Figure 19.** *Trichoderma* spp. cultivés sur milieu PDA après quatre jours d'incubation à l'obscurité à 25 °C. *T. atroviride* (a), *T. gamsii* (b), *T. harzianum* (c), *T. orientale* (d), *T. afroharzianum* (e), *T. atrobrunneum* (f), *T. guizhouense* (g)



**Figure 20.** Carte de l'Algérie montrant la distribution des espèces de *Trichoderma* dans différentes régions : Adrar (1), Chlef (2), Béjaïa (6), Blida (9), Tlemcen (13), Tiziouzou (15), Alger (16), Jijel (18), Sétif (19), Constantine (25), Medea (26), Mostaganem (27), Mascara (29), Boumerdes (35), Oran (31), Tipaza (42), Ain Timouchent (46), Ghardaïa (47)

- |                           |                         |
|---------------------------|-------------------------|
| ★ <i>T. afroharzianum</i> | ✚ <i>T. guizhouense</i> |
| ✦ <i>T. atrobrunneum</i>  | ☼ <i>T. harzianum</i>   |
| ▪ <i>T. atroviride</i>    | • <i>T. orientale</i>   |
| ▲ <i>T. gamsii</i>        |                         |



**Figure 21.** L'arbre phylogénétique basée sur l'analyse des séquences TEF des 46 souches de *Trichoderma* spp. L'arbre indique la position des 46 isolats *Trichoderma* spp. par rapport aux souches types des espèces cibles et aux souches de référence de la banque de gènes. Les nombres au niveau des branche indiquent le pourcentage avec lequel la branche est supportée pour 100 réplication bootstrap et donnée uniquement pour les valeurs > 50.

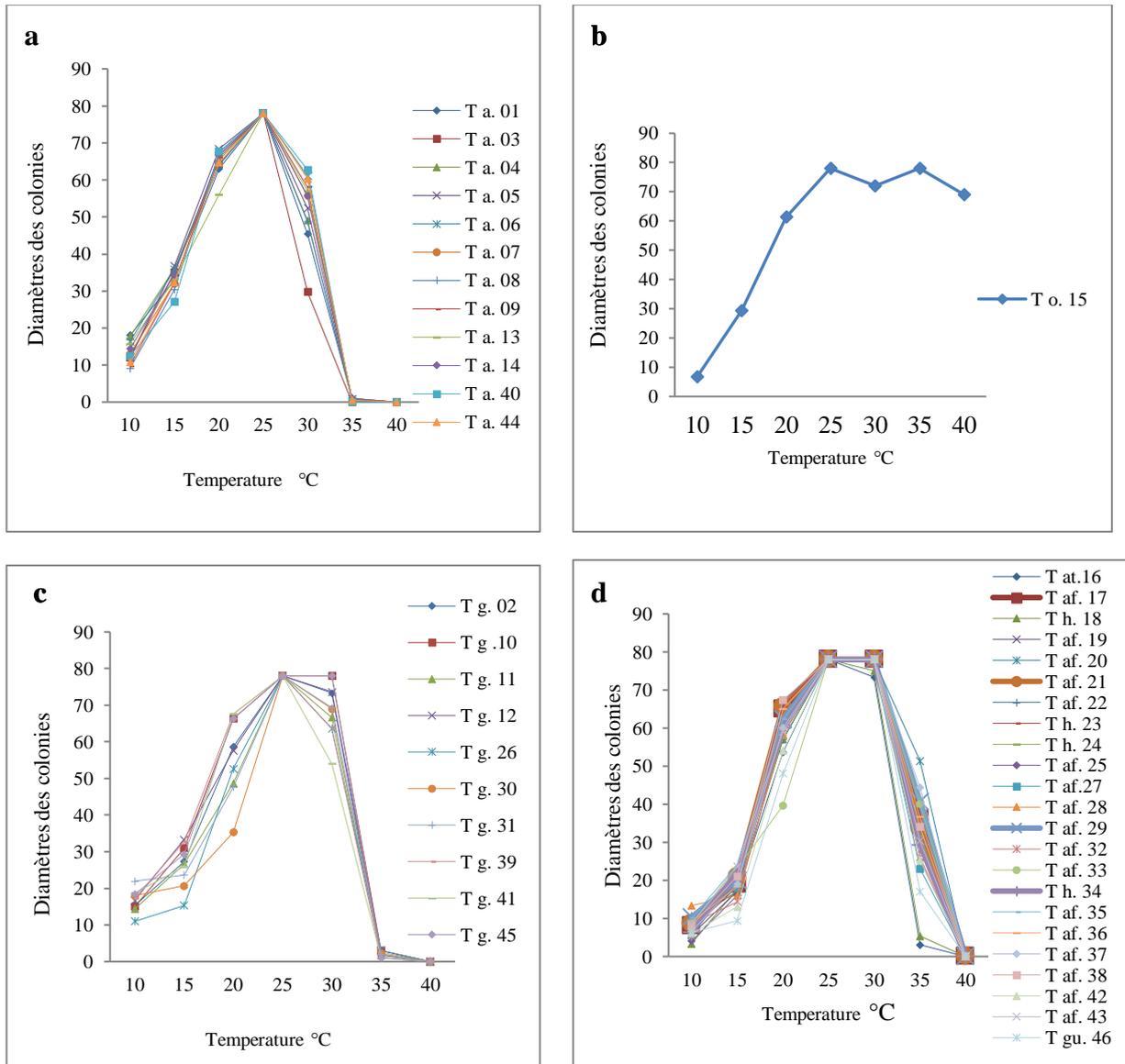
## **1.2. Effet de la température sur la croissance des isolats de *Trichoderma* spp.**

Les résultats obtenus ont montré que le taux de croissance des isolats appartenant aux différentes espèces de *Trichoderma* spp. utilisées dans la présente étude était plus rapide sur milieu PDA que sur milieu SNA à différentes températures.

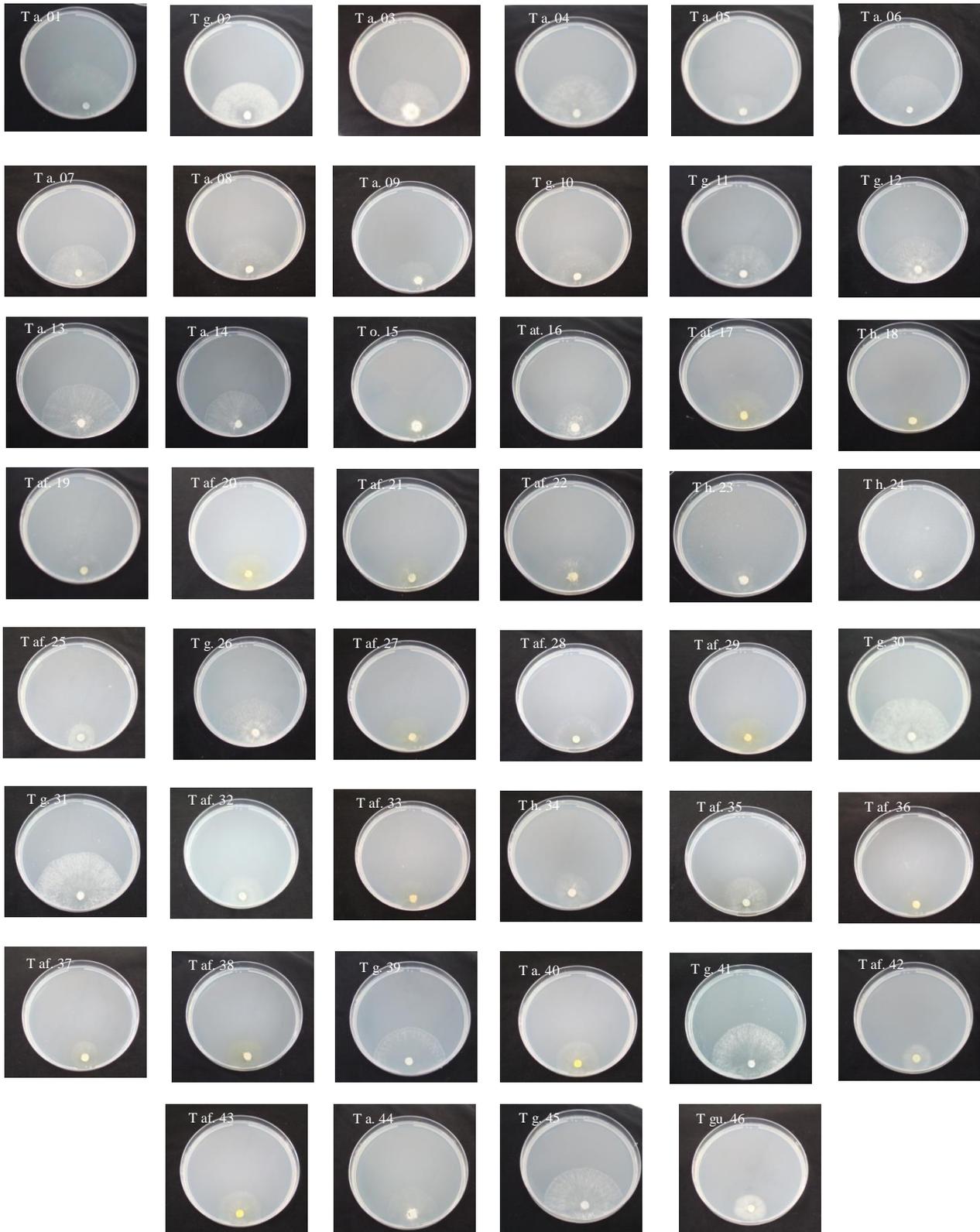
### **1.2.1. Effet de la température sur la croissance des isolats de *Trichoderma* sur milieu PDA**

Le taux de croissance de tous les isolats de *Trichoderma* à différentes températures après 96 h d'incubation à l'obscurité sur milieu PDA était presque similaire au sein d'une même espèce, mais différent d'une espèce à l'autre. Ces résultats sont illustrés par les courbes de croissance (**Fig. 22**).

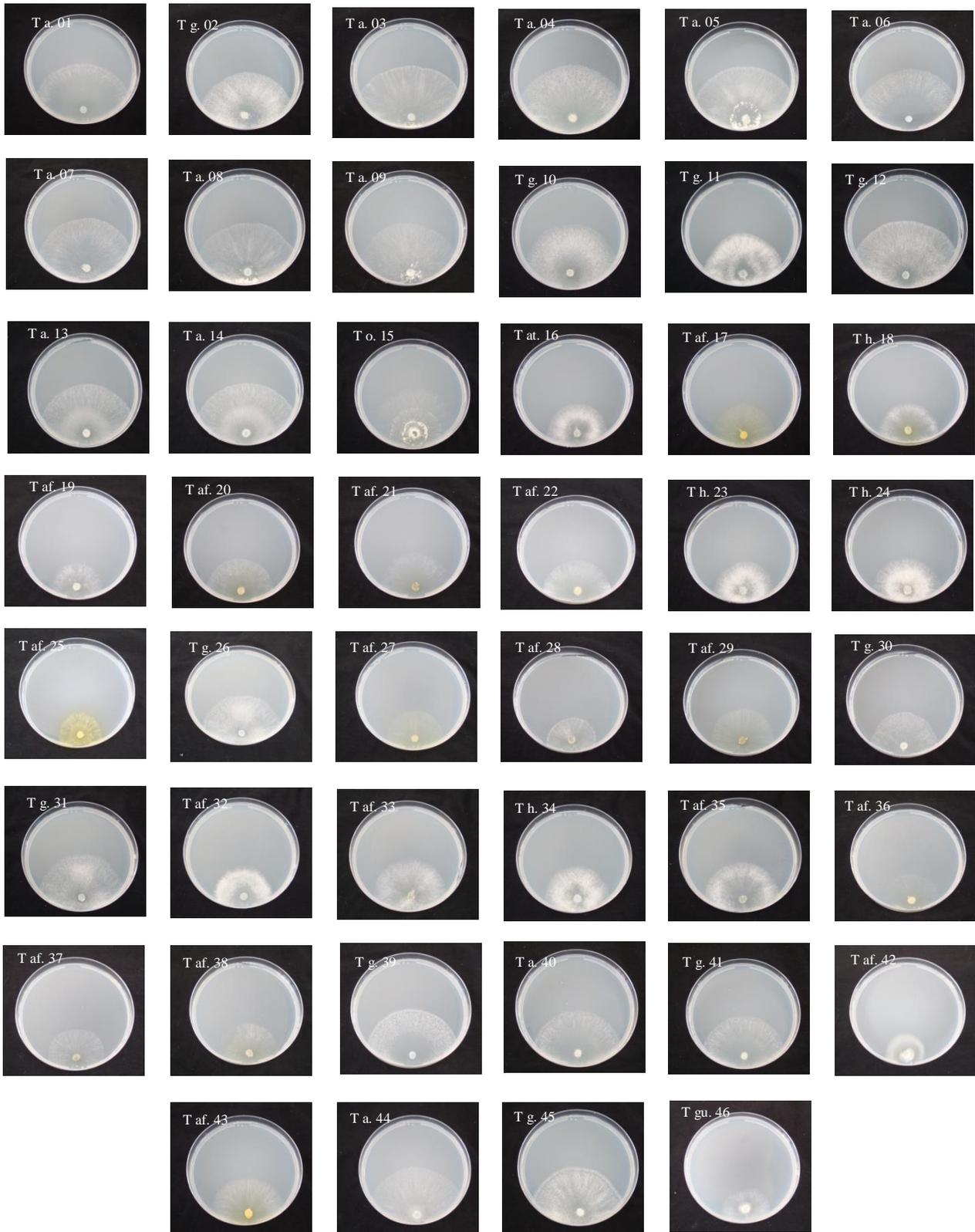
En général, la croissance optimale a été enregistrée à une température comprise entre 25 et 30°C. La croissance de *T. atroviride*, *T. gamsii*, *T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense* était proportionnelle à l'augmentation des températures de 10 °C à son optimum à 25 °C, puis la croissance commence à diminuer et à être inhibée à 40 °C. D'autre part, la croissance optimale de l'isolat appartenant à l'espèce *T. orientale* a été enregistrée à 25 °C et à 35 °C, au-dessus de 35 °C une régression de la croissance a été constatée, sans être inhibée à 40 °C, indiquant une bonne croissance à cette température contrairement aux autres espèces utilisées dans cette étude (**Fig. 23, 24, 25 26, 27, 28 et 29**).



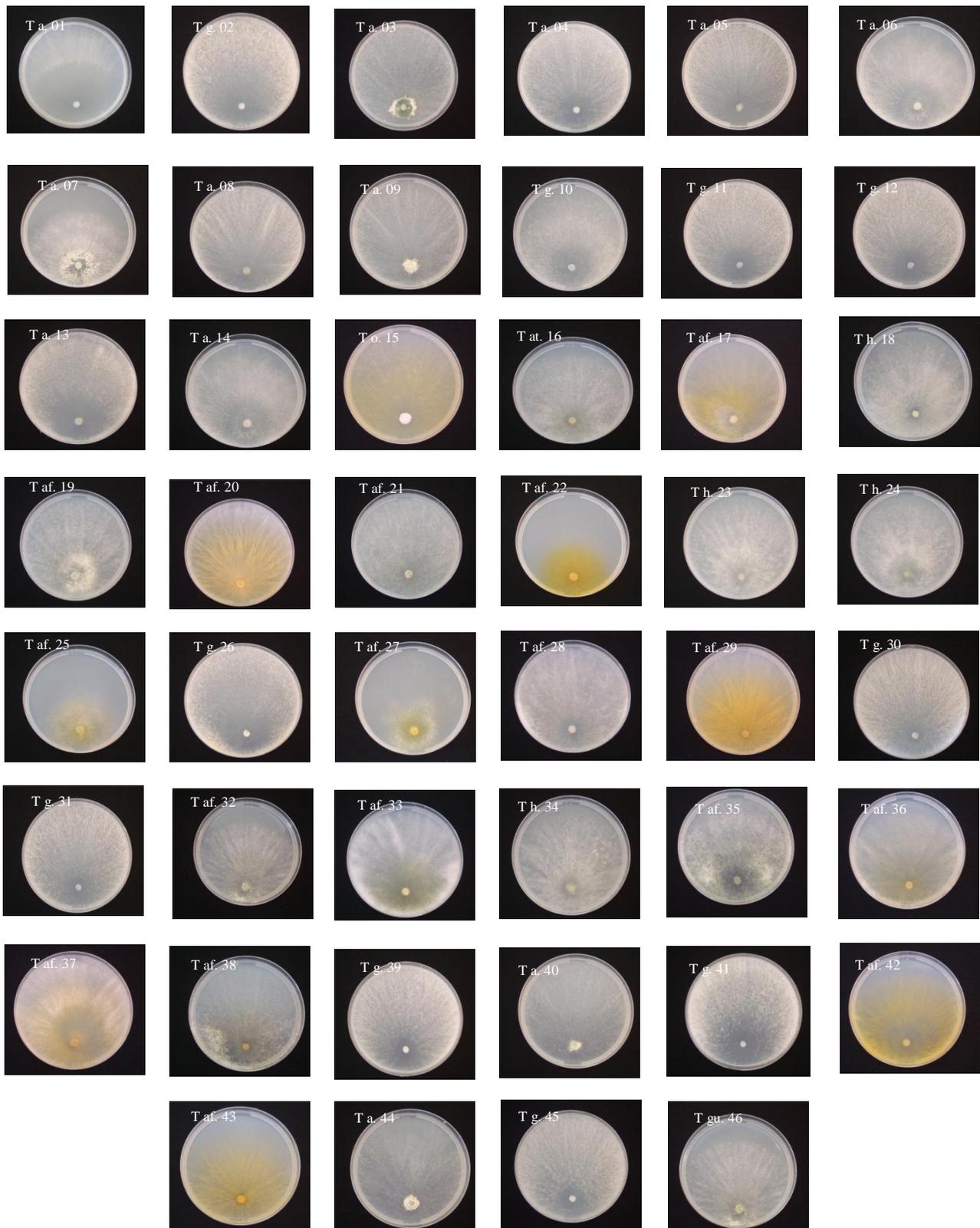
**Figure 22.** Diamètres des colonies de *T. atroviride* (a), *T. orientale* (b), *T. gamsii* (c), *T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense* (d) sur milieu PDA après 96 h d'incubation à l'obscurité à 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40°C



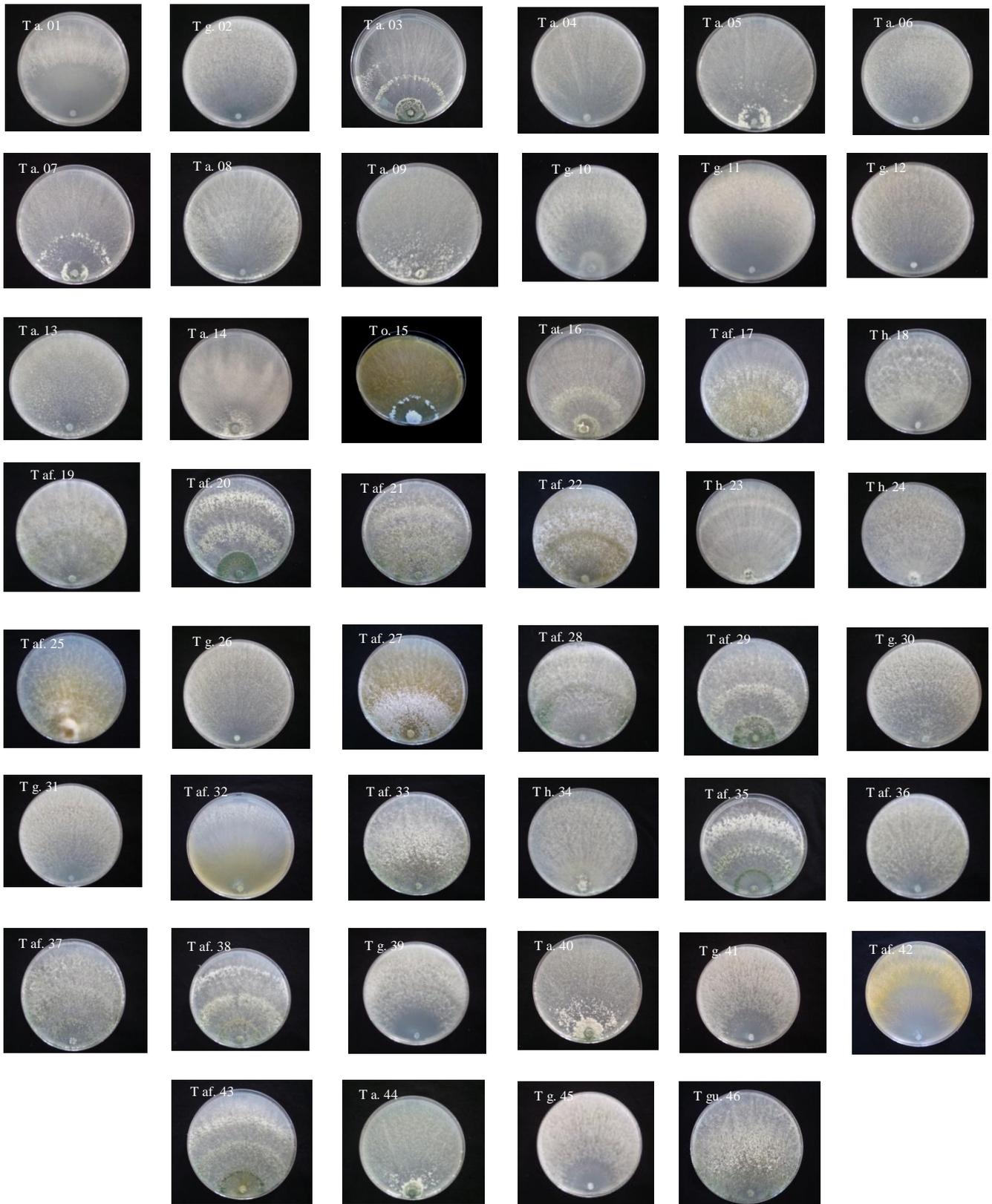
**Figure 23.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 10°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



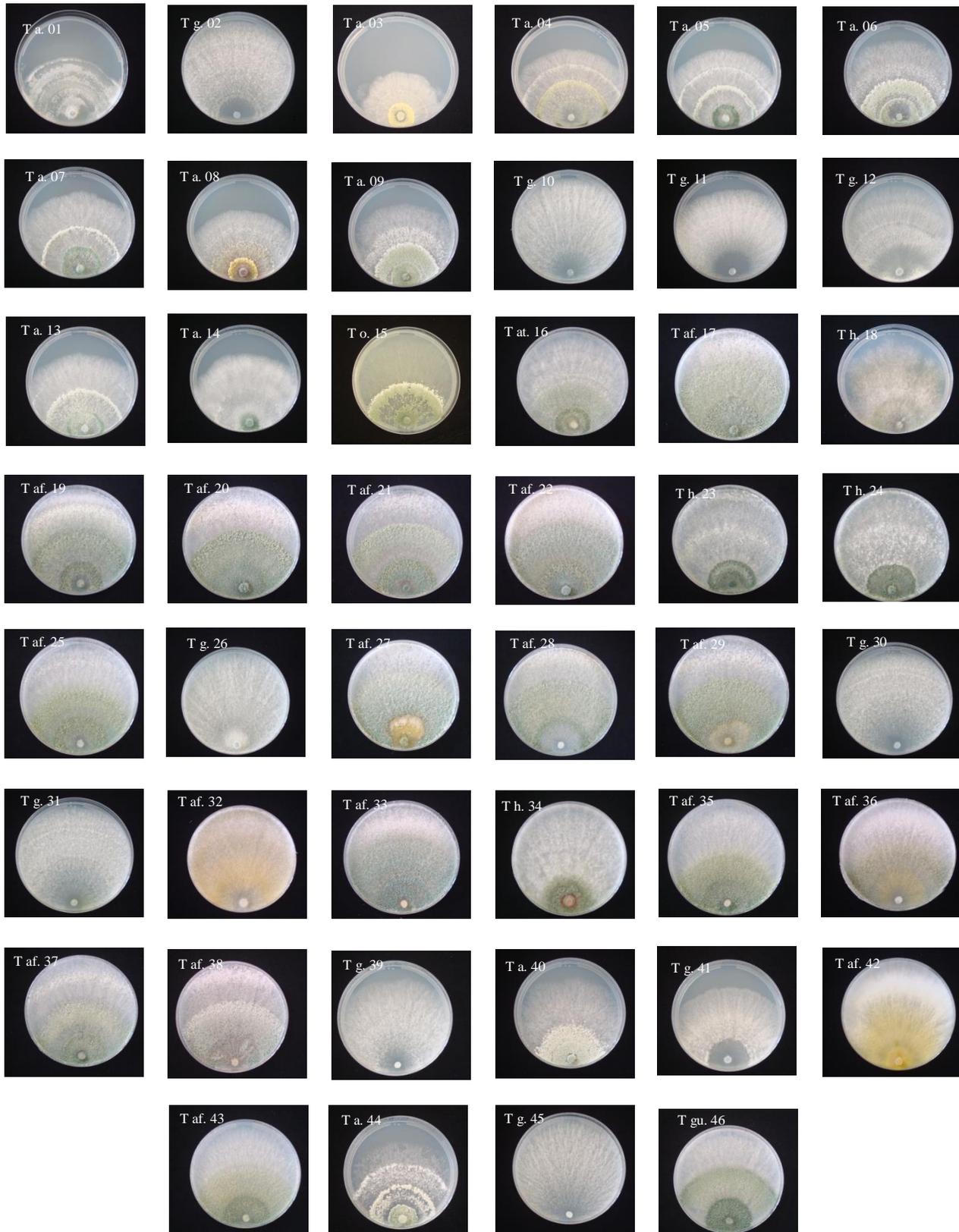
**Figure 24.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 15°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



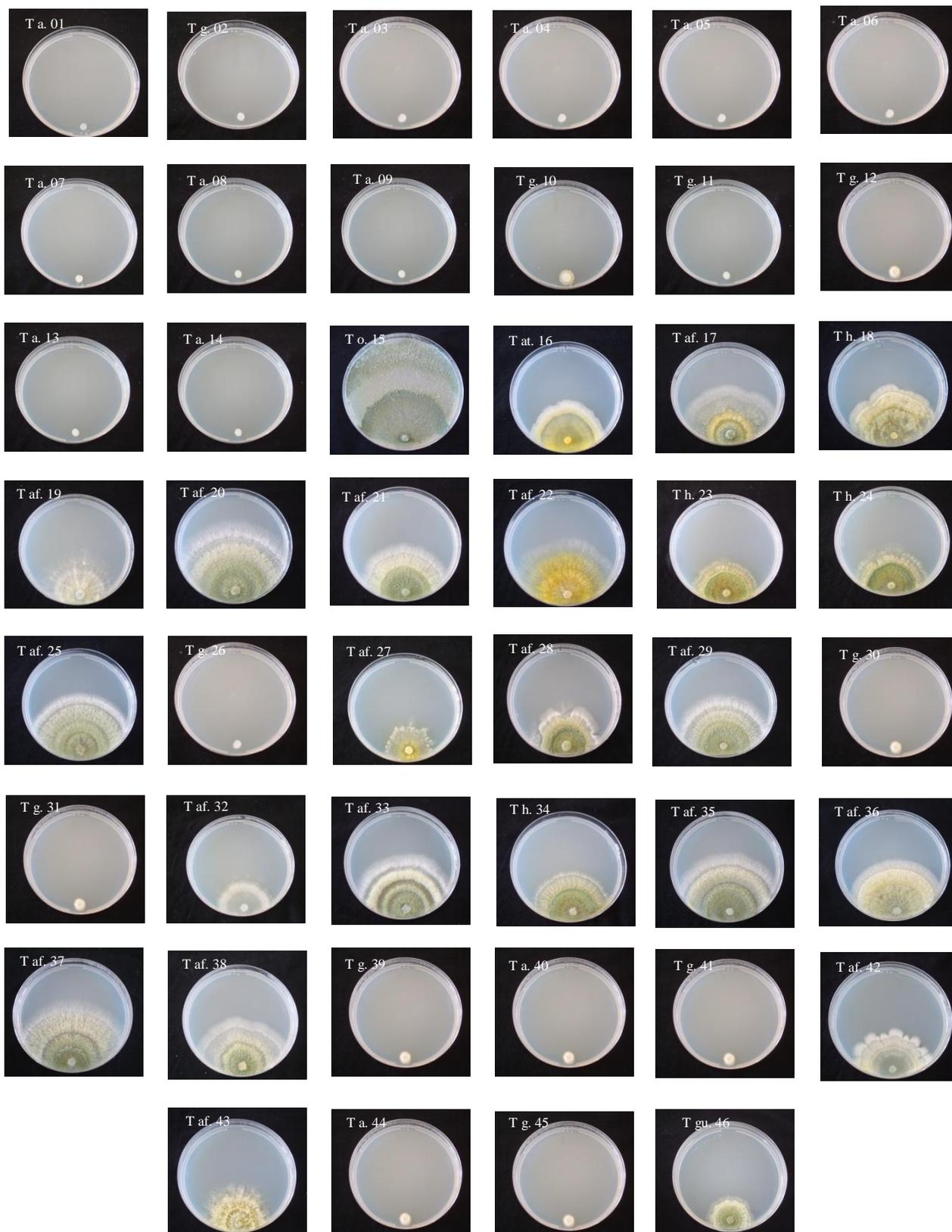
**Figure 25.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 20°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



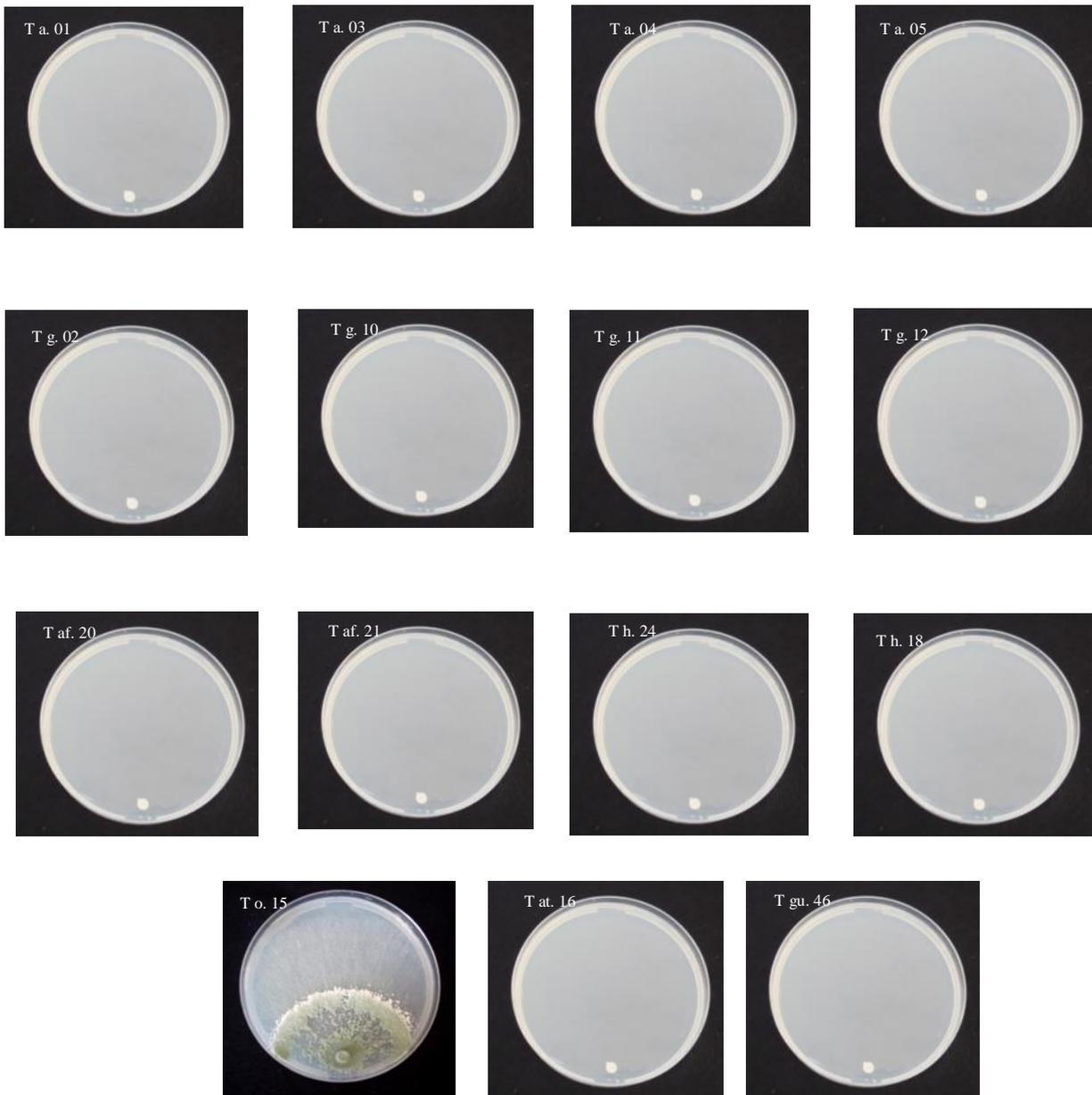
**Figure 26.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 25°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



**Figure 27.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 30°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



**Figure 28.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 35°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).

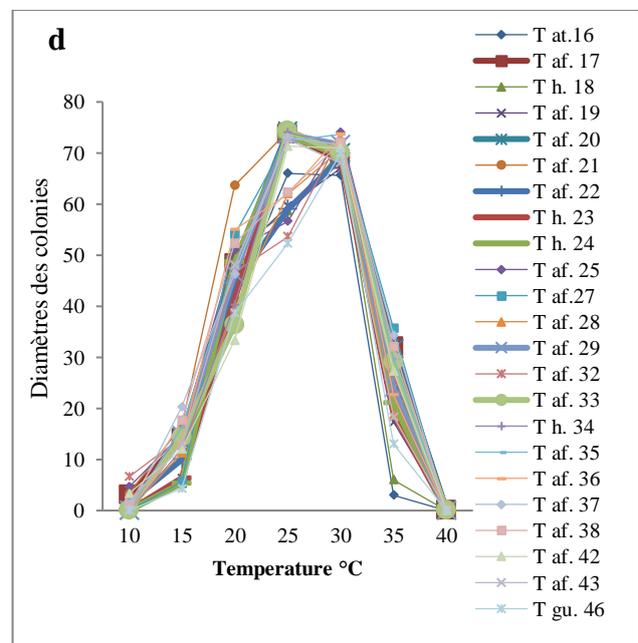
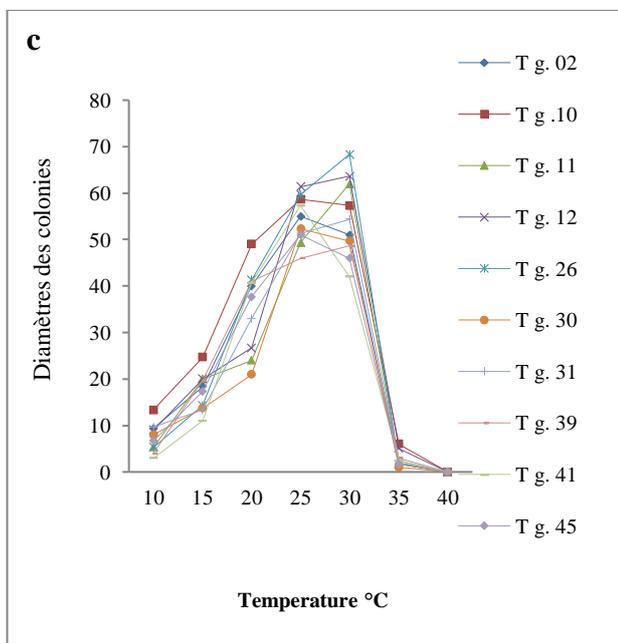
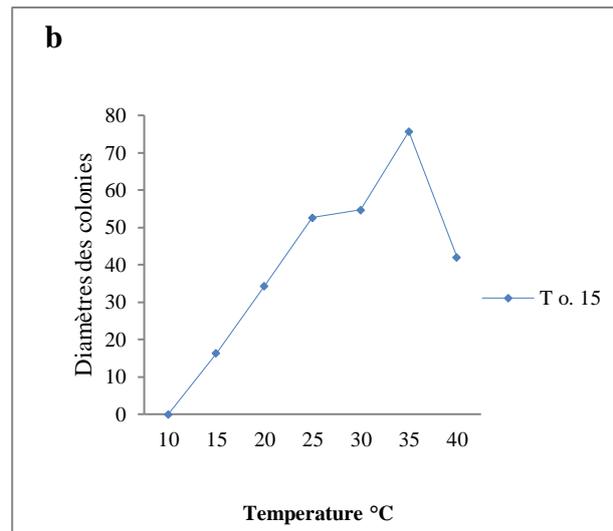
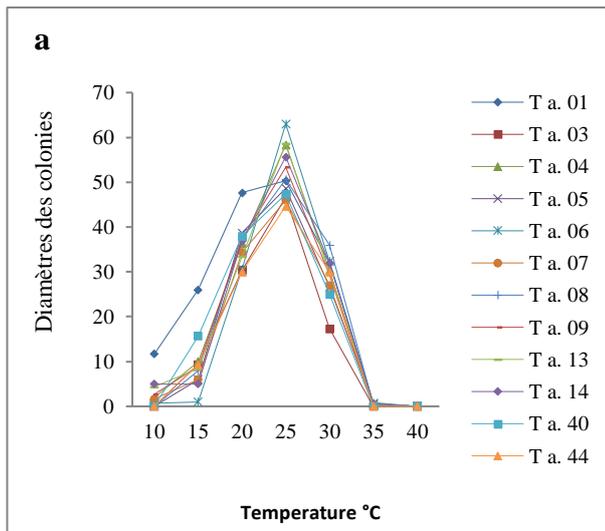


**Figure 29.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 40°C sur milieu PDA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).

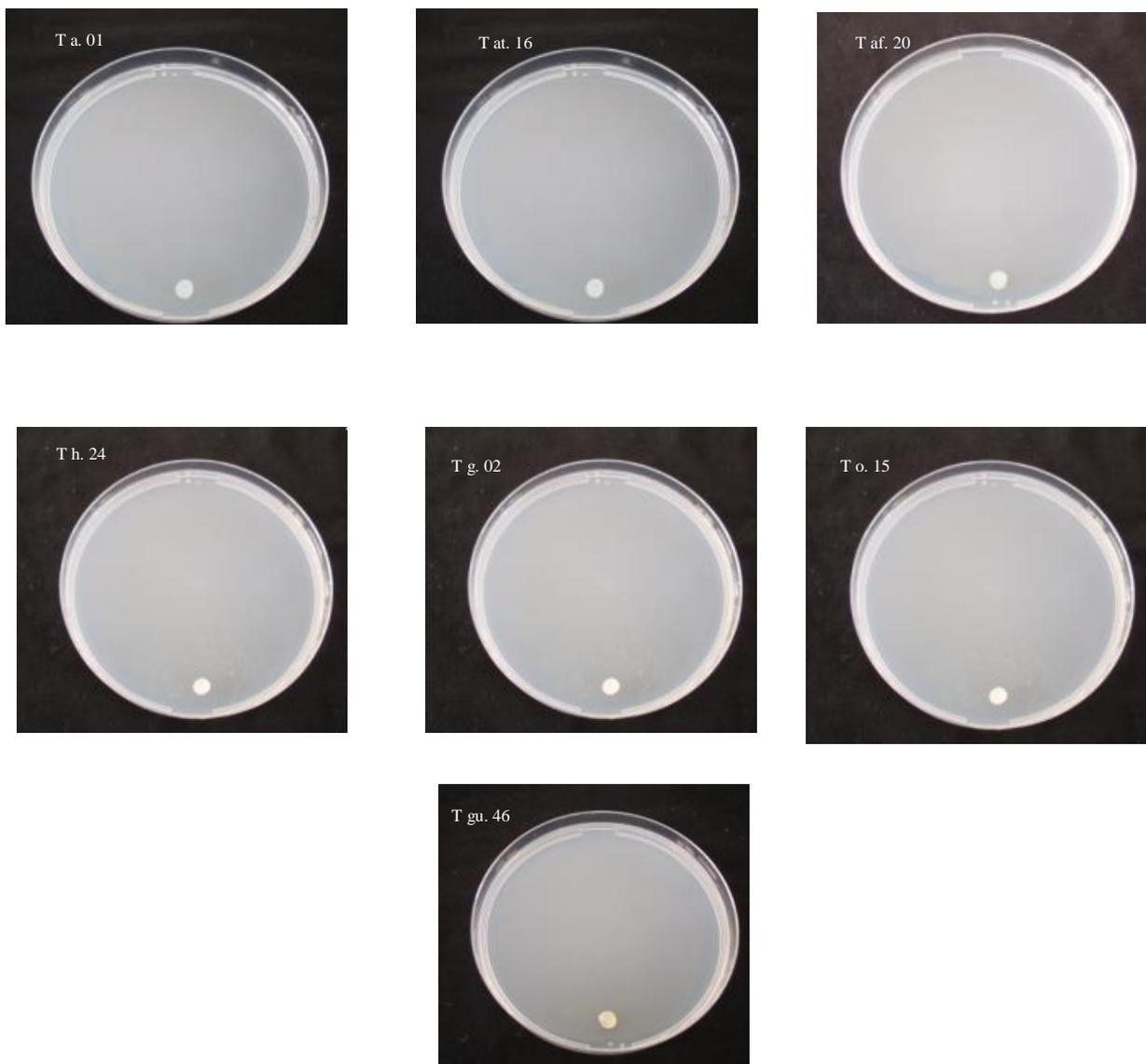
### 1.2.2. Effet de la température sur la croissance des isolats de *Trichoderma* sur milieu SNA

Comparablement à ce qui est observé sur le milieu PDA, le taux de croissance de tous les isolats de *Trichoderma* à différentes températures après 96 h d'incubation à l'obscurité sur le milieu SNA était presque identique au sein d'une même espèce, mais était différent entre les diverses espèces étudiées. Les résultats sont illustrés par les courbes de croissance représentées au niveau de la **figure 30**.

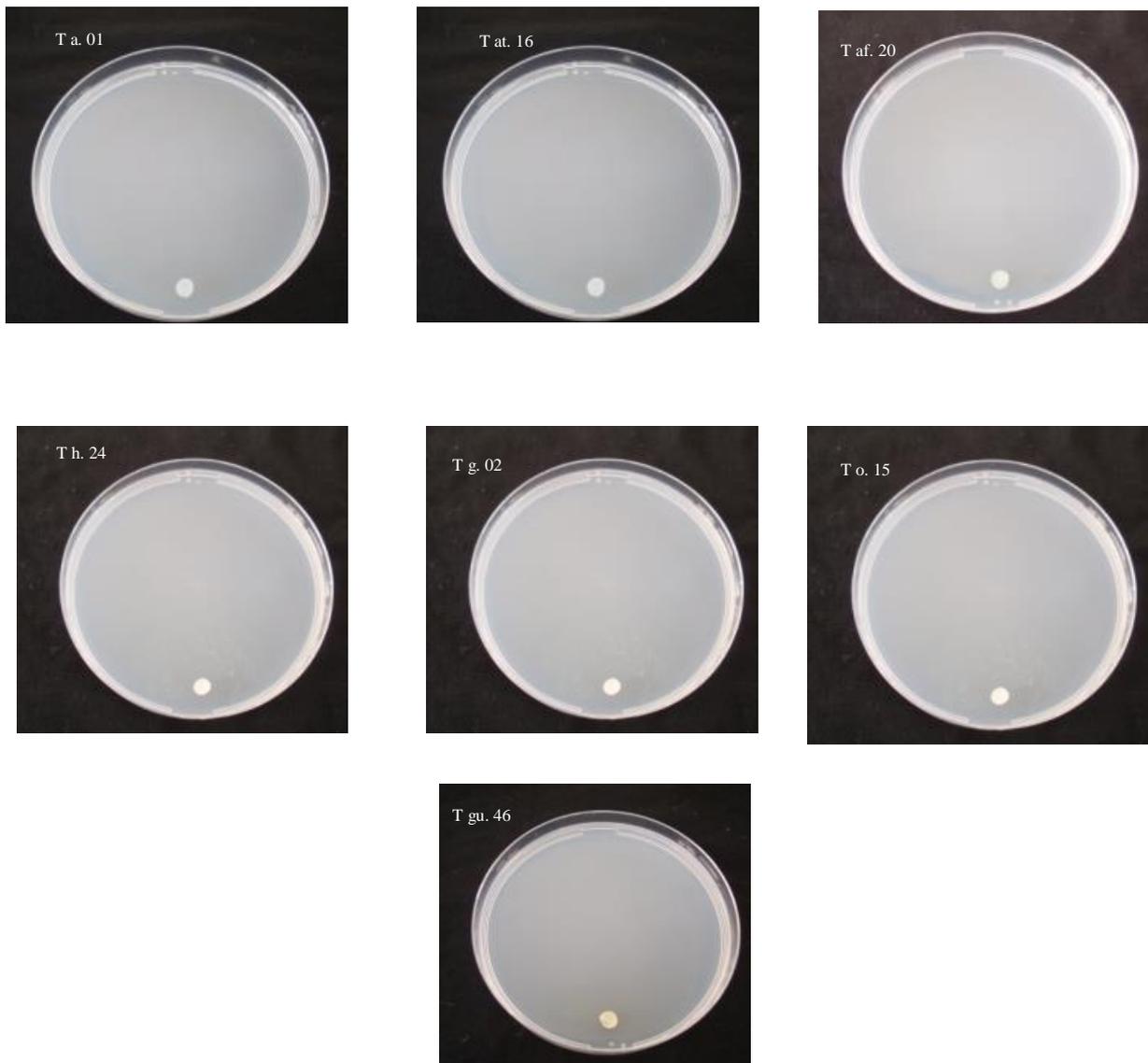
Le taux de croissance des isolats de *Trichoderma* spp. à différentes températures sur le milieu SNA a montré une croissance optimale entre 25 et 30°C pour *T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum*, *T. guizhouense* et *T. gamsii* alors qu'elle était à 25°C pour *T. atroviride* et qu'aucune croissance n'a été observée à 40°C pour ces espèces. Contrairement à *T. orientale*, qui a montré un taux de croissance optimal à 35°C et une excellente croissance à 40°C (**Fig. 31, 32, 33, 34, 35, 36, et 37**).



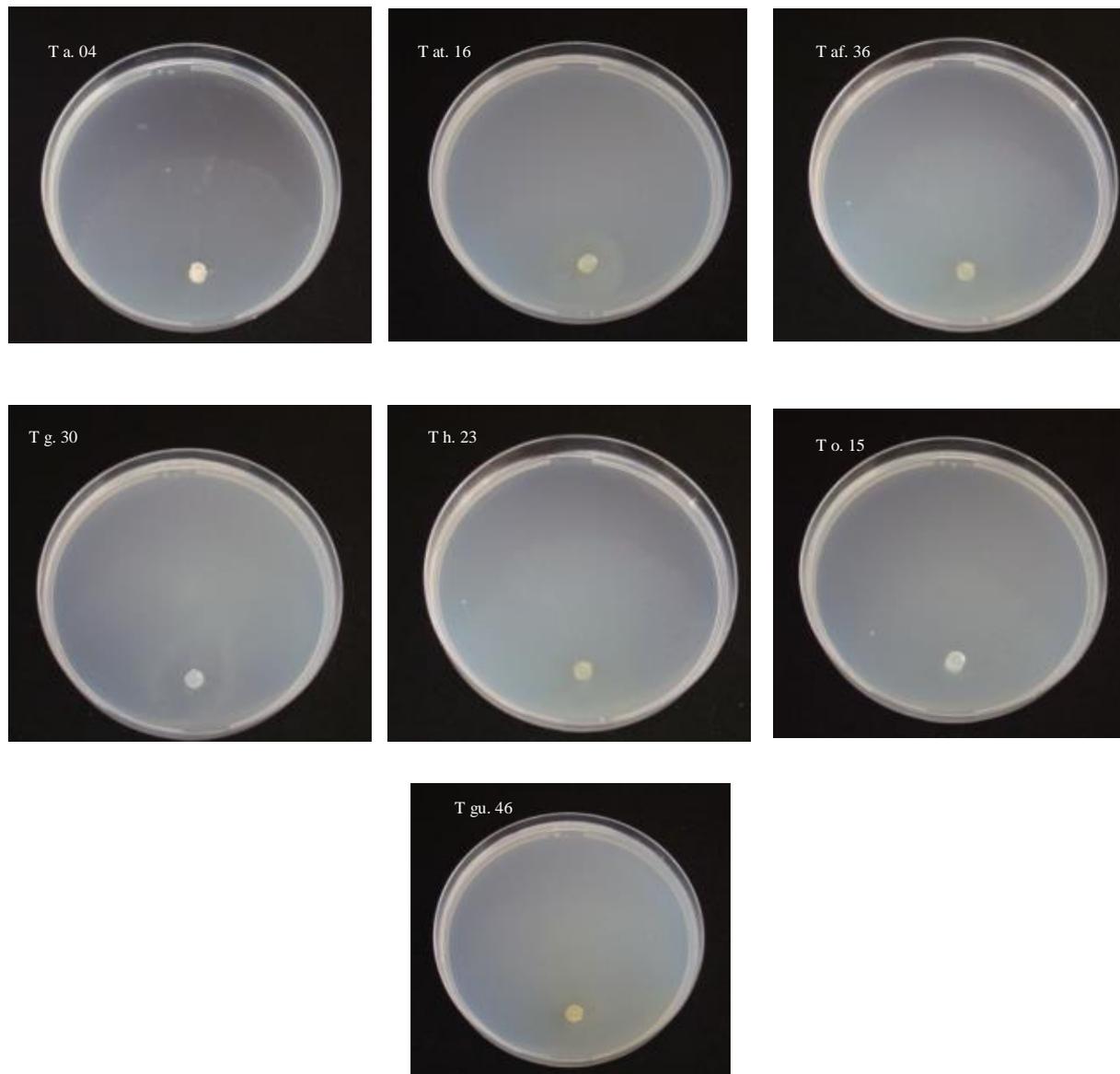
**Figure 30.** Diamètres des colonies de *T. atroviride* (a), *T. orientale* (b), *T. gamsii* (c), *T. harzianum*, *T. afroharzianum*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense* (d) sur milieu SNA après 96 h d'incubation à l'obscurité à 10, 15, 20, 25, 30, 35 et 40°C.



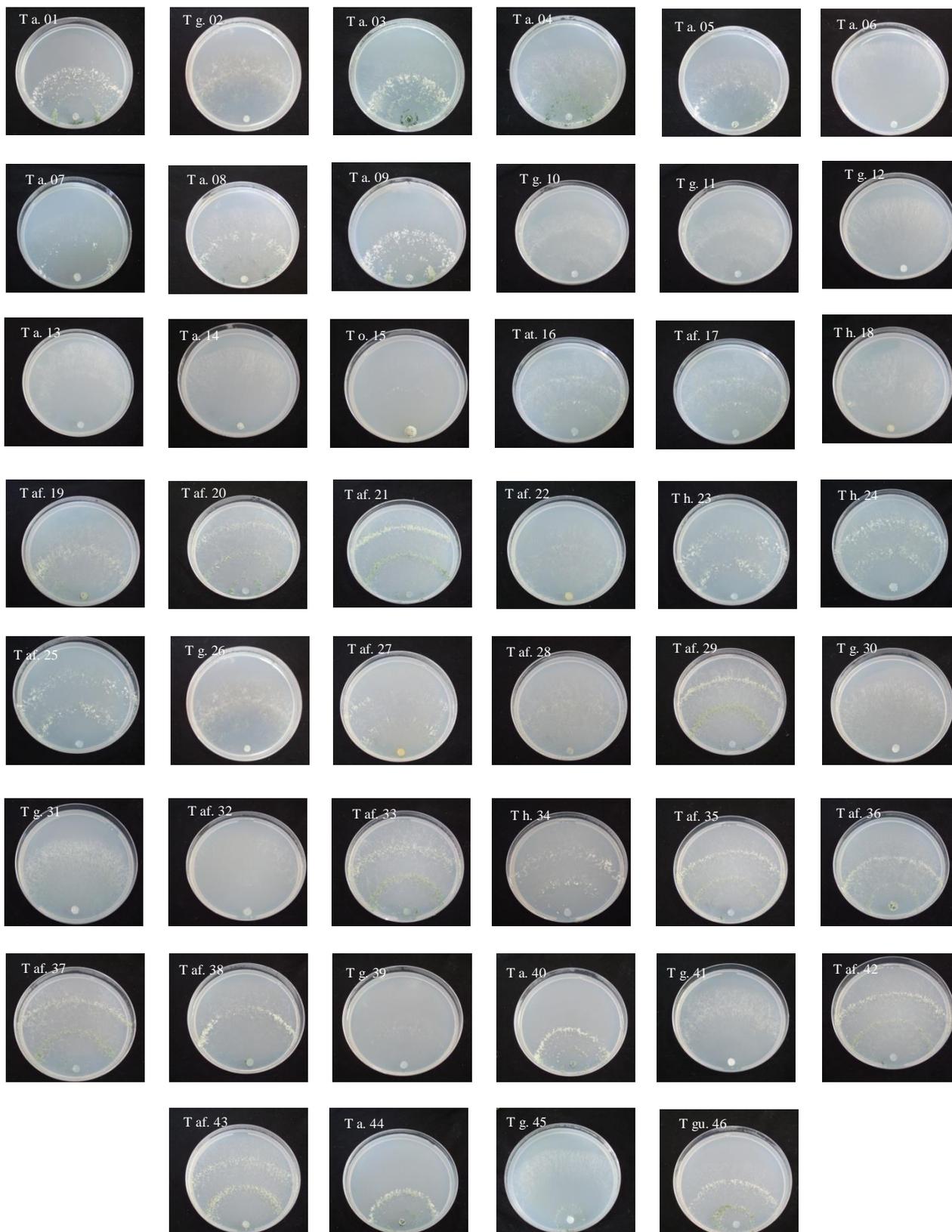
**Figure 31.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 10°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



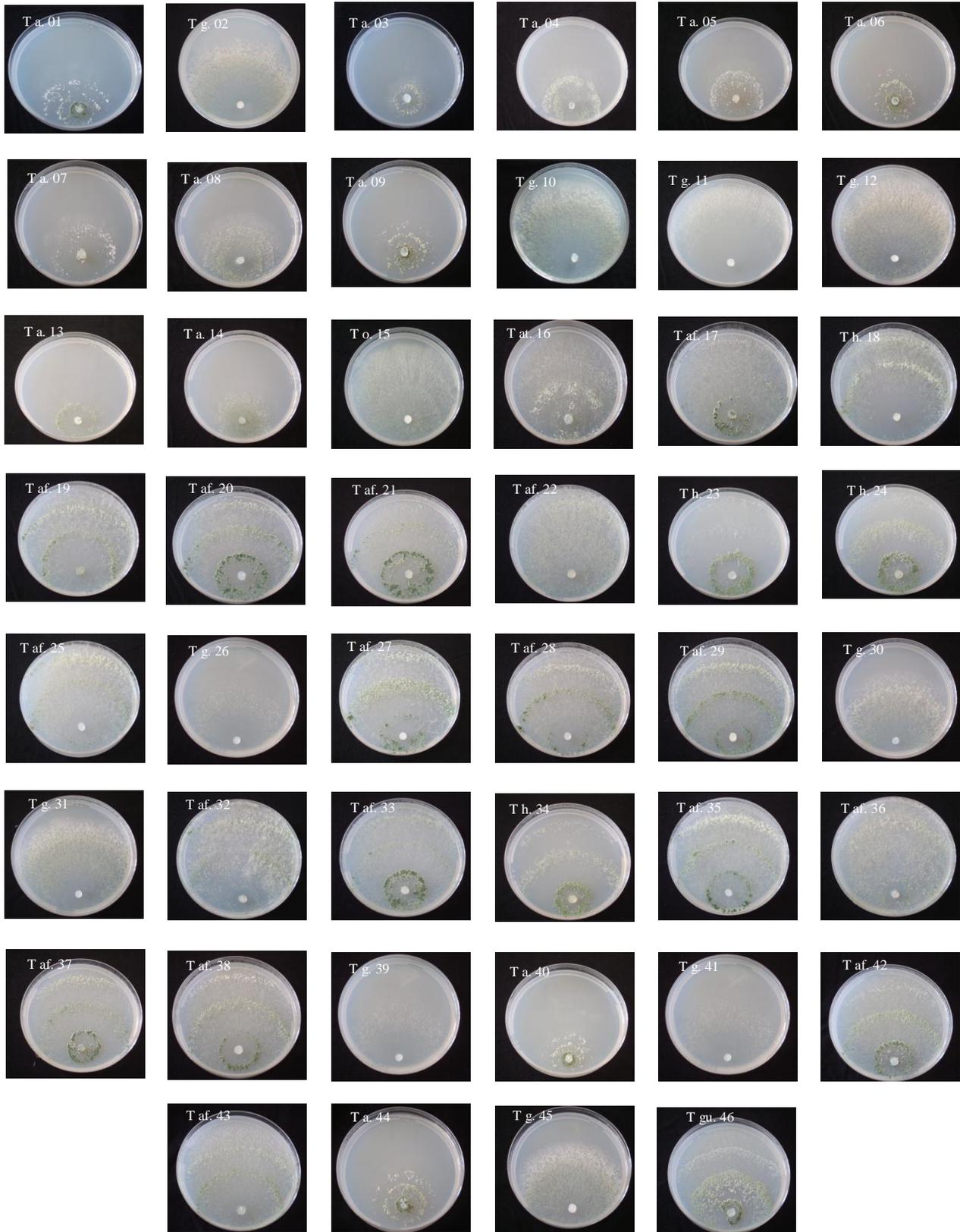
**Figure 32.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 15°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



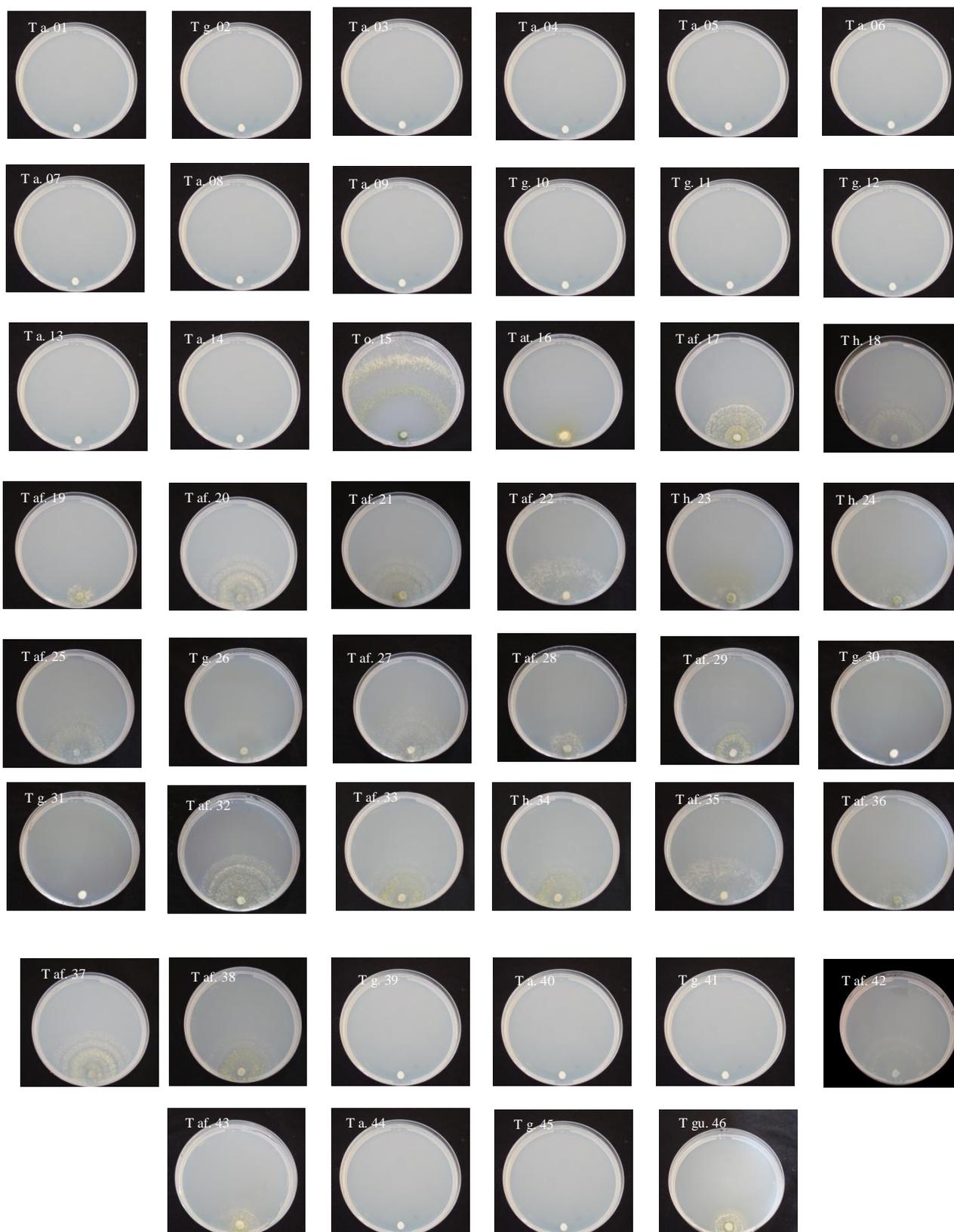
**Figure 33.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 20°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*).



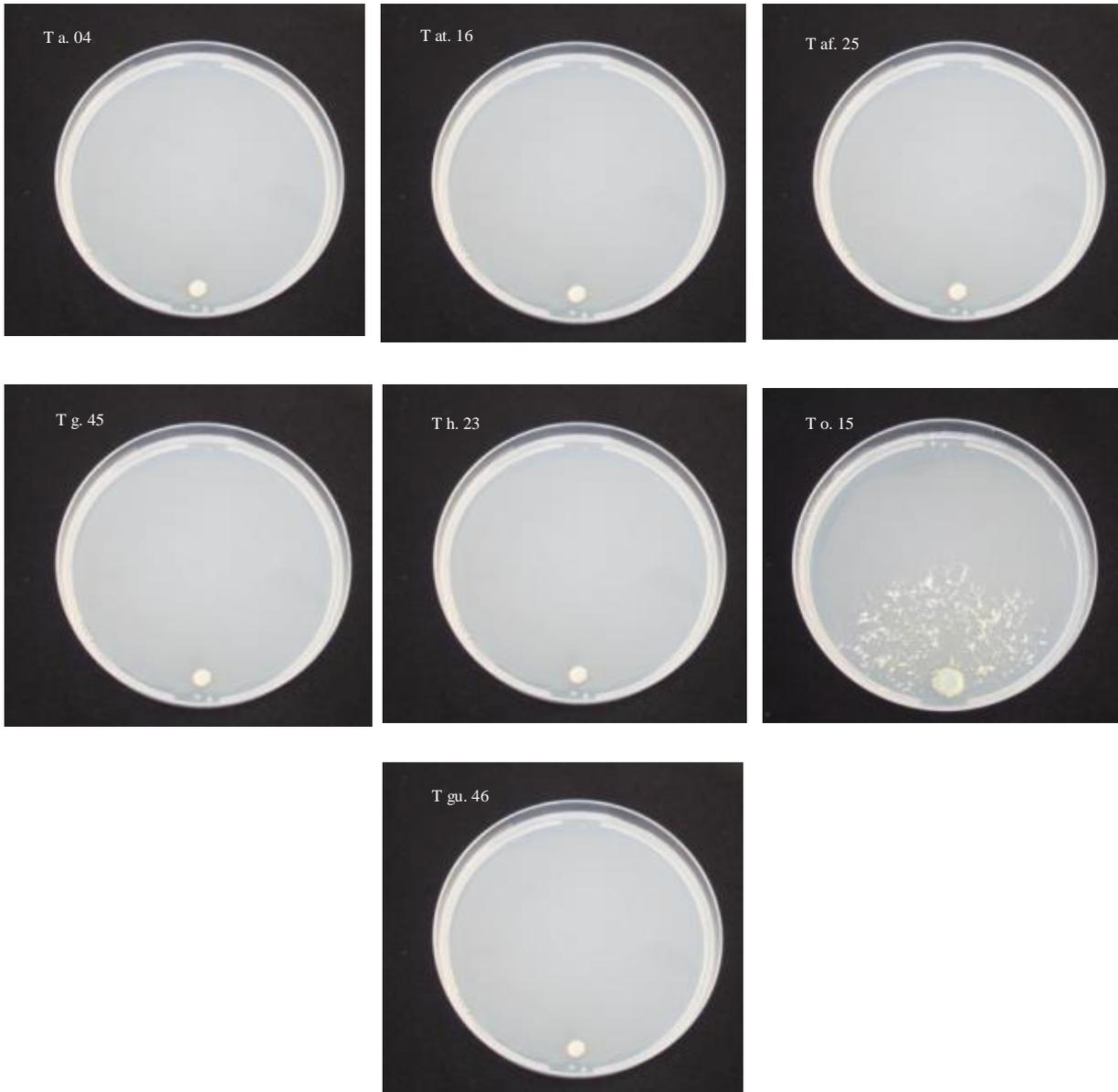
**Figure 34.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 25°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*)



**Figure 35.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 30°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*)



**Figure 36.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 35°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*)



**Figure 37.** Aspect culturale des isolats de *Trichoderma* spp. à 40°C sur milieu SNA après 96 h d'incubation. T a. (*T. atroviride*), T h. (*T. harzianum*), T g. (*T. gamsii*), T o. (*T. orientale*), T af. (*T. afroharzianum*), T at. (*T. atrobrunneum*), T gu. (*T. guizhouense*)

### 1.3. Activité antifongique *in vitro* de *Trichoderma* spp.

L'activité antagoniste *in vitro* des isolats de *Trichoderma* spp. à l'égard des quatre agents phytopathogènes a montré qu'un très grand nombre d'isolats de *Trichoderma* spp. avaient un effet inhibiteur significatif sur la croissance des agents phytopathogènes avec une variation du taux d'inhibition obtenu par la confrontation directe et/ou indirecte.

#### 1.3.1. Confrontation directe

Un faible taux de croissance des agents pathogènes confrontés aux isolats de *Trichoderma* a été enregistré et était significativement différent de celui de leurs témoins non confrontés qui présentaient une croissance supérieure. Par ailleurs, l'analyse statistique a montré que la différence entre les taux de croissance était hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) (Annexe 3).

Le plus haut pourcentage d'inhibition enregistré était de 80,95%, marqué par l'isolat T gu. 46 (*T. guizhouense*) contre *B. cinerea*, suivi de *F. culmorum* (72,55%), inhibé par l'isolat T a. 40 (*T. atroviride*), puis de *R. solani* (69,02%) qui a été enregistré par l'isolat T g. 02 (*T. gamsii*). Le taux d'inhibition le plus faible (65,56%), enregistré chez *A. solani*, a été induit par l'isolat T a. 05 (*T. atroviride*) (**Tableau 4**).

- L'espèce *T. atrobrunneum* est représentée par un seul isolat (T at. 16) qui a conféré un pourcentage d'inhibition de la croissance des quatre pathogènes compris entre 54,44% et 57,65% ; ces deux pourcentages ont été enregistré contre *A. solani* et *F. culmorum* respectivement (**Tableau 4 ; Fig. 38**).

Cette confrontation directe a permis de constater après sept jours d'incubation, une invasion totale des colonies des trois pathogènes, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia solani* par le mycélium de l'isolat T at. 16, tandis que ce dernier n'a pu couvrir que partiellement la colonie de *F. culmorum* qui occupait une surface de 36 mm de diamètre alors que le témoin de celui-ci a présenté un diamètre de 85 mm (**Tableau 4 ; Fig. 38**).

- L'espèce *T. guizhouense* est représentée également par un seul isolat (T gu. 46) celui-ci a montré une inhibition intéressante allant de 43,89% à 80,95 %, ce dernier pourcentage (80,95%) a été enregistré contre *Botrytis cinerea*. Ceci reflète une invasion totale de ce dernier par le mycélium de l'antagoniste (T gu. 46) après sept jours d'incubation, tandis qu'une invasion partielle a été observée pour les trois autres pathogènes (*A. solani*, *F. culmorum* et *R. solani*) par ce même isolat (**Tableau 4 ; Fig. 38**).

- L'espèce *T. orientale* et aussi représentée par un seul isolat (To. 15) ce dernier a montré un pourcentage d'inhibition intéressant qui se situe entre 58,82% et 67,14% ce dernier pourcentage a été marqué contre *B. cinerea*. Une invasion presque totale a été notée chez les quatre agents pathogènes par l'antagoniste où nous avons observé que le mycélium de cet isolat était capable de bien entourer les colonies des pathogènes qui ont occupé des surfaces très réduites avec des diamètres réduits tels que 24,00 mm pour *A. solani*, 23,00 mm pour *B. cinerea*, 35,00 mm pour *F. culmorum* et 31,67 mm pour *R. solani* alors que leur témoin était respectivement de 60,00 mm, 70,00 mm, 85,00 mm et 85,00 mm (**Tableau 4 ; Fig. 38**).

- L'espèce *T. harzianum* est représentée par quatre isolats (T h. 18, T h. 23, T h. 24, T h. 34) ; chacun de ces isolats a provoqué un effet antagoniste avec des pourcentages très proches vis-à-vis de chaque agent pathogène, qui oscillent entre 46,27% et 62,75%. Ce dernier (62,75%) est le pourcentage le plus élevé qui a été enregistré à l'égard de *R. solani* conféré par l'isolat T h. 34. (**Tableau 4 ; Fig. 39**).

Les quatre isolats de *T. harzianum* ont été capables d'envahir complètement les colonies des trois agents pathogènes *A. solani*, *B. cinerea* et *R. solani* et avec un encerclement des colonies qui ont présenté des diamètres très réduits, d'autre part les colonies de *F. culmorum* ont été partiellement couvertes par chacun de ces mêmes quatre isolats présentant des diamètres réduits rangés entre 34 mm et 37,33 mm alors que le témoin avait un diamètre de 85 mm.

- L'espèce *T. atroviride* représentée par 12 isolats (T a. 01, T a. 03, T a. 04, T a. 05, T a. 06, T a. 07, T a. 08, T a. 09, T a. 13, T a. 14, T a. 40, T a. 44) qui ont montré un effet inhibiteur significatif sur la croissance des quatre agents pathogènes avec des pourcentages variant entre 47,22% et 78. 57%. Le dernier pourcentage a été enregistré par l'isolat Ta 44 contre *B. cinerea*. Nous notons également que l'isolat T a. 40 a marqué les meilleurs pourcentages d'inhibition à la fois : 73,81%, 72,55%, 65,10 % et 55% à l'égard des quatre agents pathogènes *B. cinerea*, *F. culmorum*, *R. solani* et *A. solani* respectivement (**Tableau 4 ; Fig. 40**).

La confrontation de 12 isolats de *T. atroviride* avec *B. cinerea* a permis d'observer, au bout de sept jours d'incubation, que chacun de ces isolats avait envahi complètement la colonie de *B. cinerea* (**Tableau 4 ; Fig. 40**).

La confrontation des mêmes isolats de l'espèce *T. atroviride* avec *A. solani* a montré un envahissement totale des colonies du pathogène par les dix isolats (T a. 03, T a. 04, T a. 05, T a. 07, T a. 08, T a. 09, T a. 13, T a. 14, T a. 40, T a. 44), tandis que deux isolats seulement (T a. 01 et T a. 06) n'ont pu envahir les colonies du pathogène mais il ont limité sa croissance. Une réduction des zones occupées par le

pathogène a été clairement remarquée ou ce dernier n'a occupé que des surfaces réduites, correspondant aux diamètres de 22,67 mm et 28,33 mm alors que le diamètre du témoin était de 60 mm (**Tableau 4 ; Fig. 40**).

Les colonies de *F. culmorum* ont été complètement envahies par le mycélium des deux isolats T a. 40, T a. 44, tandis que T a. 09 a montré un recouvrement partielle, contrairement aux isolats T a. 01, T a. 03, T a. 04, T a. 05, T a. 06, T a. 07, T a. 08, T a. 13, et T a. 14 qui ont inhibé la croissance des colonies du pathogène mais sans les recouvrir.

Par ailleurs, les colonies de *R. solani* ont été complètement envahies par le mycélium des isolats T a. 05, T a. 09 et T a. 40 et ont été presque complètement envahies par les isolats T a. 13 et T a. 44, par contre le reste des isolats (T a. 01, T a. 03, T a. 04, T a. 06, T a. 07, T a. 08, T a. 14) ont été capables d'inhiber la croissance sans invasion totale ou partielle même après sept jours d'incubation.

- **L'espèce *T. gamsii*** est représentée par 10 isolats (T g. 02, T g.10, T g. 11, T g.12, T g. 26, T g. 30, T g. 31, T g.39, Tg.41, Tg.45) et pour lesquelles, les pourcentages d'inhibition enregistrés contre les quatre agents pathogènes étaient en grande partie similaires pour les dix isolats à l'égard de chaque agent pathogène. Les résultats obtenus indiquent que le plus bas pourcentage d'inhibition a été de 52,78% marqué par l'isolat T g. 12 contre *A. solani* et le plus haut est de 71,43% marqué par les trois isolats à la fois (T g. 02, T g. 12 et T g. 45) contre le même agent pathogène *B. cinerea* (**Tableau 4 ; Fig. 41**).

La confrontation des 10 isolats de *T. gamsii* avec les isolats de *A. solani* a montré que les colonies de l'agent pathogène ont été complètement envahies par le mycélium des 10 isolats de *Trichoderma* faisant ainsi apparaître des colonies très réduites de l'agent pathogène avec des diamètres compris entre 21,67 mm et 28,33 alors que celui du témoin est de 60 mm (**Tableau 4 ; Fig. 41**).

Un recouvrement total des colonies de *B. cinerea* par le mycélium des mêmes 10 isolats de *T. gamsii* a également été observé avec une réduction importante des diamètres du pathogène qui se situent entre 20,00 mm et 31,67 mm alors que celui du pathogène était de 70,00 mm.

Dans la confrontation de *T. gamsii* avec *F. culmorum*, une importante réduction du diamètre des colonies du pathogène a été enregistrée qui varié entre 30,00 mm et 40,00 mm alors que celui du témoin était de 85,00 mm. Un envahissement total des colonies du pathogène par le mycélium des deux isolats T g. 41 et T g. 45 a été observée, tandis qu'une couverture partielle seulement a été observée par les isolats T g. 02, T g. 11, T g. 26, T g. 30 et T g. 31 ainsi qu'une invasion presque totale

observée chez les deux isolats T g. 12 et T g. 39 ; par contre, l'isolat T g. 10 a seulement réduit la croissance du pathogène sans envahir sa colonie (**Tableau 4 ; Fig. 41**).

Dans la confrontation de *T. gamsii* avec *R. solani*, une invasion totale par 9 isolats (T g. 02, T g. 11, T g. 12, T g. 26, T g. 30, T g. 31, T g. 39, T g. 41, T g. 45) des colonies de l'agent pathogène a été observé, tandis un seul isolat (T g. 10) n'a fait qu'inhiber la croissance de l'agent pathogène mais sans recouvrement totale ou partielle de ses colonies. La réduction des diamètres des colonies du pathogène était importante et qui varié entre 26,33 mm et 39,33 mm alors que le diamètre du témoin était de 85,00 mm. (**Tableau 4 ; Fig. 41**).

- **L'espèce *T. afroharzianum*** est représentée par 17 isolats (T af. 17, T af. 19, T af. 20, T af. 21, T af. 22, T af. 25, T af.27, T af. 28, T af. 29, T af. 32, T af. 33, T af. 35, T af. 36, T af. 37, T af.38, T af. 42 et T af. 43) qui ont révélé un effet inhibiteur significatif sur la croissance des quatre agents pathogènes avec des pourcentages qui varient entre 37, 22% pour l'isolat T af. 27 contre *A. solani* et 73,81% pour l'isolat T af. 17 contre *B. cinerea* (**Tableau 4 ; Fig. 43 et 44**).

Après 7 jours d'incubation des 17 isolats de *T. afroharzianum* contre l'agent pathogène *A. solani*, il a été observé que les colonies de ce dernier ont été complètement envahies par le mycélium de trois isolats (T af. 17, T af. 19, T af. 28), tandis que les isolats (T af. 33, T af. 35, T af. 37, T af. 38, T af. 42 et T af. 43) ont eu un envahissement presque total des colonies de l'agent pathogène. Un recouvrement partiel des colonies du pathogène par les isolats T af. 20, T af. 21, T af. 25, T af. 29, T af. 32, T af. 36 a été observé, d'autre part deux isolats T af. 22 et T af.27 n'ont pas montré d'envahissement mais ils ont assuré une réduction significative des diamètres des colonies du pathogène qui étaient respectivement 33,67 mm et 37,67 mm pour au témoin avec un diamètre de 60,00 mm (**Tableau 4 ; Fig. 43 et 44**).

La confrontation avec *B. cinerea* a ainsi permis de constater que la majorité des isolats (T af. 17, T af. 19, T af. 20, T af. 21, T af. 28, T af. 29, T af. 32, T af. 33, T af. 35, T af. 36, T af. 37, T af. 38, T af. 42 et T af. 43) ont couvert les colonies de l'agent pathogène complètement, contrairement aux trois isolats, T af. 22, T af. 25, T af. 27 qui ne présentaient aucun recouvrement mais ils ont freiné la croissance du pathogène en réduisant les diamètres de ses colonies qui étaient respectivement de : 33,33 mm, 29,33 mm et 33,33 mm alors que celui du témoin était de 70,00 mm. (**Tableau 4 ; Fig. 43 et 44**).

La confrontation de 17 isolats de *T. afroharzianum* avec *F. culmorum* nous a révélé qu'aucun isolat n'a envahi les colonies du pathogène ni totalement ni partiellement, mais nous avons enregistré une

réduction du diamètre des colonies du pathogène qui se situait ainsi entre 33.33mm et 42.00 alors que celui du témoin était de 85.00 mm.

Dans la confrontation de 17 isolats de *T. afroharzianum* avec *R. solani*, il a été observé que 5 isolats (T af. 27, T af. 28 T af. 29, T af. 33 et T af. 35) ont envahi totalement les colonies du pathogène, un envahissement partielle a été observé chez les isolats T af. 17, T af. 22, T af. 25, T af. 32 et T af. 37, tandis qu'un seul isolat (T af. 38) a montré un envahissement presque total de la colonie de l'agent pathogène. Les isolats T af. 19, T af. 20, T af. 21, T af. 36, T af. 42 et T af. 43 ont présenté une absence totale d'invasion des colonies de l'agent pathogène. Le diamètre des colonies du pathogène était compris entre 30,00 mm et 43,00 mm par rapport à celui du témoin qui est de 85,00 mm.

**Tableau 4.** Effet de *Trichoderma* spp. sur la croissance mycélienne des quatre agents pathogènes en confrontation directe

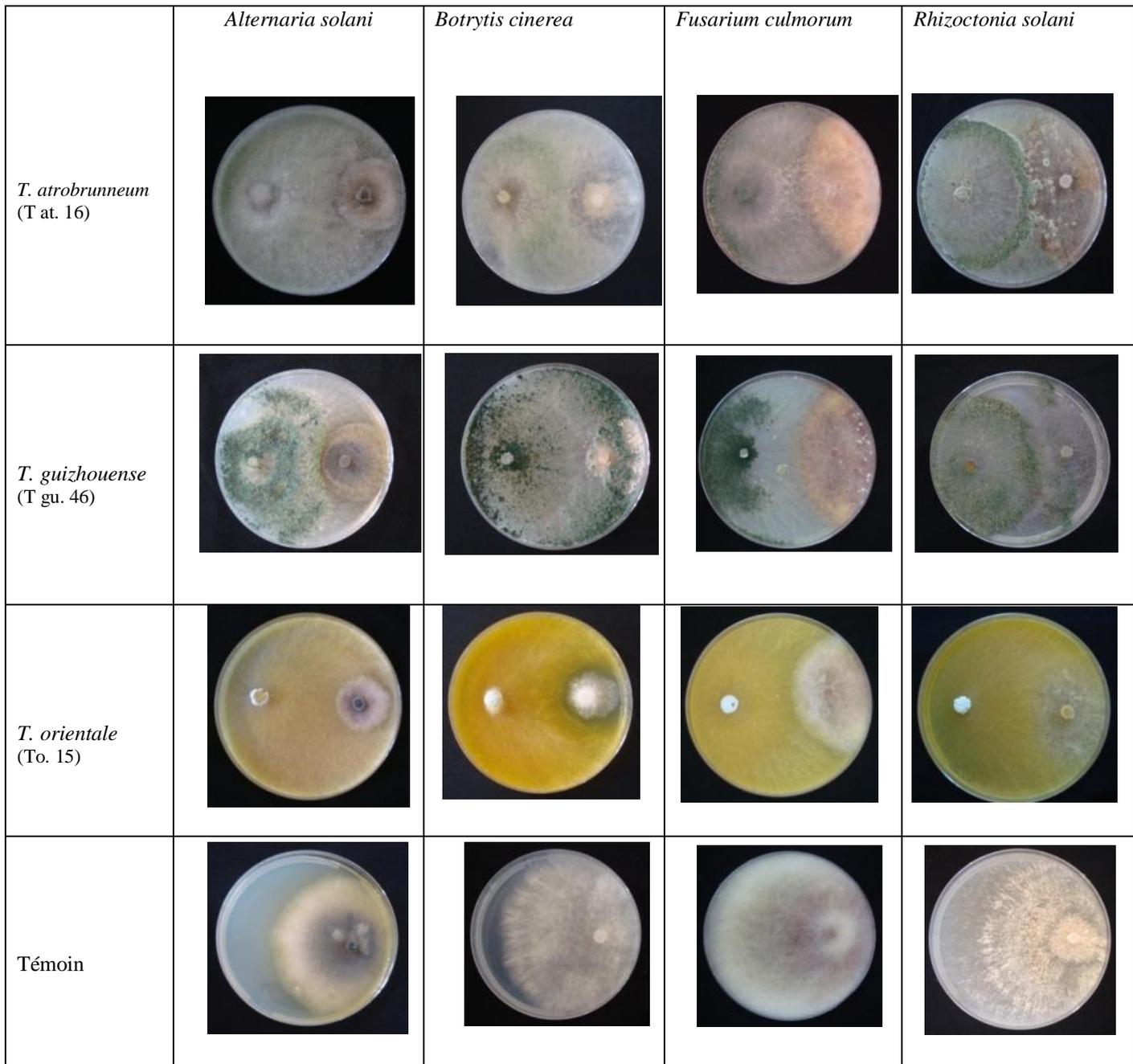
Isolats	<u><i>Alternaria solani</i></u>		<u><i>Botrytis cinerea</i></u>		<u><i>Fusarium culmorum</i></u>		<u><i>Rhizoctonia solani</i></u>	
	Diamètre des colonies (mm)	% de l' inhibition	Diamètre des colonies	% de l' inhibition	Diamètre des colonies (mm)	% de l' inhibition	Diamètre des colonies (mm)	% de l' inhibition
T a. 01	22,67 abcd	62,22	29,67 ghi	57,62	35,00 bcdef	58,82	37,67 defghijk	55,69
T g. 02	27,00 abcdefg	55,00	20,00 abcd	71,43	30,00 b	64,71	26,33 a	69,02
T a. 03	29,33 efgh	51,11	25,67 cdefgh	63,33	35,00 bcdef	58,82	29,00 ab	65,88
T a. 04	25,67 abcdefg	57,22	20,00 abcd	71,43	35,00 bcdef	58,82	31,00 abcd	63,53
T a. 05	20,67 a	65,56	26,67 defghi	61,90	32,00 bcd	62,75	34,00 bcdefg	60,00
T a. 06	28,33 cdefgh	52,78	25,00 cdefgh	64,29	34,66 bcdef	59,22	40,33 ghijklm	52,55
T a. 07	31,67 ghi	47,22	28,33 efghi	59,52	38,33 efgh	54,90	44,67 lm	47,45
T a. 08	23,33 abcde	61,11	26,33 defghi	62,38	31,00 bc	63,53	35,67 bcdefghi	58,04
T a. 09	28,33 cdefgh	52,78	28,33 efghi	59,52	32,66 bcde	61,57	36,33 cdefghij	57,25
T g. 10	26,00 abcdefg	56,67	31,67 hi	54,76	35,00 bcdef	58,82	35,67 bcdefghi	58,04
T g. 11	28,00 bcdefgh	53,33	23,33 cdefg	66,67	40,00 fgh	52,94	39,33 fghijklm	53,73
T g. 12	28,33 cdefgh	52,78	20,00 abcd	71,43	35,00 bcdef	58,82	35,00 bcdefgh	58,82
T a. 13	27,67 bcdefgh	53,89	23,33 cdefg	66,67	35,00 bcdef	58,82	42,33 ijklm	50,20
T a. 14	22,33 abc	62,78	28,33 efghi	59,52	31,00 bc	63,53	44,00 klm	48,24
T o. 15	24,00 abcdef	60,00	23,00 cdefg	67,14	35,00 bcdef	58,82	31,67 abcde	62,75
T at. 16	27,33 bcdefgh	54,44	30,00 ghi	57,14	36,00 cdefg	57,65	38,33 efghijkl	54,90
T af. 17	27,00 abcdefg	55,00	18,33 abc	73,81	35,00 bcdef	58,82	38,00 efghijkl	55,29
T h. 18	30,00 fgh	50,00	28,67 efghi	59,05	37,33 defgh	56,08	45,67 m	46,27
T af. 19	27,00 abcdefg	55,00	21,67 bcde	69,05	35,00 bcdef	58,82	43,00 jklm	49,41
T af. 20	24,67 abcdef	58,89	21,67 bcde	69,05	33,33 bcde	60,78	34,00 bcdefg	60,00
T af. 21	29,00 defgh	51,67	26,00 defghi	62,86	35,00 bcdef	58,82	38,67 fghijkl	54,51
T af. 22	33,67 hi	43,89	33,33 i	52,38	40,00 fgh	52,94	41,00 hijklm	51,76

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey à P = 0,05

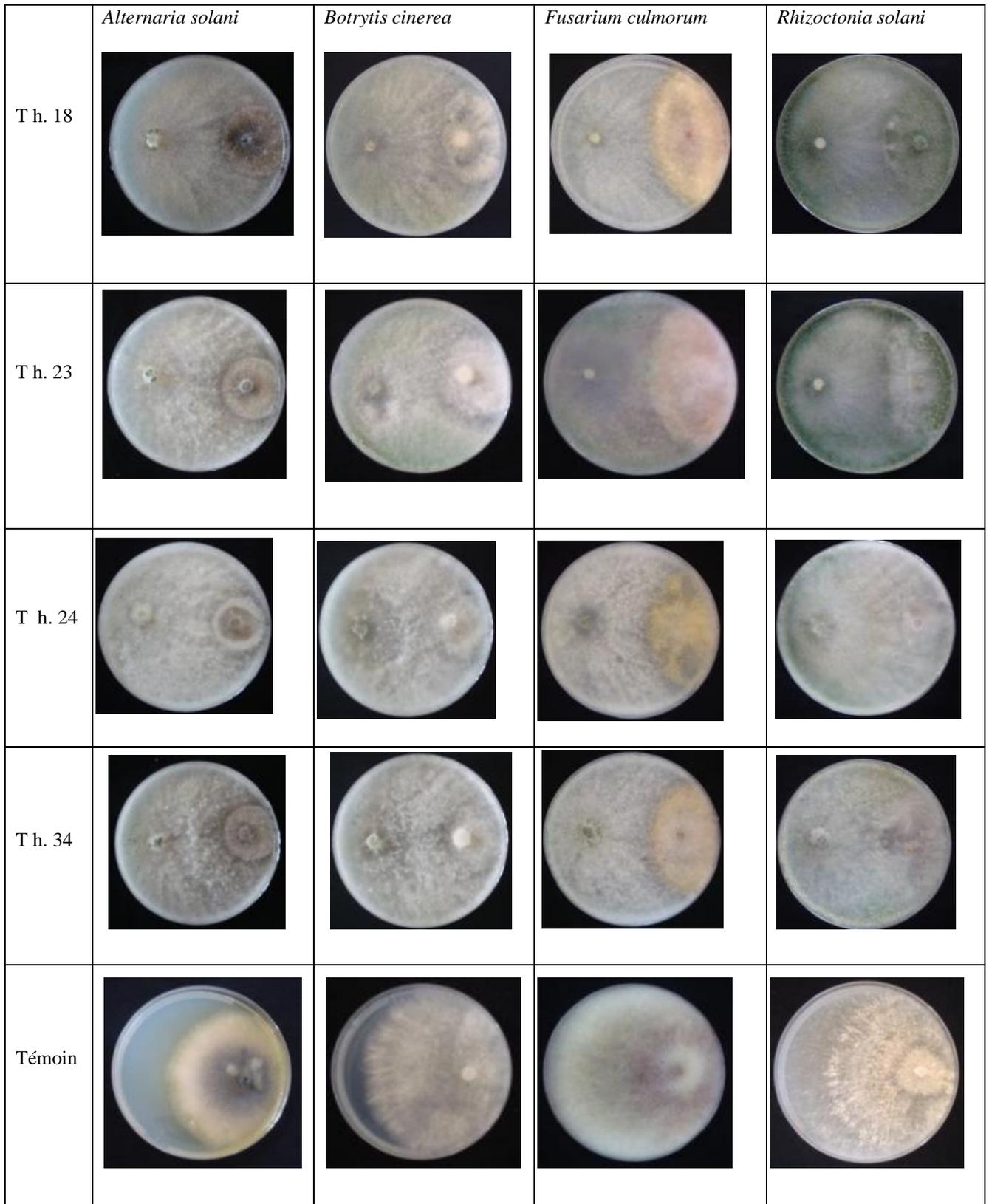
**Tableau 4 (suite)**

T h. 23	28,00 bcdefgh	53,33	29,00 efghi	58,57	35,00 bcdef	58,82	35,00 bcdefgh	58,82
T h. 24	27,00 abcdefg	55,00	28,33 efghi	59,52	34,33 bcdef	59,61	35,00 bcdefgh	58,82
T af. 25	26,33 abcdefg	56,11	29,33 fghi	58,10	42,00 h	50,59	35,00 bcdefgh	58,82
T g.. 26	25,00 abcdef	58,33	30,00 ghi	57,14	35,00 bcdef	58,82	35,00 bcdefgh	58,82
T af. 27	37,67 i	37,22	33,33 i	52,38	41,00 gh	51,76	35,00 bcdefgh	58,82
T af. 28	25,00 abcdef	58,33	28,33 efghi	59,52	33,67 bcde	60,39	35,00 bcdefgh	58,82
T af. 29	23, 00 abcde	61,67	20,00 abcd	71,43	33,67 bcde	60,39	35,00 bcdefgh	58,82
T g. 30	24, 33 abcdef	59,44	28,00 efghi	60,00	35,00 bcdef	58,82	30,00 abc	64,71
T g. 31	23,67 abcdef	60,66	25,00 cdefgh	64,29	35,00 bcdef	58,82	35,00 bcdefgh	58,82
T af. 32	30,00 fgh	50,00	32,33 hi	53,81	40,00 fgh	52,94	41,33 hijklm	51,37
T af. 33	25,00 abcdef	58,33	21,67 bcde	69,05	34,33 bcdef	59,61	30,00 abc	64,71
T h. 34	26,67 abcdefg	55,66	27,00 defghi	61,43	34,66 bcdef	59,22	31,67 abcde	62,75
T af. 35	26,33 abcdefg	51,11	25,00 cdefgh	64,29	38,00 efgh	55,29	35,67 bcdefghi	58,04
T af.36	25,00 abcdef	58,33	25,00 cdefgh	64,29	33,67 bcde	60,39	35,00 bcdefgh	58,82
T af. 37	27,76 bcdefgh	53,89	26,33 defghi	62,38	34,00 bcde	60,00	38,33 efghijkl	54,90
T af. 38	27,00 abcdefg	55,00	23,33 cdefg	66,67	37,66 efgh	55,69	35,00 bcdefgh	58,82
T g. 39	21,67 ab	63,89	25,00 cdefgh	64,29	35,66 bcdefg	58,04	33,33 bcdef	60,78
T a. 40	27,00 abcdefg	55,00	18,33 abc	73,81	23,33 a	72,55	29,67 abc	65,10
T g. 41	25,00 abcdef	58,33	22,67 cdefg	67,62	35,00 bcdef	58,82	31,00 abcd	63,53
T af. 42	27,00 <b>abcdefg</b>	55,00	21,67 bcde	69,05	37,00 defgh	56,47	41,00 hijklm	51,76
T af. 43	28,00 bcdefgh	53,33	22,00 bcdef	68,57	36,66 cdefgh	57,25	31,67 abcde	62,75
T a. 44	25,67 <b>abcdefg</b>	57,22	15,00 ab	78,57	30,66 bc	63,92	30,67 abc	63,92
T g. 45	25,00 abcdef	58,33	20,00 abcd	71,43	35,00 bcdef	58,82	31,67 abcde	62,75
T gu. 46	33,67 hi	43,89	13,33 a	80,95	35,00 bcdef	58,82	33,33 bcdef	60,78
<b>Témoïn</b>	<b>60,00 j</b>	<b>00,00</b>	<b>70,00 j</b>	<b>00,00</b>	<b>85,00 i</b>	<b>00,00</b>	<b>85,00 n</b>	<b>00,00</b>

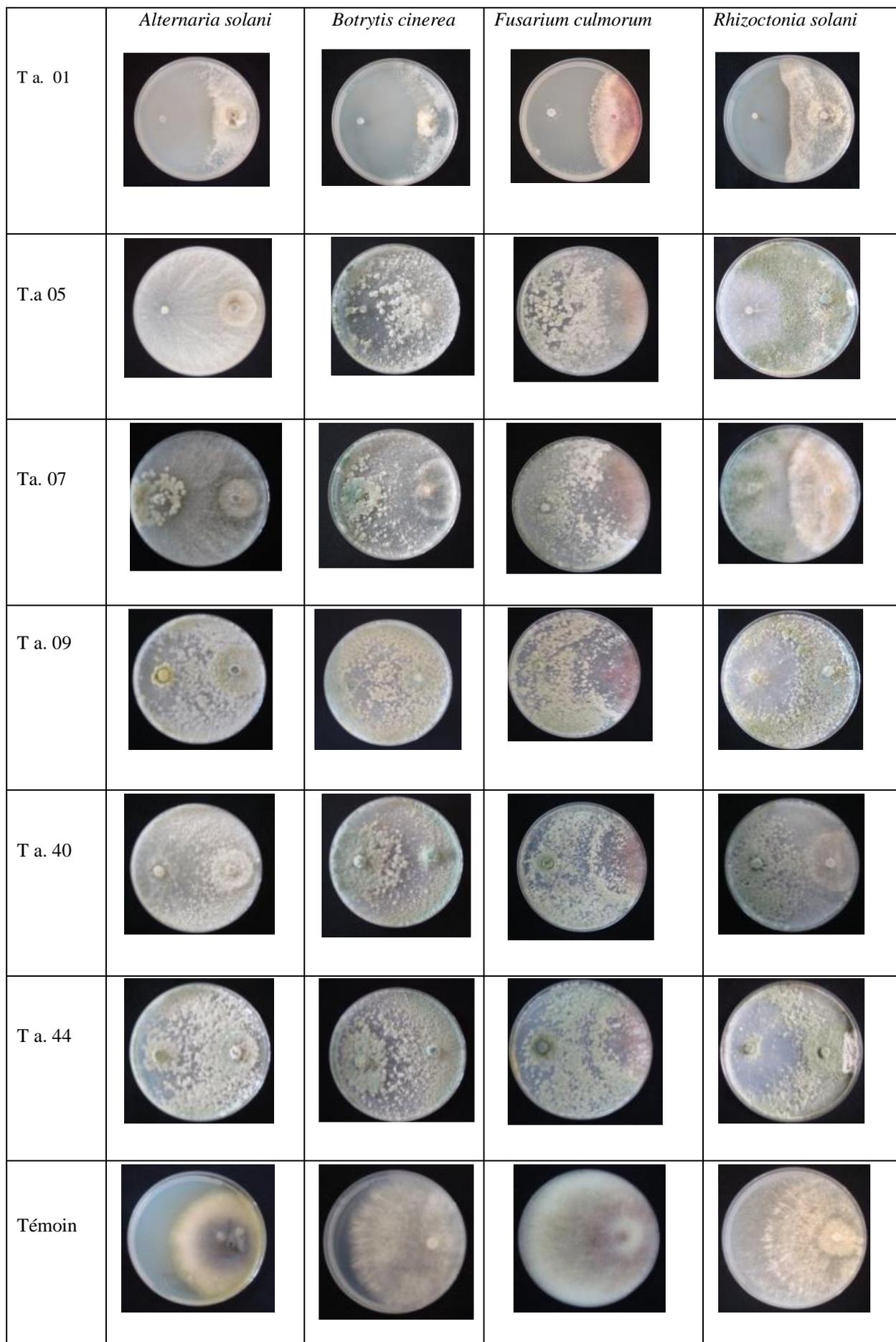
Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey à P = 0,05



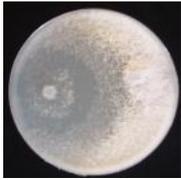
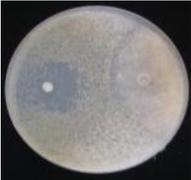
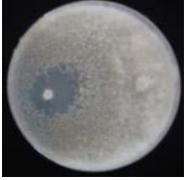
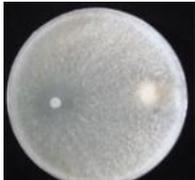
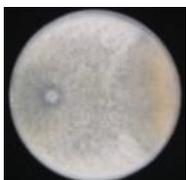
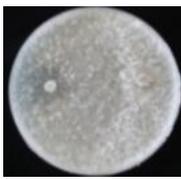
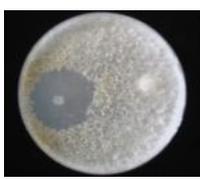
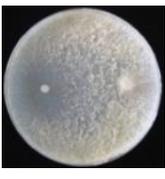
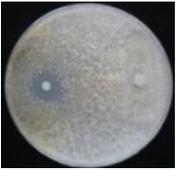
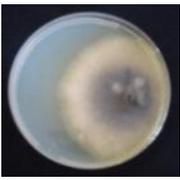
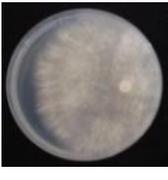
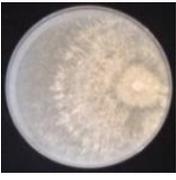
**Figure 38.** Activité antagoniste de *T. atrobrunneum* (T at. 16), *T. guizhouense* (T gu. 46) et *T. orientale* (To. 15) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C (sur la boîte de Petri, l'antagoniste est à gauche et le pathogène est à droite)



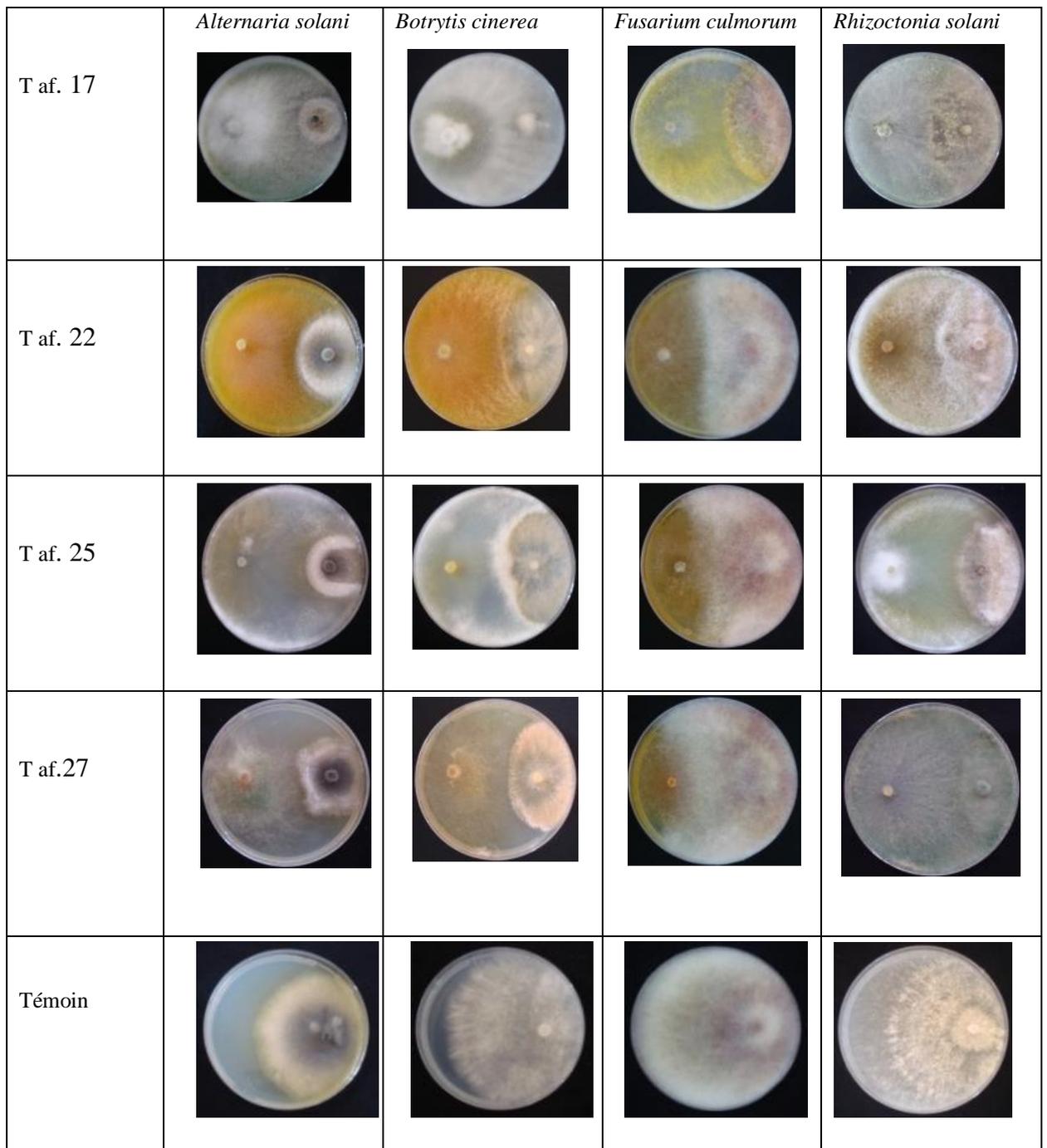
**Figure 39.** Activité antagoniste des isolats de *T. harzianum* (T.h) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C



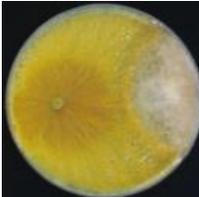
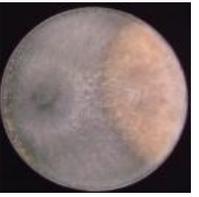
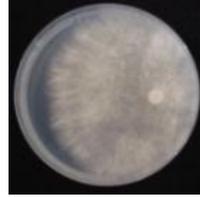
**Figure 40.** Activité antagoniste des isolats de *T. atroviride* (T.a) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C

	<i>Alternaria solani</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
T g. 02				
T g. 12				
T g. 30				
T g. 31				
T g. 39				
T g. 45				
Témoin				

**Figure 41.** Activité antagoniste des'isolats de *T. gamsii* (T. g) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°



**Figure 42.** Activité antagoniste des isolats de *T. afroharzianum* (T. af) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C

	<i>Alternaria solani</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
T af. 29				
T af. 35				
T af. 36				
T af. 37				
Témoin				

**Figure 43.** Activité antagoniste des isolats de *T. afroharzianum* (T. af) en confrontation directe à l'égard des quatre agents pathogènes après 7 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C

### 1.3.2. Confrontation indirecte

Les résultats obtenus lors de la confrontation indirecte (à distance) sur milieu PDA, durant quatre jours d'incubation des 46 isolats de *Trichoderma* avec les isolats des quatre agents pathogènes (*B. cinerea*, *A. solani*, *F. culmorum* et *R. solani*) ont montré que les espèces de *Trichoderma* étaient capables d'inhiber la croissance mycélienne grâce aux substances volatiles qu'elles sécrètent. Ainsi, une réduction significative des diamètres des colonies des différents isolats pathogènes a été enregistrée. Cette inhibition se traduit par des taux de croissance considérablement inférieurs à ceux des témoins non confrontés.

Par ailleurs, l'analyse statistique a montré que la différence du taux de croissance des agents pathogènes par rapport à leurs témoins était hautement significative ( $P \leq 0,01$ ) (Annexe 3). Le plus haut pourcentage d'inhibition enregistré, a été de 88,89 %, conféré par l'isolat T a. 03 (*T. atroviride*) à l'égard de *R. solani*, suivi par *B. cinerea* avec une inhibition de 64,10 %, induite par l'isolat T a. 09 (*T. atroviride*), puis *A. solani* avec un pourcentage d'inhibition de 42,86 % induit par l'isolat T af. 43 (*T. afroharzianum*), tandis que le taux d'inhibition le plus élevé enregistré chez l'espèce *F. culmorum* était de 33,75% conféré par l'isolat T a. 09 (*T. atroviride*) (**Tableau 5**).

- L'espèce *T. atrobrunneum* représentée par l'unique isolat (T at. 16) a conféré un pourcentage d'inhibition de la croissance des quatre agents pathogènes compris entre 06,67 et 31,43 % marqué contre *R. solani* et *A. solani* respectivement (**Tableau 5 ; Fig. 44**).

- L'espèce *T. guizhouense* représentée par l'isolat (T gu. 46) a montré une inhibition non négligeable qui varié entre 13,75% et 35,11% marquée contre *F. culmorum* et *R. solani* respectivement (**Tableau 5 ; Fig. 44**).

- L'espèce *T. orientale* représentée par l'isolat (To. 15) a montré une inhibition qui se situe entre 02,22 et 32,38 ce dernier pourcentage a été enregistré à l'égard de *A. solani* (**Tableau 5 ; Fig. 44**).

- L'espèce *T. harzianum* est représentée par 4 isolats qui ont montré un effet antagoniste avec un pourcentage rangé entre 3,85 enregistré par l'isolat T h. 34 à l'égard de *B. cinerea* et 60,89 enregistré par l'isolat T h. 23 contre *R. solani* (**Tableau 5 ; Fig. 45**).

- L'espèce *T. atroviride* est représentée par 12 isolats et qui ont montré des taux d'inhibition de la croissance des agents pathogènes qui se situent entre 8,97 % enregistré par l'isolat T a. 13 à l'égard de *B. cinerea* et 88,89% enregistré contre *R. solani* par l'isolat T a. 03 (**Tableau 5 ; Fig. 46**).

- L'espèce *T. gamsii*, représentée par 10 isolats qui ont montré un effet inhibiteur de la croissance des quatre agents pathogènes situé entre 02,56% conféré par l'isolat T g. 31 contre *B. cinerea* et 73,33% marqué par l'isolat T g. 30 à l'égard de *R. solani* (**Tableau 5 ; Fig. 47**).

- L'espèce *T. afroharzianum*, avec 17 isolats qui ont montré une inhibition de la croissance des agents pathogènes avec un pourcentage situé entre 00,00% et 53,33% ; le dernier est marqué par l'isolat T af. 20 contre *R. solani*. Le pourcentage nul a été marqué par quatre isolats tels que : T af. 17 contre *R. solani*, T af. 27 et T af. 37 à l'égard de *A. solani* ainsi que *R. solani* et T af. 32 à l'égard de *A. solani* (**Tableau 5 ; Fig. 48 et 49**).

### **1.3.3. Corrélation entre l'effet des isolats de *Trichoderma* spp. en confrontation directe et indirecte**

Les tests *in vitro* ont montré l'activité antagoniste des isolats de *Trichoderma* spp. par leur effet inhibiteur variable sur la croissance des quatre agents phytopathogènes selon les espèces antagonistes et les agents pathogènes. Ainsi, des corrélations positives ont été notées entre l'efficacité des 46 isolats de *Trichoderma* étudiés en confrontation directe et indirecte avec les quatre agents pathogènes. Les corrélations calculées étaient positives mais faibles. Les coefficients de corrélation entre l'inhibition de la croissance en confrontation directe et en confrontation indirecte pour les agents pathogènes *A. solani*, *B. cinerea*, *R. solani*, *F. culmorum* sont  $r = 0,11$ ,  $0,14$ ,  $0,14$ ,  $0,27$ , et à ( $p < 0,05$ ) respectivement (Annexe 4).

**Tableau 5.** Effet de *Trichoderma* spp. sur la croissance mycélienne des quatre agents pathogènes en confrontation indirecte

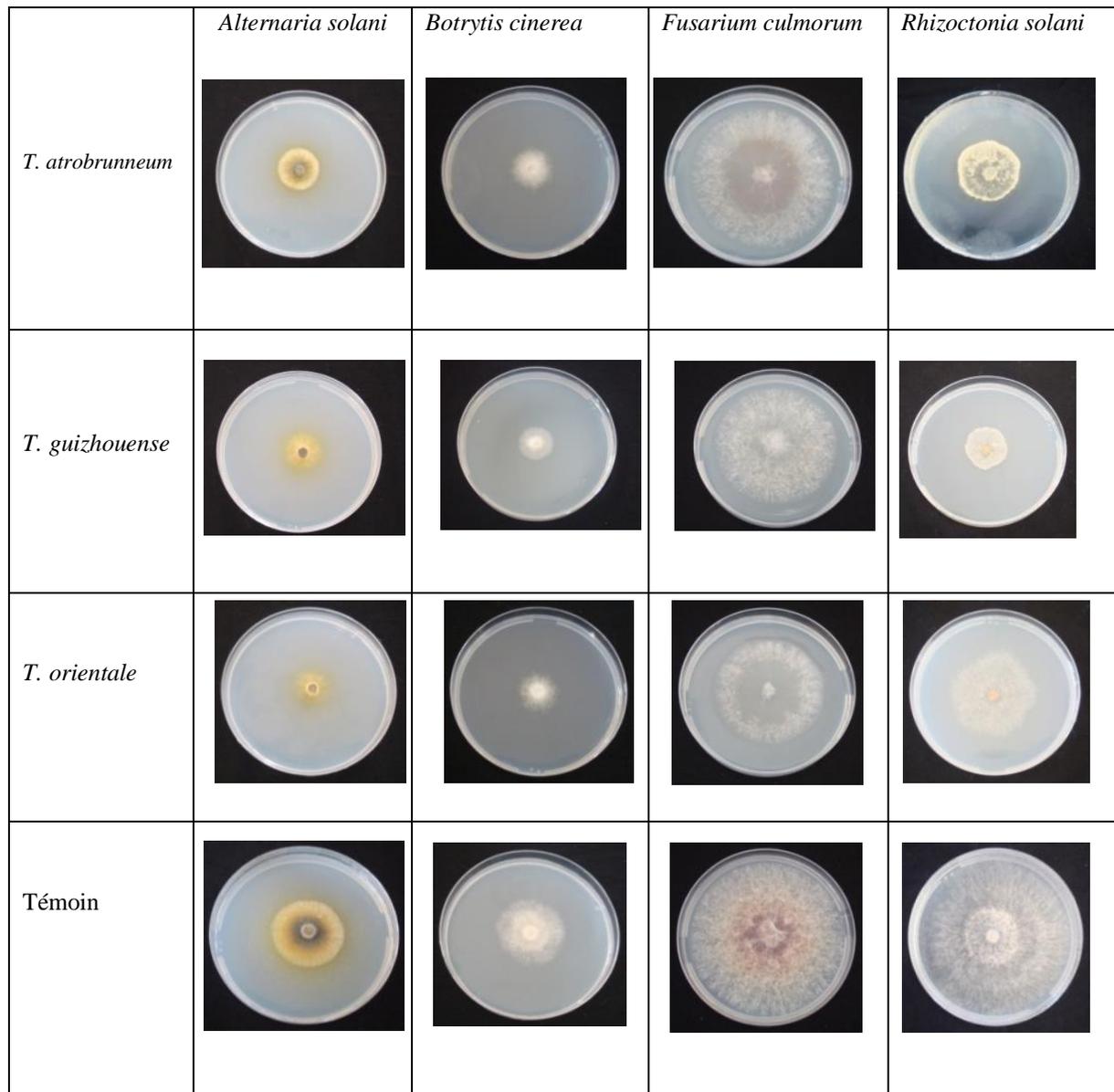
Isolats	<u><i>Alternaria solani</i></u>		<u><i>Botrytis cinerea</i></u>		<u><i>Fusarium culmorum</i></u>		<u><i>Rhizoctonia solani</i></u>	
	Diamètre des colonies (mm)	% de l'inhibition	Diamètre des colonies	% de l'inhibition	Diamètre des colonies (mm)	% de l'inhibition	Diamètre des colonies	% of l'inhibition
T a. 01	23,00 abcde	34,29	11,00 ab	57,69	69,00 efghi	13,75	33,67 abcde	55,11
T g. 02	28,67 cdefghijk	18,10	20,00 cdefghi	23,08	70,67 ghij	11,67	68,67 efgh	08,44
T a. 03	23,33 abcde	33,33	13,00 abc	50,00	57,67 abcd	27,92	8,33 a	88,89
T a. 04	28,67 cdefghijk	18,10	17,00 bcdefg	34,62	59,33 abcde	25,83	20,00 abc	73,33
T a. 05	28,67 cdefghijk	18,10	15,00 abcd	42,31	67,33 defghi l	5,83	27,33 abcd	63,56
T a. 06	25,67 abcdefgh	26,67	15,00 abcd	42,31	68,33 efghi	14,58	30,33 abcd	59,56
T a. 07	29,67 defghijk	15,24	18,33 cdefgh	29,49	67,67 defghi l	5,42	42,67 abcdefgh	43,11
T a. 08	27,00 abcdefghi	22,86	16,67 bcdef	35,90	66,00 cdefghi	17,50	44,67 bcdefgh	40,44
T a. 09	23,33 abcde	33,33	9,33 a	64,10	53,00 a	33,75	26,33 abcd	64,89
T g. 10	22,67 abcd	35,24	22,67 efghi	12,82	63,33 abcdefghi	20,83	67,33 efgh	10,22
T g. 11	23,67 abcdef	32,38	16,00 abcde	38,46	65,67 cdefghi	17,92	44,67 bcdefgh	40,44
T g. 12	25,00 abcdefg	28,57	19,67 cdefghi	24,36	66,33 defghi l	07,08	51,00 cdefgh	32,00
T a. 13	22,67 abcd	35,24	23,67 fghi	8,97	64,67 bcdefghi	19,17	43,00 abcdefgh	42,67
T a. 14	22,33 abc	36,19	19,33 cdefghi	25,64	57,67 abcd	27,92	43,00 abcdefgh	42,67
T o. 15	23,67 abcdef	32,38	22,67 efghi	12,82	62,67 abcdefgh	21,67	73,33 gh	02,22
T at. 16	24,00 abcdef	31,43	24,00 ghi	07,69	71,33 hij	10,83	70,00 fgh	06,67
T af. 17	26,33 abcdefghi	24,76	25,00 hi	03,85	55,00 ab	31,25	75,00 h	00,00
T h. 18	27,33 bcdefghij	21,90	23,00 efghi	11,54	71,00 ghij	11,25	56,33 defgh	24,89
T af. 19	26,00 abcdefghi	25,71	20,00 cdefghi	23,08	68,67 efghi	14,17	56,00 cdefgh	25,33
T af. 20	22,33 abc	36,19	25,00 hi	03,85	60,67 abcdefg	24,17	35,00 abcdef	53,33
T af. 21	25,67 abcdefgh	26,67	22,00 defghi l	05,38	65,00 bcdefghi	18,75	58,33 defgh	22,22
T af. 22	30,00 efghijk	14,29	22,67 efghi	12,82	69,33 efghi	13,33	38,33 abcdefg	48,89

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey à P = 0,05

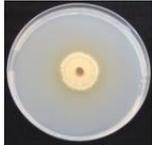
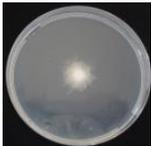
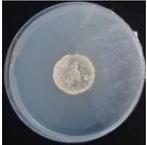
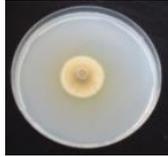
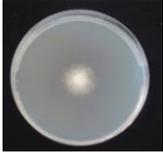
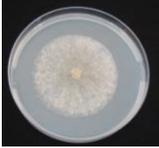
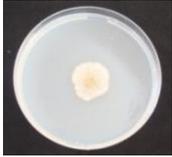
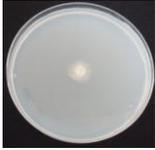
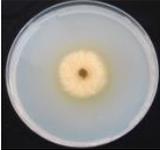
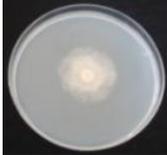
**Tableau 5. (suite)**

T h. 23	25,00 abcdefg	28,57	17,33 bcdefg	33,33	67,67 defghi l	5,42	29,33 abcd	60,89
T h. 24	25,00 abcdefg	28,57	22,67 efghi	12,82	68,33 efghi	14,58	45,67 bcdefgh	39,11
T af. 25	25,00 abcdefg	28,57	20,33 defghi	21,79	69,67 efghij	12,92	40,00 abcdefgh	46,67
T g. 26	26,33 abcdefghi	24,76	21,67 defghi l	06,67	73,33 ij	08,33	44,00 abcdefgh	41,33
T af. 27	35,00 k	00,00	22,67 efghi	12,82	73,67 ij	07,92	75,00 h	00,00
T af. 28	35,00 k	00,00	25,00 hi	3,85	61,67 abcdefgh	22,92	50,67 cdefgh	32,44
T af. 29	32,67 hijk	06,67	16,67 bcdef	35,90	66,67 defghi l	06,67	46,00 bcdefgh	38,67
T g. 30	32,33 hijk	07,62	25,00 hi	03,83	68,00 defghi l	05,00	20,00 abc	73,33
T g. 31	28,67 cdefghijk	18,10	25,33 hi	02,56	69,33 efghi	13,33	54,00 cdefgh	28,00
T af. 32	35,00 k	00,00	22,67 efghi	12,82	68,33 efghi	14,58	71,33 gh	04,89
T af. 33	30,00 efghijk	14,29	22,00 defghi l	05,38	68,00 defghi l	05,00	42,67 abcdefgh	43,11
T h. 34	33,00 ijk	5,71	25,00 hi	03,85	73,33 ij	08,33	59,33 defgh	20,89
Taf. 35	30,00 efghijk	14,29	25,00 hi	03,85	69,00 efghi	13,75	53,33 cdefgh	28,89
T af. 36	32,00 ghijk	08,57	25,00 hi	03,85	70,00 fghij	12,50	70,00 fgh	06,67
T af. 37	35,00 k	00,00	23,33 fghi	10,26	59,67 abcdef	25,42	75,00 h	00,00
T af. 38	34,33jk	01,90	23,33 fghi	10,26	66,67 defghi l	06,67	54,00 cdefgh	28,00
T g. 39	30,67 fghijk	12,38	25,00 hi	03,85	55,67 abc	30,42	71,67 gh	04,44
T a. 40	26,00 abcdefghi	25,71	10,67 ab	58,97	60,67 abcdefg	24,17	29,67 abcd	60,44
T g. 41	20,33 ab	41,90	19,00 cdefghi	26,92	62,33 abcdefgh	22,08	42,00 abcdefgh	44,00
T af. 42	21,67 abc	38,10	22,67 efghi	12,82	65,00 bcdefghi	18,75	45,00 bcdefgh	40,00
T af. 43	20,00 a	42,86	21,67 defghi l	06,67	66,33 defghi l	07,08	47,33 bcdefgh	36,89
T a. 44	23,67 abcdef	32,38	11,00 ab	57,69	64,67 bcdefghi	19,17	14,00 ab	81,33
T g. 45	25,00 abcdefg	28,57	16,67 bcdef	35,90	67,00 defghi l	06,25	55,00 cdefgh	26,67
T gu. 46	23,33 abcde	33,33	20,33 defghi	21,79	69,00 efghi	13,75	48,67 bcdefgh	35,11
<b>Témoïn</b>	<b>35,00 k</b>	<b>00,00</b>	<b>26,00 i</b>	<b>00,00</b>	<b>80,00 j</b>	<b>00,00</b>	<b>75,00 h</b>	<b>00,00</b>

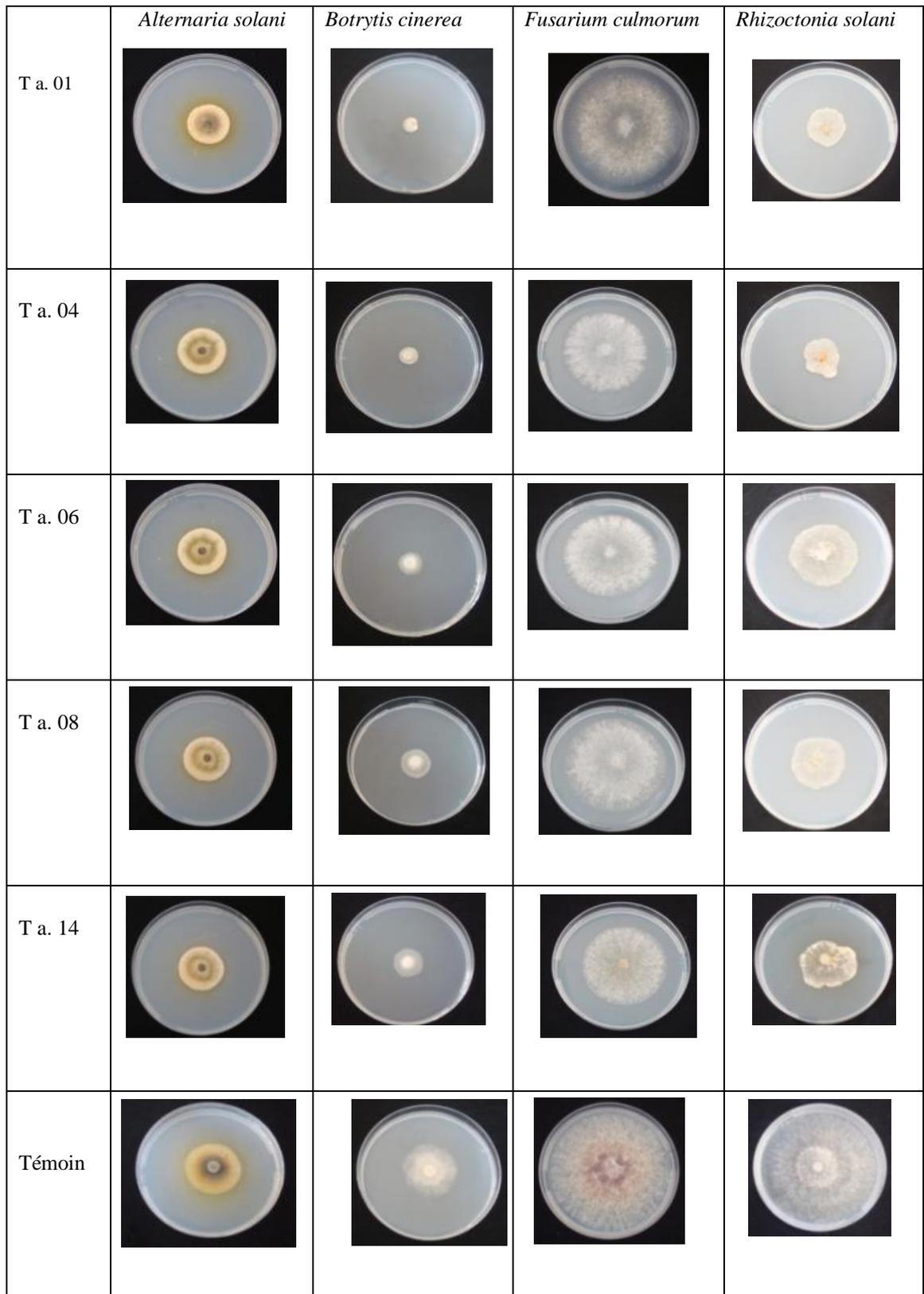
Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test HSD de Tukey à P = 0,05



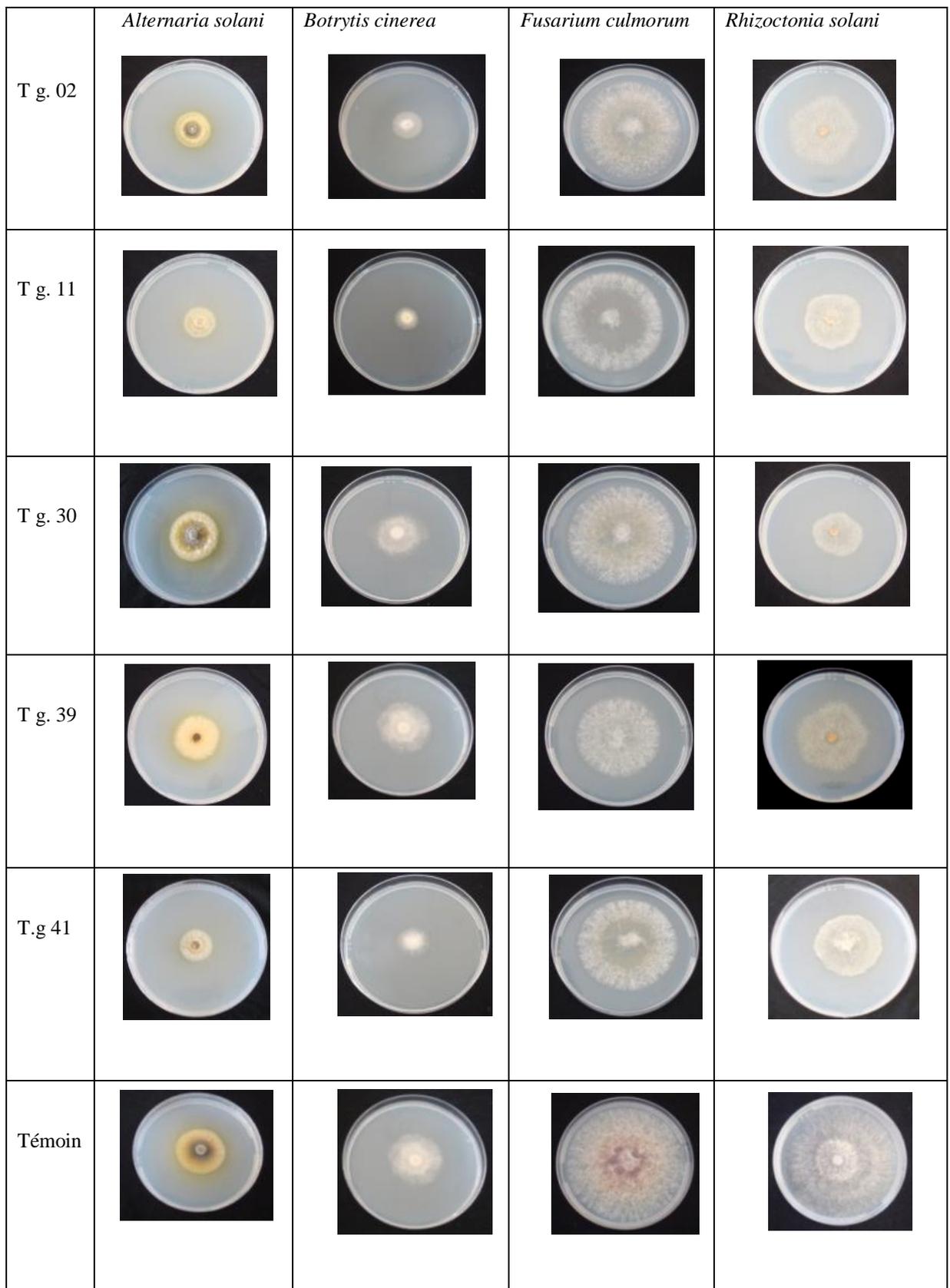
**Figure 44.** Activité antagoniste de *T. atrobrunneum* (T at. 16), *T. guizhouense* (T gu. 46) et *T. orientale* (To. 15) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes, après 4 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C (Diamètre de la colonie de chaque agent pathogène après confrontation).

	<i>Alternaria solani</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
T h. 18				
T h. 23				
T h. 24				
T h. 34				
Témoin				

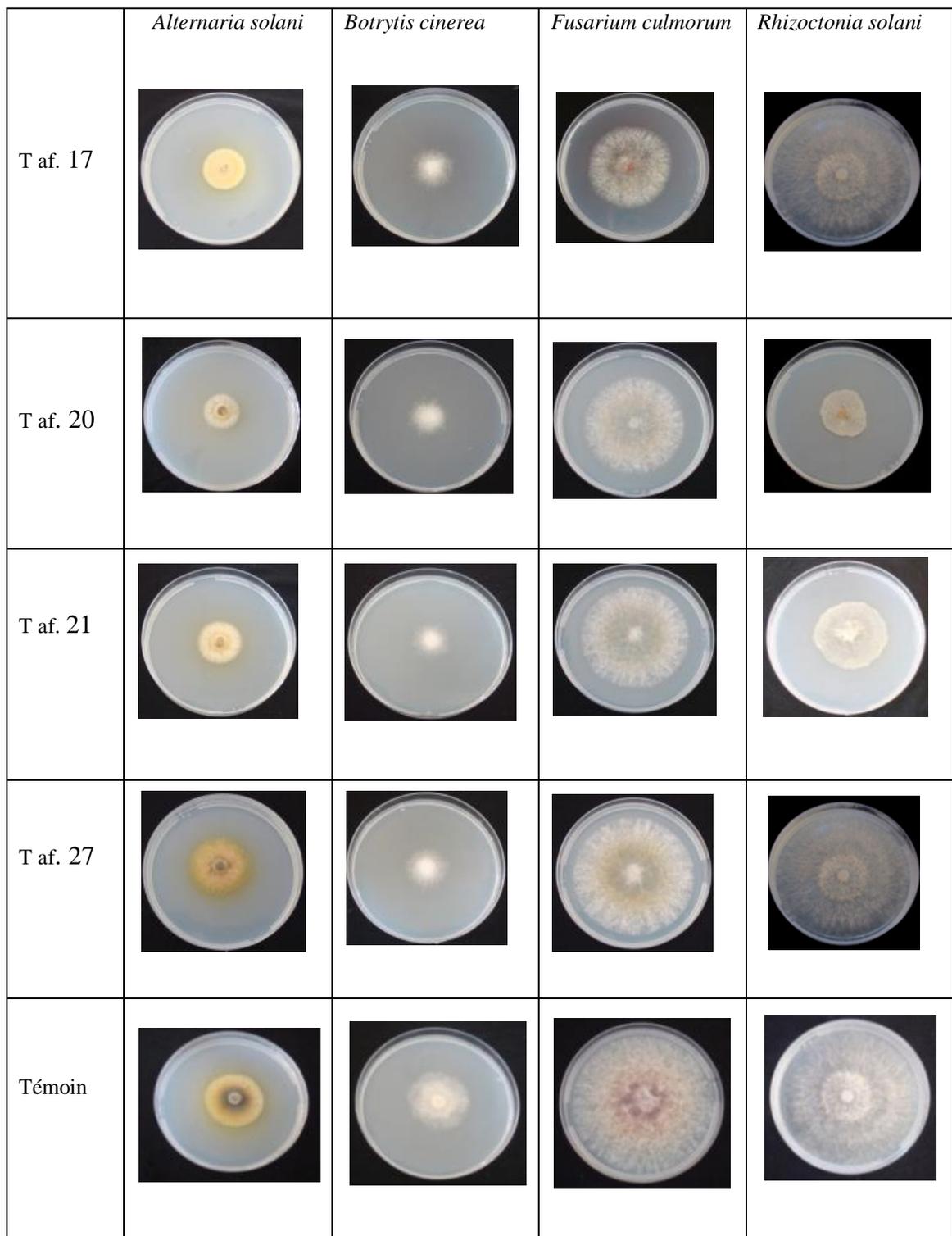
**Figure 45.** Activité antagoniste des isolats de *T. harzianum* (T. h) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes, après 4 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C (Diamètre de la colonie de chaque agent pathogène après confrontation).



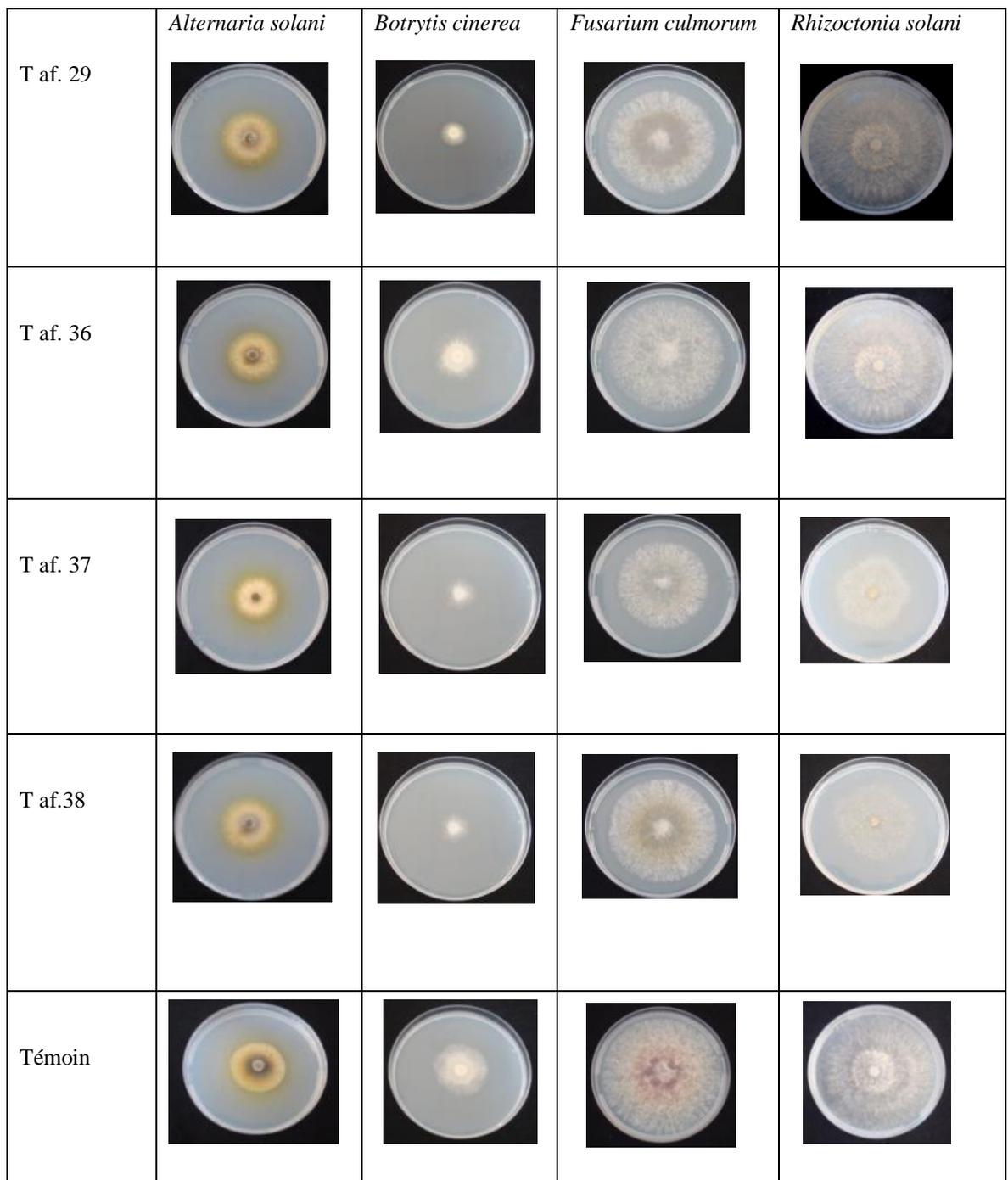
**Figure 46.** Activité antagoniste des isolats de *T. atroviride* (T. a) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes, après 4 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C



**Figure 47.** Activité antagoniste des isolats de *Trichoderma gamsii* (T. g) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes, après 4 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C.



**Figure 48.** Activité antagoniste des isolats de *T. afroharzianum* (T. af) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes, après 4 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C.



**Figure 49.** Activité antagoniste des isolats de *Trichoderma afroharzianum* (T. af) en confrontation indirecte à l'égard des quatre agents pathogènes, après 4 jours d'incubation sur milieu PDA à 25°C.

#### **1.4. Essai de protection (*in planta*) des plants de blé à l'égard de la pourriture du collet causée par *F. culmorum* par l'utilisation de quelques isolats de *Trichoderma* spp.**

Dans une première étape le test de germination des grains de blé dur (Vitron) réalisé au laboratoire a montré que le taux de germination était de 100%.

Pour évaluer l'efficacité des isolats de *Trichoderma* spp. à l'égard de *F. culmorum*, l'agent responsable de la pourriture du collet du blé, un suivi quotidien a été effectué jusqu'au 40<sup>ème</sup> jours après la plantation. Les plants de blé (Vitron) ont été arrachés et l'efficacité "*in vivo*" des cinq isolats T a. 09 (*T. atroviride*), T o. 15 (*T. orientale*), T af. 17 ; T af. 37 (*T. afroharzianum*) et T g. 39 (*T. gamsii*) sur l'indice de la maladie a été évaluée.

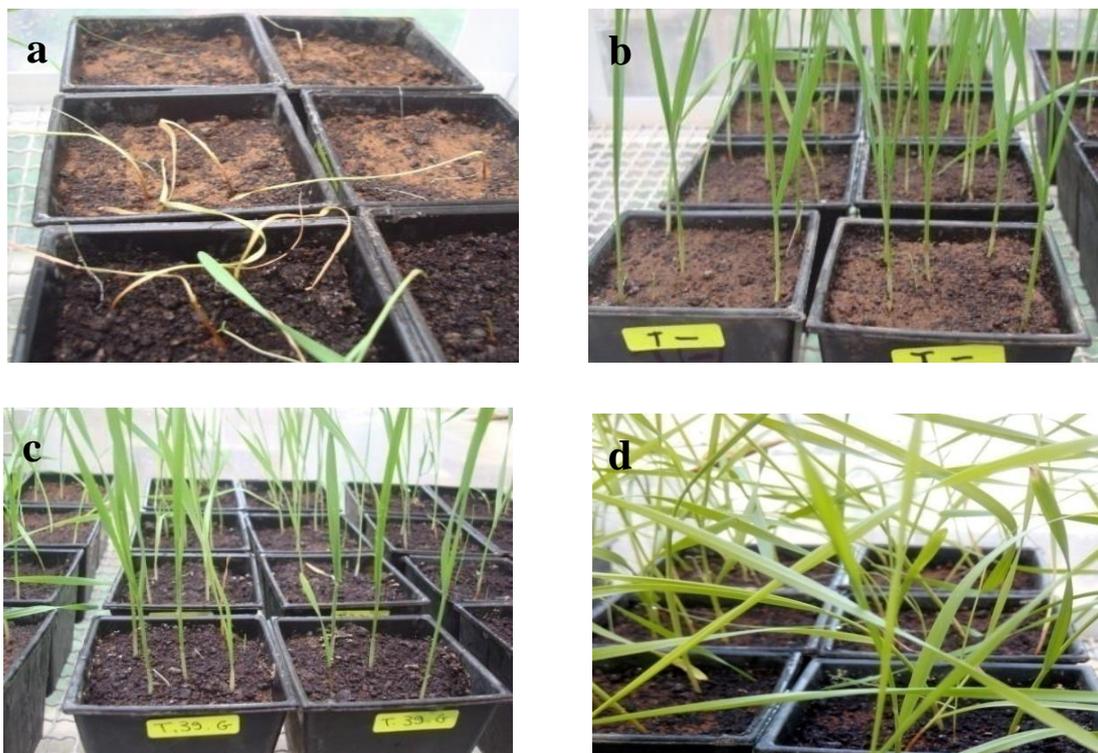
**Chez les plants témoins positifs** (plants provenant de semences non traitées par *Trichoderma* et inoculées avec *F. culmorum*) les symptômes typiques de la pourriture du collet, à savoir le noircissement ou le brunissement de la surface du collet, ont été observés (**Fig. 50**).

Chez les plants **témoins négatifs** (plants provenant de semences non traitées avec *Trichoderma* et non inoculées avec *F. culmorum*), aucun symptôme n'a été observé durant toute la période de l'expérimentation (**Fig. 50**).

Pour les plants provenant de semences traitées avec *Trichoderma* et inoculées avec *F. culmorum* : des symptômes (noircissement ou brunissement de la surface du collet) de différents degrés de sévérité de la maladie ont été observés (**Fig. 51**).

L'analyse de la variance a révélé une différence très hautement significative ( $p = 0,000$ ) entre les indices de maladie des plants provenant de semences traitées avec *Trichoderma* spp. et inoculées avec *F. culmorum* et l'indice de maladie du témoin positif (**Fig. 52**) (Annexe 3)

De faibles indices de maladie ont été enregistrés, variant entre 0,05 et 0,35, et de même, des pourcentages de réduction de l'indice de maladie très élevés ont été enregistrés, allant de 82,71 à 97,28. L'indice de maladie le plus élevé (2,03) a été enregistré chez le témoin positif inoculé uniquement par *F. culmorum*. Le traitement de la semence du blé par *T. atroviride* (T a. 09) a conféré l'indice de maladie le plus faible (0,05) et a permis d'enregistrer le pourcentage de réduction de l'indice de maladie le plus élevé (97,28 %). *T. afroharzianum* (T af.37) a induit un indice de maladie de 0,14 et une réduction de 92,84 %. L'isolat *T. afroharzianum* (T af. 17) a donné un indice de maladie de 0,34 et 83,20% de réduction, tandis que *T. gamsii* (T g. 39) et *T. orientale* (T o.15) ont tous deux montré les mêmes valeurs pour l'indice de maladie et pour le pourcentage de réduction de l'indice de la maladie et qui sont respectivement de 0,35 et 82,71%.



**Figure 50.** Essai de protection du blé par *Trichoderma* à l'égard de *F. culmorum* agent de la pourriture du collet : témoin positif (a), témoin négatif (b), plants issus de semences traitées par *Trichoderma* et inoculées par *F. culmorum* (c et d) après 40 jours du semis.



**Figure. 51** Degré de l'attaque du collet du blé par *F. culmorum* : degré 0 : Témoins négatifs (a), degré 1 (b), degré 2 (c), degré 3 (d)



**Figure. 52** Effet des cinq isolats T a. 09 (*T. atroviride*), T o. 15 (*T. orientale*), T af. 17 ; T af. 37 (*T. afroharzianum*) et T g. 39 (*T. gamsii*) sur l'indice de la pourriture du collet du blé.

#### 1.4.1. Corrélation entre l'activité antagoniste des cinq isolats de *Trichoderma* spp. *in vitro* et *in planta* à l'égard de *F. culmorum*

Le calcul du coefficient de corrélation de Pearson a montré l'existence d'une corrélation positive entre l'effet des cinq isolats de *Trichoderma* spp. sur l'indice de maladie et l'effet de ces mêmes isolats sur la croissance de *F. culmorum* dans le cas de la confrontation directe et la confrontation indirecte. Néanmoins les corrélations enregistrées à  $p < 0,05$  sont faibles  $r = 0,02$  avec la confrontation directe et  $r = 0,25$  avec la confrontation indirecte (Annexe 4).

## 2. Discussion

Jusqu'à ce jour, quelques travaux ont porté sur l'isolement et l'identification des espèces de *Trichoderma* d'Algérie. Ces études ont identifié les espèces suivantes : *T. asperellum* Samuels, Lieckf. & Nirenberg, *T. afroharzianum*, *T. atroviride*, *T. hamatum* (Bonord.) Bainier, *T. harzianum*, *T. ghanense*, *T. longibrachitum* Rifai, *T. viride*, *T. brevicompactum* G.F. Kraus, C.P. Kubicek & W. Gams, *T. breve* K. Chen & W.Y. Zhuang et *T. lixii* (Pat.) P. Chaverri (Bouregghda et al., 2008 ; Dendouga et al., 2016 ; Debbi et al., 2018 ; Bentoumi et al., 2020 ; Hammad et al., 2021). Certaines de ces espèces ont été ré-isolées dans la présente étude, *T. afroharzianum*, *T. atroviride* et *T. harzianum*. Cependant, d'autres espèces sont isolées pour la première fois telles que *T. gamsii*, *T. orientale*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense*. Ces résultats sont probablement dus au fait que les prospections n'ont pas été menées dans la même région ou sur les mêmes sols agricoles dans tout le pays.

Dans la première partie de ce travail, dont l'objectif est l'identification des *Trichoderma* spp. isolées du sol de différentes régions du pays, l'approche de l'identification a d'abord été basée sur la morphologie pour identifier le genre *Trichoderma*, puis sur les marqueurs moléculaires ITS et TEF1- $\alpha$  pour l'identification des espèces. Sur la base des caractères morphologiques décrits par Rifai (1969) et Bissett (1984 ; 1991a, b, c), 46 isolats ont été attribués au genre *Trichoderma*. Selon Samuels (2006) et Schuster et Schmoll (2010), l'identification des espèces de *Trichoderma* est bien connue comme étant difficile à réaliser morphologiquement. Grâce aux outils moléculaires, les ITS ont montré des difficultés dans la détermination des espèces. D'autre part, l'utilisation de TEF 1- $\alpha$  nous a permis d'identifier tous les isolats de *Trichoderma* utilisés dans cette étude. Druzhinina et Kubicek (2005), ont signalé que certaines espèces de *Trichoderma* ont des séquences ITS identiques comme *T. crassum* (Bissett) et *T. longipile* (Bissett). Selon Samuels (2006) et Chaverri et al., (2015), TEF 1- $\alpha$  est un outil plus utile pour identifier les espèces de *Trichoderma*. Dans cette présente étude, nous avons observé que le complexe d'espèces de *T. harzianum* comprenant *T. afroharzianum*, *T. harzianum*, *T. atrobrunneum* et *T. guizhouense* est présent à 50% dans le sol algérien. Ces espèces présentent une grande similitude morphologique, et ont été isolées des sols agricoles dans le nord de l'Algérie, à l'exception de T af.27 (*T. afroharzianum*) qui a été isolé du sol de la rhizosphère de lauriers roses dans un jardin public de la ville de Mascara (nord-ouest de l'Algérie). Ces régions sont caractérisées par un climat méditerranéen avec des étés chauds et secs et des hivers humides et frais. La présence de *T. harzianum* a déjà été signalée dans les sols d'Alger par Bouregghda et al., (2008) et dans deux autres régions côtières du nord, à l'est et à l'ouest d'Alger (Boumerdes et Tipaza) par Debbi et al., (2018). *T. harzianum* a également été isolé dans le sud de l'Algérie (désert) par Dendouga et al. (2016). En Tunisie, pays voisin à l'est de l'Algérie, *T. harzianum* a été isolé du sol forestier du nord du pays (Sadfi-Zouaoui et

*al.*, 2009). Récemment, *T. afroharzianum* a été isolé en Algérie à partir du sol et des kystes de *Globodera Rostochiensis*, nématode phytoparasite, connu sous le nom de nématode doré de la pomme de terre et considéré comme un parasite obligatoire de certaines plantes de la famille des solanacées (Bentoumi et al., 2020). Les deux espèces, *T. afroharzianum* et *T. guizhouense* ont été isolées de différents sols (forêts d'arganiers et champs de culture) dans des zones avec un climat semi aride au Maroc (Mokhtari et al., 2017). *T. afroharzianum* et *T. atroviride* ont été isolés à partir du sol non agricole en Afrique du Sud (Du Plessis et al., 2018). *T. guizhouense* a également été trouvé en Asie où il a été isolé à partir des sédiments du sol de cours d'eau en Corée (Goh et al., 2018).

L'espèce *T. atroviride* est présente avec un pourcentage de 26,09 %, dont la moitié des isolats ont été isolés des sols agricoles de deux régions du littoral méditerranéen (Alger et Béjaïa), et de l'olivieraie de Sétif (zone semi-aride) située au nord-est de l'Algérie. L'autre moitié a été obtenue à partir des sols de la palmeraie de deux régions désertiques, Ghardaïa située au centre de la partie nord du Sahara algérien et Adrar qui se trouve dans le sud-ouest de l'Algérie et les deux régions sont caractérisées par un climat désertique sec et chaud. *T. atroviride* avait été isolé auparavant des sols agricoles et de la rhizosphère du pois chiche dans le nord de l'Algérie (Bouregghda et al., 2008), mais pour la première fois dans le désert. Cette espèce a également été isolée dans des champs cultivés dans le nord-est de la Tunisie (Sadfi-Zouaoui et al., 2009).

*T. gamsii*, signalée pour la première fois en Algérie, se classe en troisième position avec 21,74 %, et se compose de 10 isolats ; tous ont été isolés dans le nord du pays à partir de sols agricoles et de jardins publics. En effet, *T. gamsii* a été isolé à partir des sols de pays très éloignés géographiquement et caractérisés par des climats différents, comme l'île tyrrhénienne de Sardaigne (Italie), les États-Unis (Texas) et la Russie (Jaklitsch et al., 2006). *T. gamsii* a également été isolé des sols cultivés en Asie dans le Sud-Est de l'Inde ; ce pays se caractérise par un climat tropical chaud et semi-aride (Kamala et al., 2015). En Pologne (Europe centrale), *T. gamsii* a été isolé du sol en deux endroits géographiquement différents, au centre et à l'est de ce pays (Oskiera et al., 2015). *T. gamsii* a également été isolé à partir du sol en Afrique du Sud (Du Plessis et al., 2018).

L'unique isolat *T. orientale*, signalé pour la première fois en Algérie, a été isolé du sol de la rhizosphère du palmier-dattier dans une palmeraie à Adrar, située dans la région ouest du sud du pays. Cette espèce a été isolée de différents habitats tels que les branches mortes de cacaoyers dans l'État de Bahia, au Brésil (Almeida et al., 2018), du sol coréen (Seokyoon et al., 2017), et de l'éponge marine de la mer Méditerranée en Tunisie (Touati et al., 2018). *T. orientale* a également été isolée du corps humain aux États-Unis (Sandoval-Denis et al., 2014).

La capacité des isolats de *Trichoderma* à croître à 35 °C a été considérée comme une clé pour identifier certaines espèces de *Trichoderma* (**Samuels et al., 2006**), car elle est utile pour distinguer *T. harzianum* de *T. atroviride*, ces deux espèces ont été longuement confondues dans la littérature en raison de la nette différence du taux de croissance au-dessus de 30 °C pour les deux espèces. En effet, les isolats de *T. atroviride* ont une croissance très faible à 30 °C et presque absente à 35 °C, alors que les isolats du complexe *T. harzianum* ont montré une croissance plus rapide au-dessus de 30 °C et une bonne croissance à 35 °C. Ceci a été observé dans cette présente étude avec les isolats de la collection et des résultats similaires ont été rapportés par **Samuels et al. (2002)** et **Bouregghda et al. (2008)**. En outre, il a été remarqué l'existence d'une forte similitude entre les taux de croissance à différentes températures des deux espèces *T. atroviride* et *T. gamsii*, à l'exception du taux de croissance à 30 °C où la croissance de *T. atroviride* était lente contrairement à celle de *T. gamsii* qui était plus rapide.

La croissance de l'isolat unique de *T. orientale* a été nettement plus rapide que celle des autres espèces à 35 °C et présente une excellente croissance à 40 °C, où les autres espèces ont été inhibées. Par conséquent, nous pouvons facilement distinguer *T. orientale* des autres espèces utilisées dans cette étude par sa capacité à croître à des températures plus élevées. La croissance optimale sur PDA des isolats appartenant au complexe d'espèces de *T. harzianum* utilisé dans cette étude et de *T. atroviride* se situe entre 25 °C et 30 °C, des résultats similaires ont été rapportés par **Samuels et al. (2002)** et **Chaverri et samuels (2004)**.

Par un test de confrontation directe *in vitro*, nous n'avons observé que 43 sur 46 isolats de *Trichoderma* spp. qui ont inhibé *A. solani* de plus de 50%. De plus, 42 isolats de *Trichoderma* ont induit un pourcentage d'inhibition > 50% contre *R. solani*. Tous les isolats (46) de *Trichoderma* ont inhibé *B. cinerea* et *F. culmorum* avec un pourcentage > 50%. En outre, il a été remarqué que presque tous les isolats de *Trichoderma* ont envahi les colonies des pathogènes et couvrant toute la boîte de Petri, montrant leur potentiel élevé de mycoparasitisme envers les pathogènes utilisés dans la présente étude. Selon **Howell (2003)**, le mycoparasitisme est le principal mécanisme de biocontrôle utilisé par *Trichoderma* en action directe contre les agents pathogènes fongiques. L'invasion des colonies des pathogènes par les isolats de *Trichoderma* spp. et la croissance excessive de ces derniers au-dessus ont été signalées dans plusieurs études. *T. harzianum* a montré un potentiel mycoparasitaire élevé en envahissant et en sporulant au-dessus des colonies de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (**Hibar et al., 2005**). Des résultats comparables concernant l'activité mycoparasitaire de *Trichoderma* spp. ont été observés par **Chen et al. (2016)** avec *T. gamsii* contre des champignons phytopathogènes tels que *Epicoccum nigrum* Link, *Scytalidium lignicola* (Pesante), *Phoma herbarum* (Westend.) et *Fusarium flocciferum* (Corda). Des résultats similaires, montrant une inhibition très significative du mycélium de l'agent pathogène *R.*

*solani*, *F. oxysporum* et *Verticillium dahlia*, ont été enregistrés par *T. afroharzianum* et *T. guizhouense* (Mokhtari et al., 2017).

Dans le test de confrontation indirecte, une inhibition remarquable de la croissance mycélienne des quatre agents pathogènes sous l'effet des substances volatiles antifongiques produites par les isolats de *Trichoderma* spp. a été observée, marquant des pourcentages d'inhibition élevés. L'isolat Ta 09 (*T. atroviride*) qui a induit le pourcentage le plus élevé d'inhibition de la croissance par confrontation indirecte de *F. culmorum* par rapport aux autres isolats de *Trichoderma* spp. et aux espèces utilisées, a également conféré le pourcentage le plus élevé de réduction de la maladie dans le test de biocontrôle (97,28%). Des résultats similaires ont également été obtenus par Bouregghda et Bouznad (2009), où *T. atroviride* a montré le pourcentage le plus élevé d'inhibition de la croissance par confrontation indirecte de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* Matuo & K. Satô et également la réduction la plus importante de l'indice de maladie par rapport à *T. harzianum* et *T. longibrachiatum*. Aleandri et al. (2016) ont également montré que les substances volatiles produites par *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens* (J.H. Mill., Giddens & A.A. Foster) et *T. hamatum* conféraient un taux élevé d'inhibition de la croissance de *R. solani* et de *Sclerotinia sclerotiorum*. Des effets inhibiteurs des composés volatils ont également été signalés par Morales-Rodríguez et al. (2018) dans l'inhibition du *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell par *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. virens* et *T. hamatum*.

En effet, les cinq isolats de *Trichoderma* spp. (T a. 09, T o. 15, T af. 17, T af. 37 et T g. 39) sélectionnés pour le test *in planta* de protection du blé contre *F. culmorum* ont réduit de manière significative l'indice de la maladie (> 82 %). Le pourcentage le plus élevé de réduction de la maladie a été enregistré par *T. atroviride* (T a. 09) et *T. afroharzianum* (T af. 17). Sur la base de ces résultats, T a. 09 et T af. 37 semblent être les meilleurs isolats pour lutter contre la pourriture du collet du blé causée par *F. culmorum*. Des résultats comparables sur la protection du collet du blé contre *F. culmorum* ont été rapportés dans des études précédentes. Dendouga et al. (2016) ont rapporté une réduction significative de l'indice de la maladie (> 70%) induite par deux isolats de *T. harzianum* et un isolat de *T. viride* contre *F. culmorum*. En outre, Roberti et al. (2000) ont montré que *T. harzianum*, *T. atroviride* et *T. longibrachiatum* étaient efficaces pour réduire la sévérité de la pourriture du collet du blé causée par *F. culmorum*.

### 3. Conclusion générale et perspectives

L'objectif principal de ce travail était d'identifier et de rechercher parmi le genre *Trichoderma* de souches isolées du sol Algérien, notamment dans des zones qui n'ont pas été encore inspectées, lesquelles pourraient être efficaces contre certains pathogènes fongiques affectant des cultures stratégiques du pays, tels que *F. culmorum*, *B. cinerea*, *A. solani* et *R. solani*.

Dans ce contexte, nous nous sommes en premier lieu intéressés à l'isolement et à l'identification de souches de *Trichoderma* spp. Celles-ci ont été isolées dans différentes régions d'Algérie (Nord, Est, Ouest et Sud) à partir de différents sols agricoles, sols de palmeraies et de différentes rhizosphères (cultures maraîchères, céréales, palmiers). Les isolats fongiques ont été assignés au genre *Trichoderma* sur la base des caractères morphologiques décrits par **Rifai (1969)** ; **Bissett (1991a, b, c, d)** ; **Gams et bissett (1998)** ; **Samuels et al. (2002)**. En raison du degré élevé de similitude entre les espèces, les caractères morphologiques ne permettent pas une identification précise, c'est pourquoi nous avons procédé directement à l'identification des *Trichoderma* spp. au niveau de l'espèce en séquençant l'ADN des régions d'espaceurs transcriptionnels internes 1 et 2 (ITS1 et ITS2) de l'ADNr et d'un fragment du gène du facteur d'élongation de la traduction 1- $\alpha$  (Tef1). Ce la a permis d'identifier 46 souches et de les attribuer à sept espèces, dont quatre *T. atrobrunneum*, *T. guizhouense*, *T. gamsii* et *T. orientale* ont été identifiées pour la première fois en Algérie, et les trois autres sont *T. harzianum*, *T. atroviride* et *T. afroharzianum*. Cette étude a également permet de déterminer la distribution des différentes espèces identifiées à travers les différentes régions prospectées.

A la suite de l'identification une étude a été réalisée sur le taux de croissance de tous les isolats à différentes températures. Dans cette étude, une conclusion très intéressante a été déduite: la croissance de l'isolat unique *T. orientale* rapporté pour la première fois en Algérie, isolé du sol de la rhizosphère du palmier dattier, était significativement plus rapide que celle des autres espèces étudiée à 35°C et présentait une excellente croissance à 40°C, où la croissance des autres espèces était inhibée.

Par ailleurs, dans l'étude visant à sélectionner des isolats efficaces contre les agents pathogènes associés aux cultures stratégiques en Algérie, une évaluation de l'activité antagoniste *in vitro* a été effectuée afin d'évaluer le comportement des 46 isolats de *Trichoderma* spp. à l'égard des quatre isolats des espèces pathogènes telles que *F. culmorum*, *B. cinerea*, *A. solani* et *R. solani*.

L'évaluation de cette activité *in vitro* a porté sur l'effet des isolats de *Trichoderma* spp. sur la croissance de l'agent pathogène sur milieu de culture en confrontation directe et indirecte. Il en

ressort qu'un très grand nombre d'isolats de *Trichoderma* ont un effet inhibiteur significatif sur la croissance des pathogènes avec une variabilité du taux d'inhibition. En conséquence, cinq isolats ont été sélectionnés comme étant les antagonistes les plus performants pour être utilisés dans le test *in vivo*, à savoir *T. atroviride* (Ta.09), *T. orientale* (To.15), *T. afroharzianum* (T af. 17 and T af. 37) et *T. gamsii* (T g. 39).

Le test *in vivo* a été effectué sur des plants de blé en pot sous serre dans le but de contrôler *F. culmorum*. Il a ainsi été constaté que les cinq isolats sélectionnés étaient efficaces contre ce pathogène en marquant une diminution significative de la gravité de la maladie.

On peut conclure que le genre *Trichoderma* est présent et répandu dans différents sols et écosystèmes algériens. Les résultats obtenus mettent en évidence le grand potentiel antagoniste des isolats de *Trichoderma* *T. atroviride* (T a.09) et *T. afroharzianum* (T af.37) utilisés dans cette étude contre *F. culmorum*, la principale espèce associée à la pourriture du collet et à la fusariose de l'épi, deux maladies importantes qui menacent le blé en Algérie. De plus, les résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle les espèces indigènes de *Trichoderma* pourraient présenter un meilleur biocontrôle et seraient utilisées à l'avenir comme produit formulé. Dans cette étude, nous soulignons également que *T. orientale* a été isolé pour la première fois dans les palmeraies du sud de l'Algérie, où les conditions climatiques sont sèches et chaudes, ce qui suggère que ces zones pourraient fournir des antagonistes prometteurs

#### **Ces conclusions éclairent de nombreuses perspectives, notamment :**

- Poursuivre la caractérisation des cinq isolats sélectionnés en étudiant notamment
  - la production de métabolites secondaires
  - la production d'enzymes impliqués dans le mycoparasitisme capables de dégrader les parois cellulaires du champignon pathogène (chitinases, glucanases et protéases)
- Réaliser un test *in vivo* concernant les isolats qui ont marqué un effet inhibiteur significatif sur la croissance des trois pathogènes, *B. cinerea*, *A. solani* et *R. solani* sur différentes cultures utilisant (tomate, pomme de terre,...)
- Réaliser un des tests *in vitro* (confrontation directe et indirecte) ainsi qu'un test *in vivo* visant l'isolat *T. orientale* (To.15), contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis* (Killian et Maire) Gordon (F.o.a.) agent causal de La maladie du bayoud, ou fusariose du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.). en effet cet isolat possède une croissance jusqu'à 40 C° ainsi qu'il a été isolé des palmeraies de la région d'Adrar connue pour son

climat sec et chaud donc il peut présenter une bonne adaptation à ce type de climat et doit peut-être apporter un effet contre cet agent pathogène.

- Il serait très intéressant d'échantillonner toutes les zones du pays non encore inspectées, et de collecter un grand nombre de souches de *Trichoderma* spp. il est probable de découvrir d'autres espèces antagonistes prometteuses.
- *Trichoderma* spp. a un grand pouvoir de lutte contre les pathogènes du sol et pourrait être utilisé dans le cadre d'une lutte intégrée dans un avenir proche en Algérie. Il faut donc néanmoins poursuivre les travaux pour mettre au point des formulations qui sont fiables et faciles à appliquer et qui permettent de lutter contre les agents pathogènes.

## 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. *Eur J Plant Pathol* 154:1-14. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01673-7>
- 2 Abdel-lateif K S (2017)** *Trichoderma* as biological control weapon against soil borne plant pathogens. *African Journal of Biotechnology* 16(50): 2299-2306. DOI: 10.5897/AJB2017.16270
- 3 Abuajah CI (2017)** Functional components and medicinal properties of food. In: Mérillon JM., Ramawat K. (eds) *Bioactive Molecules in Food* pp: 1-34. Doi:10.1007/978-3-319-54528-8\_39-1
- 4 Abuley I K, Nielsen B J (2017)** Evaluation of models to control potato early blight (*Alternaria solani*) in Denmark. *Crop Protection* 102: 118-128. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2017.08.012>
- 5 Aissat K (2008)** Etat sanitaire de la culture de la tomate sous serre et étude épidémiologique de *Botrytis cinerea* (Agent de la pourriture grise). Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas, Sétif. 104p.
- 6 Ajayi-Oyetunde O O, Bradley C A (2017)** *Rhizoctonia solani*: Taxonomy, Population Biology, and Management of Rhizoctonia Seedling Disease of Soybean. Doi: 10.1111/ppa.12733
- 7 Aleandri M P, Chilosi G, Bruni N, Tomassini A, Vettraino A M, Vannini A (2015)** Use of nursery potting mixes amended with local *Trichoderma* strains with multiple complementary mechanisms to control soil-borne diseases. *Crop Protection* 67:269-278. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.10.023>
- 8 Almeida K A, Armesto C, Monteiro F P, de Souza J T (2018)** Diversity of *Trichoderma* species isolated from dead branches and sapwood of theobroma cacao trees. *Tropical plant pathology* 43: 90–94. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0191-z>
- 9 Alvarenga TVM, de Paula Ribeiro SRR, de Souza EA, de Cássia Pereira F, Pereira Pinto CAB (2016)** Characterization of *Alternaria* isolates and reaction of potato genotypes to early blight. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.46, n.10, p.1783-1789. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20151447>
- 10 Atanasova L, Le Crom S, Gruber S, Couplier F, Seidl-Seiboth V, Kubicek CP, Druzhinina I S (2013a)** Comparative transcriptomics reveals different strategies of *Trichoderma* mycoparasitism. *BMC Genomics* 14:121. <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/121>
- 11 Atanasova L, Knox B P, Kubicek C P, Druzhinina I S, Baker S E (2013b)** The Polyketide Synthase Gene *pk4* of *Trichoderma reesei* provides pigmentation and stress resistance. *Eukaryotic Cell* 12(11): 1499–1508. doi:10.1128/ec.00103-13
- 12 Atanasova L (2014)** Ecophysiology of *Trichoderma* in Genomic Perspective in biotechnology and biology of trichoderma, chapter 2, p 528. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00002-3>
- 13 Ayad D, Aribi D, Hamon B, Kedad A, Simoneau P, Bouznad Z (2019)** Distribution of large-spored *Alternaria* species associated with early blight of potato and tomato in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea* 58(1): 139-149. Doi: 10.13128/Phytopathol\_Mediterr-23988

- 14 Banville GJ (1989)** Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. American potato losses journal 66: 821-834
- 15 Bekkar A A, Belabid L, Zaim S (2016)** Biocontrol of Phytopathogenic *Fusarium* spp. by Antagonistic *Trichoderma* . Biopestic. Int. 12(1): 37-45
- 16 Benhamou N, Chet I (1996)** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. Phytopathology 86: 405-416
- 17 Benitez T, Rincon AM, Limon MC, Codon AC (2004)** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology 7:249-260
- 18 Benito EP, Arranz M, Eslava AP, (2000)** Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. Rev Iberoam Micol 17: S43-S46
- 19 Bennett J W, Klich M (2003)** Mycotoxins. Clin Microbiol Rev 16 : 497–516
- 20 Benttoui N, Colagiero M, Sellami S, Boureghda H, Keddad A, Ciancio A (2020)** Diversity of nematode microbial antagonists from Algeria shows occurrence of nematotoxic *Trichoderma* spp. Plants 9: 941. Doi: 10.3390/plants9080941
- 21 Berg A, Grigoriev P A, Degenkolb T, Neuhof A, Haertl A, Schlegel B, Graefe U (2003)** Isolation, structure elucidation and biological activities of *Trichofumins* A, B, C and D, new 11 and 13mer peptaibols from *Trichoderma* sp. HKI 0276. J. Pept. Sci. 9: 810–816.
- 22 Bhardwaj N R, Kumar J (2017)** Characterization of volatile secondary metabolites from *Trichoderma asperellum*. Journal of Applied and Natural Science 9 (2): 954 – 959. Doi <https://doi.org/10.31018/jans.v9i2.1303>
- 23 Bessadat N, Berruyer R, Hamon B Bataille-Simoneau N, Benichou S, Kihal M, Henni DE, Simoneau P (2016)** Alternaria species associated with early blight epidemics on tomato and other Solanaceae crops in northwestern Algeria. Eur J Plant Pathol. Doi 10.1007/s10658-016-1081-9
- 24 Bisby GR (1939)** *Trichoderma viride* Pers. ex Fries, and notes on *Hypocrea*. Trans. Br. Mycol. Soc, 23:149-168.
- 25 Bissett J (1984)** A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. Canadian Journal of Botany 62: 924–931
- 26 Bissett J (1991 a)** A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. Canadian Journal of Botany. 69:2357–2372.
- 27 Bissett J (1991 b)** A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. Canadian Journal of Botany 69:2373–2417
- 28 Bissett J (1991 c)** A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum*. Canadian Journal of Botany 69:2418–2420
- 29 Bissett J (1992)** *Trichoderma atroviride*. Canadian Journal of Botany 70: 639-641

- 30 Bissett J, Szakaacs G, Nolan CA, Druzhinina I, Gradinger C, Kubicek CP (2003)** New species of *Trichoderma* from Asia. *Can J Bot* 81:570–586
- 31 Bissett J, Gams W, Jaklitsch W, Samuels GJ (2015)** Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus* 6:263–295. doi:10.5598/ima fungus.2015.06.02.02
- 32 Błaszczyk L, Siwulski M, Sobieralski K, Lisiecka J, Jędryczka M (2014)** *Trichoderma* spp. – application and prospects for use in organic farming and industry. *Journal of Plant Protection Research* 54 (4). DOI: 10.2478/jppr-2014-0047
- 33 Boureghda H, Bouznad Z, Decock C (2008)** Cultural and molecular characterizations of some isolates of *Trichoderma* spp. *Arab J. Pl. Prot* 26: 75-80
- 34 Boureghda 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* 44:25–38. DOI: 10.1556/APhyt.44.2009.1.4
- 35 Brian PW (1944)** Production of gliotoxin by *Trichoderma viride*. *Nature* 154: 667–668. <https://doi.org/10.1038/154667b0>
- 36 Cai F, Druzhinina I S (2021)** In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal Diversity* 107(1): 1–69. Doi:10.1007/s13225-020-00464-4
- 37 Cardoza R E, Hermosa M R, Vizcaíno JA, Sanz L, Monte E, Gutiérrez S (2005)** Secondary metabolites produced by *Trichoderma* and their importance in the biocontrol process. In: Mellado-Durán E, Barredo JL (eds) *Microorganisms for industrial enzymes and biocontrol*. Research Signpost, India, p 207
- 38 Cardoza R E, Malmierca M G, Hermosa R, Alexander N J, McCormick S P, Proctor R H, Tijerino A M, Rumbero A, Monte E, Gutiérrez S (2011)** Identification of loci and functional characterization of *trichothecene* biosynthetic genes in the filamentous fungus *Trichoderma*. *Appl Environ Microbiol* 77: 4867–487
- 39 Carisse O, Van der Heyden H (2015)** Relationship of airborne *Botrytis cinerea* conidium concentration to tomato flower and stem infections: A threshold for de-leafing operations. *Plant Dis.* 99:137-142. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-14-0490-RE>
- 40 Carling DE, Leiner RH, Westphale PC (1989)** Symptoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia* disease of potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani*. *American potato journal* 66: 693-701
- 41 Chaverri P, Samuels GJ (2004)** *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): Species with green ascospores. *Studies in Mycology* 48: 1–116
- 42 Chaverri P, Branco-Rocha F, Jaklitsch W, Gazis R, Degenkolb T, Samuels GJ (2015)** Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. *Mycologia* 107:558–590. <https://doi.org/10.3852/14-147>

- 43 Chen H, Wang L (2017)** Enzymatic hydrolysis of pretreated biomass. In: Technologies for Biochemical Conversion of Biomass eds Hongzhang Chen and Lan Wang, Chapter 4 : 65–99. doi:10.1016/b978-0-12-802417-1.00004-1
- 44 Chen JL, Sun SZ, Miao CP, Wu K, Chen YW, Xu LH, Guan HL, Zhao LX (2016)** Endophytic *Trichoderma gamsii* YIM PH30019: a promising biocontrol agent with hyperosmolar, mycoparasitism, and antagonistic activities of induced volatile organic compounds on root-rot pathogenic fungi of *Panax notoginseng*. Journal of Ginseng Research 40:315-324
- 45 Chohan S, Perveen R, Mehmood MA, Naz S, Akram N (2015)** Morpho-physiological studies, management and screening of tomato germplasm against *Alternaria solani*, the causal agent of tomato early blight. Int. J. Agric. Biol 17: 111–118
- 46 Christ BJ, Haynes KG (2001)** Inheritance of resistance to early blight disease in a diploid potato population. Plant Breeding 120, 169D172
- 47 Collins R P, Halim A F (1972)** Characterization of the major aroma constituent of the fungus *Trichoderma viride*. J. Agric. Food Chem 20: 437–438
- 48 Contreras-Cornejo H A, Macias-Rodriguez L, del-Val E Larsen J (2016)** Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. FEMS Microbiology Ecology, 92. Doi: 10.1093/femsec/fiw036
- 49 Cook RJ, Baker KF (1983)** The nature and practice of biological control of plant pathogens. American Phytopathological Society, St.Paul, MN.
- 50 Coutinho Moraes D, Still D, Lum M, Hirsch A (2015)** DNA-Based Authentication of Botanicals and Plant-Derived Dietary Supplements: Where Have We Been and Where Are We Going? Planta Medica, 81(09), 687–695. Doi:10.1055/s-0035-1545843
- 51 Cumagun C J R (2012)** Managing plant diseases and promoting sustainability and productivity with *Trichoderma*: The Philippine Experience. J. Agr. Sci. Tech 14: 699-714
- 52 Dahiya N, Tewari R, Hoondal GS (2006)** Biotechnological aspects of chitinolytic enzymes: a review. Appl Microbiol Biotechnol 71: 773–782. Doi 10.1007/s00253-005-0183-7
- 53 Debbi A, Boureghda H, Monte E, Hermosa R (2018)** Distribution and Genetic Variability of *Fusarium oxysporum* Associated with Tomato Diseases in Algeria and a Biocontrol Strategy with Indigenous *Trichoderma* spp. Front. Microbiol 9:282
- 54 De La Cruz J, Hidalgo-Gallego A, Lora JM, Benitez T, Pintor-Toro JA, Llobell A (1992)** Isolation and characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum*. Eur J Biochem 206: 859–867
- 55 De Kock SL, Holz G (1992)** Blossom-end Rot of Pears: Systemic Infection of Flowers and Immature Fruit by *Botryds cinerea*. J. Phytopathology 135 : 317—327
- 56 De la Cruz J, Pintor-Toro JA, Benitez T, Llobell A, Romero LC (1995)** A Novel endo-b-1,3-glucanase, bgn13.1, involved in the mycoparasitism of *Trichoderma harzianum*. Journal of Bacteriology 177 (23): 6937–6945

- 57 Demain A L, Fang A (2000)** The natural functions of secondary metabolites. *Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology*, 69:1–39
- 58 Demirci E, Dane E (2003)** Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. from stem bases of winter wheat in Erzurum, Turkey. *phytoparasitica* 31:170-173. Doi: 10.1007/BF02980787
- 59 Dendouga W, Boureghda 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* 51:1–12. DOI: 10.1556/038.51.2016.1.1
- 60 De Vijvera RV, Mertensa K, Heungens K, Somers B, Nuyttens D, Borra-Serrano I, Lootens P, Roldán-Ruiz I, Vangeyte J, Saeys W (2019)** In-field detection of *Alternaria solani* in potato crops using hyperspectral imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*. <https://doi.org/10.1016/j.compag.105106>
- 61 Diguta CF (2010)** Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisin. Thèse de doctorat, Université de Bourgogne. 193p
- 62 Druzhinina I, Kubicek CP (2005)** Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters? *J Zhejiang Univ SCI6B* (2):100-112
- 63 Druzhinina IS, Koptchinski AG, Komon M, Bisset J, Szakacs G, Kubicek CP (2005)** An oligonucleotide barcode for species identification in *Hypocrea* and *Trichoderma*. *Fungal Genetics and Biology* 42:813-828
- 64 Druzhinina I, Kopchinskiy A, Kubicek C (2006)** The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience* 47:55–64. <https://doi.org/10.1007/s10267-006-0279-7>
- 65 Druzhinina I, Seidl-Seiboth V, Herrera-Estrella A, Horwitz B A, Kenerley C M, Monte E , Mukherjee P K, Zeilinger S, Grigoriev I V, Kubicek C P (2011)** *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nat Rev Microbiol* 9: 749-759. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2637>
- 66 Druzhinina IS, Komoń-Zelazowska M, Ismaiel A, Jaklitsch W, Mullaw T, Samuels G J, Kubicek CP (2012)** Molecular phylogeny and species delimitation in the section *Longibrachiatum* of *Trichoderma*. *Fungal Genetics and Biology*, 49(5): 358–368. doi:10.1016/j.fgb.2012.02.004
- 67 Druzhinina IS, Kubicek CP (2014)** Ecological genomics of *Trichoderma*. In: Martin F, editor. *The ecological genomics of fungi*. UK: Wiley, p. 89–116.
- 68 Druzhinina IS, Chenthamara K, Zhang J, Atanasova L, Yang D, Miao Y, et al. (2018)** Massive lateral transfer of genes encoding plant cell wall- degrading enzymes to the mycoparasitic fungus *Trichoderma* from its plant-associated hosts. *PLoS Genet* 14(4): e1007322. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007322>
- 69 Du plessis IL, Druzhinina IS, Atanasova L, Yarden O, Jacobs K (2018)** The diversity of *Trichoderma* species from soil in South Africa, with five new additions. *Mycologia* 110: 559-583. Doi: 10.1080/00275514.2018.1463059
- 70 Eden MA, Hill RA, Beresford R, Stewart A (1996)** The influence of inoculum concentration, relative humidity, and temperature on infection of greenhouse tomatoes by *Botrytis cinerea*. *Plant Pathology* 45(4): 795–806. doi:10.1046/j.1365-3059.1996.d01-163.x

- 71 Eifler J, Martinelli E, Santonico M, Capuano R, Schild D, et al. (2011)** Differential Detection of Potentially Hazardous Fusarium Species in Wheat Grains by an Electronic Nose. PLoS ONE 6(6): e21026. doi:10.1371/journal.pone.0021026
- 72 Elad Y, Chet I, Henis Y (1982)** Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal of Microbiology 28(7):719-725 DOI:10.1139/m82-110
- 73 Fernández-Baldo MA, Fernández JG, Pereira SV, Messina GA, Salinas E, Raba J, Ferramola MIS (2011)** Development of an indirect competitive enzymelinked immunosorbent assay applied to the *Botrytis cinerea* quantification in tissues of postharvest fruits. BMC Microbiology 11: 220. Doi: 10.1186/1471-2180-11-220
- 74 Ferrucho R L, Cifuentes J M, Ceresini P, García-Domínguez C (2012)** *Rhizoctonia solani* AG-3PT is the major pathogen associated with potato stem canker and black scurf in Colombia. Agronomía Colombiana 30(2): 204-213
- 75 Fillinger S, Elad Y (2016)** *Botrytis* – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. 489 p. Doi 10.1007/978-3-319-23371-0
- 76 Gams W, Bissett J (1998)** Morphology and identification of *Trichoderma*. In: kubicek CP, Harman GE (eds) *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 1. Basic biology, taxonomy and genetics. Taylor & Francis, London, pp 3–25
- 77 Ghisalberti E L, Sivasithamparam K (1991)** Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. Soil Bid. Biochem, 23(11): 1001- 1020
- 78 Ghisalberti E L, Hockless D C R, Rowland C, White A H (1992)** Harziandione, a New Class of Diterpene from *Trichoderma harzianum*. Journal of Natural Products, 55(11), 1690–1694. Doi: 10.1021/np50089a023
- 79 Giese E C, Dekker R F H, Barbosa A M, da Silva M L C, Da Silva R (2011)** Production of  $\beta$ -(1,3)-glucanases by *Trichoderma harzianum* Rifai: Optimization and Application to Produce Gluco-oligosaccharides from Paramylon and Pustulan. Ferment Technol 1:102. Doi: 10.4172/2167-7972.1000102
- 80 Gilbert J, Fernando W G D (2004)** Epidemiology and biological control of *Gibberella zea*/*Fusarium graminearum*. Canadian Journal of Plant Pathology 26(4): 464–472. doi:10.1080/07060660409507166
- 81 Goh J, Nam B, Lee J S, Mun H Y, Oh Y, Lee H B, Chung N, Choi Y- J (2018)** First report of six *Trichoderma* species isolated from freshwater environment in Korea. The Korean Journal of Mycology 46: 213-225. https://doi.org/10.4489/KJM.20180027
- 82 González-Estrada R, Blancas-Benítez F, Montaña-Leyva B, Moreno-Hernández C, LDC Romero-Islas, et al. (2018)** A review study on the postharvest decay control of fruit by *Trichoderma*. In : *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*, (eds) Mohammad Manjur Shah, IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.82784.
- 83 Gorai PS, Barman S, Gond SK, Mandal NC (2020)** *Trichoderma*. beneficial microbes in agro-ecology. 571–591. doi:10.1016/b978-0-12-823414-3.00028-9

- 84 Grandaubert J, Balesdent M H, Rouxel T (2013)** Incidence des éléments transposables sur l'évolution des génomes des champignons phytopathogènes et sur leur potentiel adaptatif. *Biologie Aujourd'hui* 207(4) : 277–290. Doi:10.1051/jbio/2013026
- 85 Grey W E, Mathre D E (1988)** Evaluation of spring barleys for reaction of *Fusarium culmorum* seedling blight and root rot. *Can. J. Plant Sci* 68:23-30
- 86 Hammad M, Guillemette T, Alem M, Bastide F, Louanchi M (2021)** First report of three species of *Trichoderma* isolated from the rhizosphere in Algeria and the high antagonistic effect of *Trichoderma brevicompactum* to control grey mould disease of tomato. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 31:85. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00423-4>
- 87 Hamrouni R (2019)** Criblage, identification, physiologie de croissance et métabolisme de *Trichoderma asperellum* cultivé sur des substrats solides. *Sciences chimiques (Aix Marseille Université, France) ; Sciences Biologiques (Université de Tunis El Manar, Tunis)*. pp 155
- 88 Hare MC, Parry DW (1996)** Observations on the maintenance and measurement of soil water in simple pot experiments and its effects on seed-borne *Fusarium culmorum* seedling blight of winter wheat. *Ann. appl. Biol.* 129:227-235
- 89 Harman GE, Hayes CK, Lorito M, Broadway RM, Pietro AD, Peterbauer C, Tronsmo A (1993)** chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83 (3): 313-318
- 90 Harman GE (2000)** changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84 (4): 377- 393
- 91 Harman GE, Howell CR, Viterbo A, Chet I, Lorito M (2004 a)** *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Microbiology* 2: 43- 56
- 92 Harman GE, Petzoldt R, Comis A, Chen J (2004 b)** Interactions Between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *The American Phytopathological Society* 94(2): 147-153
- 93 Hartman G L, Pawlowski M L, Chang H X, Hill C B (2016)** Successful Technologies and Approaches Used to Develop and Manage Resistance against Crop Diseases and Pests. In *Emerging Technologies for Promoting Food Security: Overcoming the World Food Crisis*, chapter 3 Pages: 43-66. DOI.org/10.1016/B978-1-78242-335-5.00003-2
- 94 Heil M (2001)** Induced systemic resistance (ISR) against pathogens – a promising field for ecological research. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 4(2): 65–79. Doi:10.1078/1433-8319-00015
- 95 Hermosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E (2012)** Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology* , 158, 17–25. DOI 10.1099/mic.0.052274-0

- 96 Hermosa R, Cardoza RE, Rubio MB, Gutiérrez S, Monte E (2014)** Secondary metabolism and antimicrobial metabolites of *Trichoderma*. *Biotechnology and biology of Trichoderma*, 125–137. Doi:10.1016/b978-0-444-59576-8.00010-2
- 97 Henrissat B, Bairoch A (1993)** New families in the classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem J* 293:781–788
- 98 Hibar K, Daami-Remadi M, Jabnoun-Khiareddine H, M El (2005)** Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicis-lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 9:163–171
- 99 Hjeljord L, Tronsmo A (1998) *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control.** A review In: Harman GE, Kubicek CP, editors. *Trichoderma & Gliocladium Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. 1st. ed. CRC Press, Taylor & Francis; pp. 131- 145
- 100 Horsfield A, Wicks T, Davies K, Wilson D, Paton S (2010)** Effect of fungicide use strategies on the control of early blight (*Alternaria solani*) and potato yield. *Australasian Plant Pathology* 39: 368–375
- 101 Howell C R (2003)** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87: 4–10
- 102 Howell CR, Stipanovic RD (1983)** Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 29(3): 321–324. Doi: 10.1139/m83-053
- 103 Howell C R, Stipanovic R D, Lumsden R D (1993)** Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to the biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Science and Technology*, 3(4): 435–441. Doi: 10.1080/09583159309355298
- 104 Howell C R (2006)** Understanding the mechanisms employed by *trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology* 96 (2): 178- 180
- 105 Hoyos-Carvajal I, Bissett J (2011)** Biodiversity of *Trichoderma* in Neotropics. DOI: 10.5772/23378
- 106 Huang X, Chen L, Ran W, Shen Q, Yang X (2011)** *Trichoderma harzianum* strain SQR-T37 and its bio-organic fertilizer could control *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber seedlings mainly by the mycoparasitism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 91, 741–755.
- 107 Jaklitsch WM, Samuels G J, Dodd S L, Lu B S, Druzhinina I S(2006)** *Hypocrea rufa/Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies in mycology* 55: 135–177. doi:10.3114/sim.2006.56.04
- 108 Jaklitsch WM (2009)** European species of *Hypocrea* part I. the green-spored species. *Stud Mycol*, 63:1–91.
- 109 Jorge L (2014)** *Trichoderma* strains as biocontrol agents. *Adv Genet Eng* 3: e110. Doi: 10.4172/2169-0111.1000e110
- 110 Kamala T, Indira Devi S, Chandradev Sharma K, Kennedy K (2015)** Phylogeny and taxonomical investigation of *Trichoderma* spp. from Indian region of Indo-Burma biodiversity hot spot

region with special reference to Manipur. *BioMed Research International* 285261: 1-21.  
<http://dx.doi.org/10.1155/2015/285261>

**111 Kantarcioglu A S, Celkan T, Yucel A, Mikami Y, Kurugoglu S, Mitani H, Altas K (2009)** Fatal *Trichoderma harzianum* infection in a leukemic pediatric patient. *Medical Mycology*, 47, 207-215.  
DOI:10.1080/13693780802406225

**112 Khan RAA, Najeeb S, Hussain S, Xie B, Li Y (2020)** Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms* 8(6):817.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8060817>

**113 Kindermann J, El-Ayouti Y, Samuels GJ, Kubicek CP (1998)** Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the internal transcribed spacer region 1 of the rDNA clade. *Fungal Genet Biol* 24:298–309

**114 Klein D, Eveleigh DE (1998)** Ecology of *Trichoderma*. In: kubicek CP, Harman GE (eds) *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 1. Basic biology, taxonomy and genetics. Taylor & Francis, London, pp 57–74

**115 Kredics L, Hatvani L, Naeimi S, Körmöczi P, Manczinger L, Vágvölgyi C, Druzhinina I (2014)** Biodiversity of the Genus *Hypocrea/Trichoderma* in Different Habitats. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 3–24. doi:10.1016/b978-0-444-59576-8.000011

**116 Kubicek CP, Komon-Zelazowska M, Druzhinina IS (2008)** Fungal genus *Hypocrea/Trichoderma*: from barcodes to biodiversity. *Journal of Zhejiang University Science B* 9(10):753-763. doi:10.1631/jzus.B0860015

**117 Kubicek CP, Steindorff AS, Chenthamara K, Manganiello G, Henrissat B, Zhang J, ....et al. (2019)** Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. *BMC Genomics* 20:485, 1-24. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5680-7>

**118 Kuhls K, Lieckfeldt E, Samuels GJ, Kovacs W, Meyer W, Petrini O, Gams W, Börner T, Kubicek CP (1996)** Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:7755–7760

**119 Kuhls K, Lieckfeldt E, Samuels GJ, Meyer W, Kubicek CP, Börner T (1997)** Revision of *Trichoderma* section *Longibrachiatum* including related teleomorphs based on an analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Mycologia* 89:442–460

**120 Laatsch H, (2012)** *AntiBase 2012 Upgrade: The Natural Compound Identifier*. Wiley, Germany.  
<https://sciencesolutions.wiley.com>

**121 Lakhdari W, Dehliz A, Mlik R, Hammi H, Benlamoudi W, Acheuk F, Doumandji-Mitiche B (2017)** Inhibitory effect of *Trichoderma harzianum* on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *Alternaria solani*. *Org. Agr.* Doi 10.1007/s13165-017-0186-6

**122 Laraba I, Boureghda H, Abdallah N, Bouaicha O, Obanor F, Moretti A, Geiser DM, Kim H-S, McCormick SP, Proctor RH, Kelly AC, Ward TJ, O'Donnell K (2017)** Population genetic structure and mycotoxin potential of the wheat crown rot and head blight pathogen *Fusarium culmorum* in Algeria, *Fungal Genetics and Biology* 103: 34-41. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2017.04.001>

- 123 Lee J S (2015)** Recent advances in the synthesis of 2-pyrones. *Marine drugs* 13(3):1581-1620. <https://doi.org/10.3390/md13031581>
- 124 Lee S, Taylor JW (1990)** Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: Innis, MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (ed) *PCR Protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, pp 282-287
- 125 Leiminger J H, Hausladen H (2012)** Early blight control in potato using disease-orientated threshold values. *Plant Dis* 96:124-130. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-11-0431>
- 126 Leiminger JH, Auinger HJ, Wenig M, Bahnweg G, Hausladen H (2013)** Genetic variability among *Alternaria solani* isolates from potatoes in Southern Germany based on RAPD-profiles. *Journal of Plant Diseases and Protection* 120 (4) 164–172
- 127 Leiminger J, Bäßler E, Knappe C, Bahnweg G, Hausladen H (2014)** Quantification of disease progression of *Alternaria* spp. on potato using real-time PCR. *Eur J Plant Pathol*. Doi 10.1007/s10658-014-0542-2
- 128 Leyronas C (2019)** Maladies fongiques des plantes cultivées : caractériser l'inoculum pour prévoir les risques épidémiques. 3p
- 129 Li L, Qu Q, Tian B, Zhang K Q (2005)** Induction of Chlamydo spores in *Trichoderma harzianum* and *Gliocladium roseum* by Antifungal Compounds Produced by *Bacillus subtilis* C2. *J. Phytopathology* 153, 686–693
- 130 Lieckfeldt E, Kuhls K, Muthumeenakshi M (1998)** Molecular taxonomy of *Trichoderma* and *Gliocladium* and their teleomorphs. Pages 35-56 in: *Trichoderma and Gliocladium*. Vol. 1. C. P. Kubicek and G. E. Harman, eds. Taylor & Francis, London.
- 131 Liu Z, Yang X, Sun D, Song J, Chen G, Juba O, Yang Q (2010)** Expressed sequence tags based identification of genes in a biocontrol strain *Trichoderma asperellum*. *Mol. Biol. Rep.* 37, 3673–3681.
- 132 Lopes FAC, Steindorff AS, Geraldine AM, Brandao RS, Monteiro VN, Junior ML, Coelho ASG, Ulhoa CJ, Silva RN (2012)** Biochemical and metabolic profiles of *Trichoderma* strains isolated from common bean crops in the Brazilian Cerrado, and potential antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. *fungus biology* 116:815 – 824. doi:10.1016/j.funbio.2012.04.015
- 133 Lorito M, Harman GE, Hayes CK, Broadway RM, Tronsmo A, Woo SL, Pietro AD, (1993)** chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* 83 (3): 302-307
- 134 Lorito M, Woo SL, D'ambrosio M, Harman GE, Hayes CK, Kubicek CP, Scala F (1996a)** Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds . *Molecular plant- microbe interactions* 9 (3): 206-213
- 135 Lorito M, Farkas V, Rebuffat S, BodoB, Kubicek CP(1996b)** Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. *Journal of bacteriology* 178 (21): 6382–6385
- 136 Lorito M, Woo S L, Harman G E, Monte E (2010)** Translational Research on *Trichoderma*: From 'Omics to the Field. *Annu. Rev. Phytopathol*, 48:395–417. doi: 10.1146/annurev-phyto-073009-114314

- 137 Lowe R, Jubault M, Canning G, Urban M, Hammond-Kosack KE (2012)** The induction of mycotoxins by trichothecene producing *Fusarium* Species. Chapter 27, Pages: 439- 455 in *Plant Fungal Pathogens: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, vol 835, eds, Melvin D. Bolton and Bart P.H.J. Thomma. Doi 10.1007/978-1-61779-501-5\_27
- 138 Malmierca M G, Cardoza R E, Alexander N J, McCormick SP, Hermosa R, Monte E, Gutiérrez S (2012)** Involvement of *Trichoderma* trichothecenes in the biocontrol activity and induction of plant defense-related genes. *Appl Environ Microbiol* 78: 4856–4868
- 139 Messaoudi F (2019)** Essai d'homologation de nouvelles variétés de pomme de terre en Algérie. Mémoire de Master en Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou. 73p
- 140 Midoune A (2014)** Recherche sur *Rhizoctonia solani* J.G Kuhn, agent du rhizoctone brun de la pomme de terre : caractérisation morphologique, identification des groupes d'anastomose et comportement variétal. Mémoire de magister en Agronomie, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El-Harrach. 85p
- 141 Mokhtari W, Chtaina N, Halmschlager E, Volgmayr H, Stauffer C, Jaklitsch W (2017)** Potential antagonism of some *Trichoderma* strains isolated from Moroccan soil against three phytopathogenic fungi of great economic importance. *Rev Mar Sci Agron* 5: 248-254
- 142 Monte E (2001)** understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *Int. microbiol* 4: 1- 4
- 143 Montero-Barrientos M, Hermosa R, Cardoza RE, Gutiérrez S, Monte E (2011)** Functional analysis of the *Trichoderma harzianum nox1* gene, encoding an NADPH oxidase, relates production of reactive oxygen species to specific biocontrol activity against *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 77, 3009–3016
- 144 Morales-Rodríguez C, Bastianelli G, Aleandri M, Chilosi G, Vannini A (2018)** Application of *Trichoderma* spp. complex and biofumigation to control damping-off of *Pinus radiata* D. Don caused by *Fusarium circinatum* Nirenberg and O'Donnell. *Forests* 9:421
- 145 Mosbach A, Leroch M, Mendgen KW, Hahn M (2011)** Lack of evidence for a role of hydrophobins in conferring surface hydrophobicity to conidia and hyphae of *Botrytis cinerea*. *BMC Microbiology* 11:10 <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/11/10>
- 146 Mukherjee PK (2011)** Genomics of biological control—whole genome sequencing of two mycoparasitic *Trichoderma* spp. *Curr Sci* 101:268
- 147 Mukherjee PK, Horwitz BA, Kenerley CM (2012)** Secondary metabolism in *Trichoderma* – a genomic perspective. *Microbiology* 158 : 35–45. Doi 10.1099/mic.0.053629-0
- 148 Mumia B I, Muthomi J W, Narla R D, Nyongesa M W, Olubayo F M (2018)** Seed potato production practices and quality of farm saved seed potato in kiambu and nyandarua counties in Kenya. *World Journal of Agricultural Research* 6(1): 20-30. Doi: 10.12691/wjar-6-1-5
- 149 Mutawila C, Vinale F, Halleen F, Lorito M, Mostert L (2016)** Isolation, production and in vitro effects of the major secondary metabolite produced by *Trichoderma* species used for the control of grape vine trunk diseases. *Plant Pathol* 65: 104-113. Doi.org/10.1111/ppa.12385
- 150 Nasraoui B (2015)** les champignons et pseudo champignons pathogenes des plantes cultivees *Biologie, Nouvelle Systématique, Interaction Pathologique*. Publication de l'INAT, pp 199

- 151 Neumann NKN, Stoppachera N , Zeilingerb S, Degenkolbc T, Brücknerd H, Schuhmacher R (2015)** The Peptaibiotics Database – A Comprehensive Online Resource. *chemistry & biodiversity* 12: 743- 751
- 152 Ogoshi A (1996)** The genus *Rhizoctonia*. pp. 1-9. In: Sneh, B., S. Jabaji-Hare, S. Neate, and G. Dijst (eds.). *Rhizoctonia* species: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands
- 153 Okay S (2005)** cloning of chitinase a gene (*chia*) from *serratia marcescens* bn10 and its expression in coleoptera-specific *Bacillus Thuringiensis*. Thesis for the degree of Master of Science in biology, Middle East Technical University. 119p
- 154 Olivier J M, Germain R (1983)** Etude des antibiotiques volatils des *Trichoderma*. In: INRA (ed) Les antagonismes microbiens mode d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes, 24ème colloque de la société française de phytopathologie, Bordeaux, pp, 17-34
- 155 Omann M, Zeilinger S (2010)** How a mycoparasite employs G-Protein Signaling: Using the example of *Trichoderma*. *Journal of Signal Transduction*, vol. 2010, Article ID 123126, 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2010/123126>
- 156 Oskiera M, Szczech M, Bartoszewski G (2015)** molecular identification of *trichoderma* strains collected to develop plant growth-promoting and biocontrol agents. *Journal of horticultural research* 23(1): 75-86. Doi: 10.2478/johr-2015-0010
- 157 Pakora G A, Mpika J, Kone D, Ducamp M, Kebe I, Nay B, Buisson D (2018)** Inhibition of Phytophthora species, agents of cocoa black pod disease, by secondary metabolites of *Trichoderma* species. *Environmental Science and Pollution Research*. 25: 29901–29909. Doi: 10.1007/s11356-017-0283-9
- 158 Pasquali M, Spanu F, Scherm B, Balmas V, Hoffmann L, et al. (2013)** FcStuA from *Fusarium culmorum* Controls Wheat Foot and Root Rot in a Toxin Dispensable Manner. *PLoS ONE* 8(2): e57429. doi:10.1371/journal.pone.0057429
- 159 Pelletier JR, Fry WE (1990)** characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: receptivity. *Phytopathology* 80: 361-366
- 160 Pietro AD, Lorito M, Hayes CK, Broadway RM, Harman GE (1993)** Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation characterization and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology* 83 (3): 308-313
- 161 Poirier L (2007)** Les peptaibols métabolites fongiques toxiques en milieu marin. Thèse de doctorat, Université de Nantes UFR des sciences pharmaceutiques. 185 p
- 162 Prat N, Buerstmayr M, Steiner B, Robert O, Buerstmayr H (2014)** Current knowledge on resistance to *Fusarium* head blight in tetraploid wheat. *Mol Breeding* 34:1689–1699 Doi 10.1007/s11032-014-0184-2
- 163 Rapilly F (1968)** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des épiphyties INRA*. Paris. Vol. 19 pp, 102

- 164 Reino JL, Guerra R F, Hernandez-Galan R, Collado I G (2008)** Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Review* 7: 89–123. DOI 10.1007/s11101-006-9032-2
- 165 Reithner B, Mach R L (2014)** Genes from *Trichoderma* as a source for improving plant resistance to fungal pathogen. In: *Biotechnology and Biology of Trichoderma*. Edited by : Vijai K. Gupta, Monika Schmoll, Alfredo Herrera-Estrella, R. S. Upadhyay, Irina Druzhinina, Maria G. Tuohy. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00037-1>
- 166 Rifai MA (1969)** A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycological Papers*. 116: 1–56
- 167 Roberti R, Flori P, Pisi A, Brunelli A, Cesari A (2000)** Evaluation of biological seed treatment of wheat for the control of seed-borne *Fusarium culmorum*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 107:484-493. <https://www.jstor.org/stable/43215351>
- 168 Rotem, J (1994)** The genus *Alternaria*, biology and pathogenicity. APS Press, St. Paul, Minnesota
- Van der Waals, J.E., Korsten, L., Slippers, B. 2004. Genetic Diversity Among *Alternaria solani* Isolates from Potatoes in South Africa. *Plant Disease* 88: 959-964
- 169 Roussel P, Robert Y, Grosnier GC (1996)** La pomme de terre : production, amélioration, ennemis et maladies, utilisation. INRA, Paris. 607 pp
- 170 Sadfi-Zouaoui N, Hannachi I, Rouaissi M, Hajlaoui MR, Rubio MB, Monte E, Boudabous A, Hermosa MR A (2009)** Biodiversity of *Trichoderma* strains in Tunisia. *Can. J. Microbiol.* 55: 154-162. Doi:10.1139/W08-101
- 171 Saguez J (2007)** Dérégulation des activités chitinases : vers de nouvelles perspectives de lutte contre les aphides. Thèse de Doctorat de l'Université de Picardie Jules Verne, France, pp149
- 172 Sahai AS, Manocha MS (1993)** Chitinases of fungi and plants: their involvement in morphogenesis and host-parasite interaction *FEMS Microbiology Reviews* 11(4): 317–338. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00004.x>
- 173 Samuels GJ Petrini O Mangui S (1994)** Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. *Mycologia*, 86: 421-435
- 174 Samuels G J (1996)** *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycol. Res.* 100 (8): 923-935
- 175 Samuels GJ, Dodd SL, Gams W, Castlebury LA, Petrini O (2002)** *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 94:146-170
- 176 Samuels GJ (2006)** *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology* 96:195-206
- 177 Samuels G J, Suarez C, Solis C, Holmes K A, Thomas S E, Ismail A, Evans H C (2006)** *Trichoderma theobromicola* and *T. paucisporum*: two new species isolated from cacao in South America. *Mycological research* 110: 381-392. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.01.009>
- 178 Samuels GJ, Ismaiel A, Mulaw TB, Szakacs G, Druzhinina IS, Kubicek CP, Jaklitsch WM (2012)** The longibrachiatum clade of trichoderma: a revision with new species. *Fungal Diversity* 55:77–108. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0152-2>

- 179 Sandoval-Denis M, Sutton DA, Cano-Lira JF, Gené J, Fothergill AW, Wiederhold NP, Guarro J (2014)** Phylogeny of the Clinically relevant species of the emerging fungus *trichoderma* and their antifungal susceptibilities. *Journal of Clinical Microbiology* 52: 2112–2125
- 180 Sanz L, Montero M, Grondona I, Vizcaino JA, Llobell A, Hermosa R, Monte E (2004)** Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. *Curr Genet* 46: 277–286. DOI 10.1007/s00294-004-0532-6
- 181 Scherm B (2007)** Biodiversity of the genus *Trichoderma* and identification of marker genes involved in the antagonism between *Trichoderma* spp. and plant pathogenic fungi. universita' degli studi di Sassari, Italy. 118 p
- 182 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. Doi: 10.1111/mpp.12011
- 183 Schirmbock M, Lorito M, Wang YI, Hayes C K, Arisan-atac I, Scala F, Harman GE, Kubicek CP (1994)** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Applied and environmental microbiology* 60: 4364-4370
- 184 Schuster A, Schmoll M (2010)** Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Microbiol Biotechnol* 87:787–799
- 185 Seidl V (2008)** Chitinases of filamentous fungi: a large group of diverse proteins with multiple physiological functions. *Fungal biology reviews* 22: 3 6 –4 2
- 186 Seidl V, Gamauf C, Druzhinina IS, Seiboth B, Hart L, Kubicek CP (2008)** The *Hypocrea jecorina* (*Trichoderma reesei*) hypercellulolytic mutant RUT C30 lacks a 85 kb (29 gene-encoding) region of the wild-type genome. *BMC Genomics* 9:327. Doi:10.1186/1471-2164-9-327
- 187 Seokyeon J, Yeongseon J, Chul-Whan K, Hanbyul L, Joo-Hyun H, Young M H, Young M L, Dong W L, Hyang B L, Jae-Jin K (2017)** Five New Records of Soil-Derived *Trichoderma* in Korea: *T. albolutescens*, *T. asperelloides*, *T. orientale*, *T. spirale*, and *T. tomentosum*. *Mycobiology* 45 (1): 1-8
- 188 Sharma K K (2018)** *Trichoderma* in agriculture: an overview of global scenario on research and its application. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 7(8): 1922-1933.  
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.708.221>
- 189 Sharma P, Sharma M, Raja M, Shanmugam V (2014)** Status of *Trichoderma* research in India: A review. *Indian Phytopathology* 67:1-119
- 190 Shi X S, Wang D J, Li X M, Li H L, Meng L H, Li X, ... Wang B G (2017)** Antimicrobial polyketides from *Trichoderma koningiopsis* QA-3, an endophytic fungus obtained from the medicinal plant *Artemisia argyi*. *RSC Advances*, 7(81), 51335–51342. Doi: 10.1039/c7ra11122c
- 191 Shi Z Z, Liu X H, Li X N, Ji N Y (2020)** Antifungal and antimicroalgal trichothecene sesquiterpenes from the marine algicolous fungus *Trichoderma brevicompactum* A-DL-9-2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68: 15440-15448. doi:10.1021/acs.jafc.0c05586

- 192 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 Paris-sud 11, France. 198p
- 193 Sivasithamparam K, Ghisalberti E L (1998)** Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: Kubicek, C P, Harman G E. (Eds.), *Trichoderma* and *Gliocladium*. Taylor & Francis Inc., Bristol, PA, pp. 139–191.
- 194 Sneh B, Jabaji-Hare S, Neate S, Dijst G eds. (1996)** *Rhizoctonia* Species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic, Boston
- 195 Song H K, Suh S W (1996)** Refined structure of chitinase from barley seeds at 2.0 Å Resolution. *Acta Crystallographica D52*: 289-298
- 196 Sriram S, Savitha M J, Rohini H S, Jalali S K (2013)** The most widely used fungal antagonist for plant disease management in India, *Trichoderma viride* is *Trichoderma asperellum* as confirmed by oligonucleotide barcode and morphological characters. *Current Science*, vol. 104, No. 10, 25
- 197 Srivastava M, Kumar V, Shahid M, Pandey S, Singh A (2016)** *Trichoderma*- a potential and effective bio fungicide and alternative source against notable phytopathogens: A review. *Afr. J. Agric. Res* 11 (5) : 310-316
- 198 Suong M (2011)** Caractérisation moléculaire des ITS des champignons dégradant les bois de Guyane. Rapport de stage, université Montpellier 2, CIRAD, la recherche agronomique pour le développement, pp : 1-47
- 199 Sutherland IW (1999)** Polysaccharases for microbial exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 38(4), 319–328. Doi:10.1016/s0144-8617(98)00114-3
- 200 Tabuc c (2007)** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, thèse de doctorat, 190 p
- 201 Tamra A J-Z, Loren J G, Anthony O A, Robert M H, Stephen N W (2017)** Understanding fungicide resistance. *Papers in Plant Pathology*. 481.
- 202 Taylor TN, Hass H, Kerp H, Krings M, Hanlin RT (2005)** Perithecial ascomycetes from the 400 million year old Rhynie chert: an example of ancestral polymorphism. *Mycologia* 97:269-285.
- 203 Topolovec-Pintarić S (2019)** *Trichoderma*: Invisible Partner for Visible Impact on Agriculture. In *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*, Mohammad Manjur Shah, Umar Sharif and Tijjani Rufai Buhari, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen. 83363
- 204 Touati I, Ruiz N, Thomas O, Druzhinina I S, Atanasova L, Tabbene O, Elkahoui S, Benzekri R, Bouslama L, Pouchus YF, Limam F (2018)** Hyporientalin A, an anti-*Candida* peptaibol from a marine *Trichoderma Orientale* *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 34:98. <https://doi.org/10.1007/s11274-018-2482-z>
- 205 Vinale F, D'Ambrossio G, Abadi K, Marra R, Turra D, Woo SL, Lorito M (2004)** Application of *Trichoderma harzianum* (T22) and *Trichoderma atroviride* (P1) as plant growth promoters, and their compatibility with copper oxychloride. *Journal of Zhejiang university* 30 (4), 425

- 206 Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo SL, Lorito M (2008a)** *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry* 40:1–10. DOI:10.1016/j.soilbio.2007.07.002
- 207 Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Barbetti M J, Li H, Woo SL, Lorito M (2008b)** A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 72: 80–86. doi:10.1016/j.pmpp.2008.05.005
- 208 Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Woo SL, Nigro M, Marra R, Lombardi N, Pascale A, Ruocco M, Lanzuise S, Manganiello G, Lorito M (2014)** *Trichoderma* secondary metabolites active on plants and fungal pathogens. *The Open Mycology Journal* 8: 127-139
- 209 Viterbo A, Montero M, Ramot O, Friesem D, Monte E, Llobell A, Chet I (2002a)** Expression regulation of the endochitinase chit36 from *Trichoderma asperellum* (*T. harzianum* T-203) *Curr Genet* 42: 114–122. Doi 10.1007/s00294-002-0345-4
- 210 Viterbo A, Ramot O, Chernin L, Chet I (2002b)** Significance of lytic enzymes from *Trichoderma* spp. in the biocontrol of fungal plant pathogens. *Antonie van Leeuwenhoek* 81: 549–556. Doi: 10.1023/a:1020553421740
- 211 Waals J E V D, Korsten L, Aveling T A S, Denner F D N (2003)** Influence of environmental factors on field concentrations of *Alternaria solani* conidia above a South African potato crop. *Phytoparasitica* 31(4): 353-364
- 212 Wagacha J M, Muthomi J W (2007)** *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection* 26 : 877–885. doi:10.1016/j.cropro.2006.09.003
- 213 Walsh T J, Groll A, Hiemenz J, Fleming R, Roilides E, Anaissie E (2004)** Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. *Clinical Microbiology and Infection*, Volume 10: 48–66
- 214 Weber B, Halterman DA (2012)** Analysis of genetic and pathogenic variation of *Alternaria solani* from a potato production region. *Eur J Plant Pathol* 134:847–858. DOI 10.1007/s10658-012-0060-z
- 215 Weindling R (1932)** *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. *Phytopathology* 22:837–45
- 216 Weindling R (1934)** Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology* 24:1153–1179
- 217 Weindling R, Emerson O (1936)** The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopathology* 26: 1068–1070
- 218 Wessels JGH, Sietsma JH (1981)** Fungal Cell Walls: A Survey. In: Tanner W., Loewus F.A. (eds) *Plant Carbohydrates II. Encyclopedia of Plant Physiology (New Series)*, vol 13 / B. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-68234-6\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-642-68234-6_15)
- 219 White T J, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990)** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (ed) *PCR protocols: a guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, pp 315-322

- 220 Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan J L (2007)** Botrytis cinerea : the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology* **8** (5): 561–580. Doi: 10.1111/J.1364-3703.2007.00417.X
- 221 Witkowska D, Maj A (2002)** Production of lytic enzymes by *Trichoderma* spp. and their effect on the growth of phytopathogenic fungi. *Folia Microbiol* **47**: 279–282. <https://doi.org/10.1007/BF02817652>
- 222 Wolters P J, Faino L, van den Bosch T B M, Evenhuis B, Visser R G F, Seidl M F, Vleeshouwers VG A A (2018)** Gapless Genome Assembly of the Potato and Tomato Early Blight Pathogen *Alternaria solani*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, **31**(7): 692–694. Doi: 10.1094/mpmi-12-17-0309-a
- 223 Woo SL, Ruocco M, Vinale F, Nigro M, Marra R, Lombardi N, et al. (2014)** *Trichoderma*-based products and their widespread use in agriculture. *The Open Mycology Journal* **8**:71-126. DOI: 10.1007/s00253-016-7792-1
- 224 Woodhall JW, Lees AK, Edwards SG, Jenkinson P (2007)** Characterization of *Rhizoctonia solani* from potato in Great Britain. *Plant Pathology* **56**: 286–295. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2006.01545.x
- 225 Wu Q, Sun R, Ni M, Yu J, Li Y, Yu C, et al.(2017)** Identification of a novel fungus, *Trichoderma asperellum* GDFS1009, and comprehensive evaluation of its biocontrol efficacy. *PLoS ONE* **12**(6): e0179957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179957>
- 226 Yedidia I, Benhamou N, Chet I (1999)** Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol*, **65**(3): 1061–1070
- 227 Yedidia I, Srivastva AK, Kapulnik Y, Chet I (2001)** Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil* **235**: 235–242
- 228 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. *Appl. Environ. Microbiol*, **69**(12): 7343–7353
- 229 Zeilinger S, García-Estrada C, Martín J F (2015)** Fungal secondary metabolites in the “OMICS” era. Chapter 1 : 1-12. In: Zeilinger S, Mart J F, Garcia-Estrada C. (eds.), *Biosynthesis and molecular genetics of fungal secondary metabolites Volume 2, Fungal Biology*. DOI 10.1007/978-1-4939-2531-5\_1
- 230 Zeilinger S, Gruber S, Bansal R, Mukherjee P K (2016)** Secondary metabolism in *Trichoderma* - Chemistry meets genomics, *Fungal Biology Reviews* pp 1- 17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001>
- 231 Zhang Y-B, Zhuang W-Y (2018)** New species of *Trichoderma* in the *Harzianum*, *Longibrachiatum* and *Viride* clades. *Phytotaxa*, **379** (2): 131. doi:10.11646/phytotaxa.379.2.1
- 232 Zhang J-L, Tang W-L, Huang Q-R, Li Y-Z, Wei M-L, Jiang L-L, Liu C, Yu X, Zhu H-W, Chen G-Z and Zhang X-X (2021)** *Trichoderma*: a treasure house of structurally diverse secondary metabolites with medicinal importance. *Front. Microbiol*. **12**:723828. doi: 10.3389/fmicb.2021.723828

## **Annexes**

**Publication**

Chihat et al.

Communication

# Annexes

---

## Annexe 1

### Composition des milieux de culture

#### Milieu PDA (Potato Dextrose Agar)

Extrait de pomme de terre	1000 ml
Glucose	15 g
Agar	20 g
	120

Préparation de l'extrait de pomme de terre: 200 g de pommes de terre, sont lavées puis coupées en petits cubes, mises dans un litre d'eau distillée et portées à ébullition pendant 20 à 30 minutes. Elles sont ensuite écrasées, puis filtrées.

Préparation du milieu: Dans un flacon, l'agar et le glucose sont mélangés à chaud dans l'extrait tiré de la pomme de terre. Complétez jusqu'à un litre d'eau distillée ensuite stérilisez à 120°C pendant 20 minutes.

### **Milieu PDB (Potato Dextrose Broth)**

PDB	1,35 g
Eau distillée	200 ml

Préparation : Dans un récipient contenant 200 ml d'eau distillée, on ajoute 1,35 de PDB et on agite à chaud jusqu'à dissolution complète, puis on stérilise à l'autoclave pendant 15 minutes à 121°C.

### **Milieu SNA (Spezieller Nährstoffärmer Agar)**

(KNO <sub>3</sub> )	1.0 g
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.0 g
MgSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0.5 g
KCL	0.5 g
Glucose	0.2 g
Sucrose	0.2 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000

## **Annexe 2**

Séquence de la région ITS1-5.8S-ITS2 amplifiée par ITS1 et ITS4

Consensus des isolats (ITS)

>Seq1 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 1 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

```
TCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAAGTGTTCCTCGGCG
GGGTCACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCCGCCGGAGGGACCAACCA
AACTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAA
TGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA
TGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGC
```

GCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCC  
GGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACA  
GTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCG  
GCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAA

>Seq3 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 3 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CCCAAACCCAATGTGAACCATAACAAACTGTTGCCTCGGGCGGGTACGCCCCGGGTGCGT  
CGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGGACCAACCAAACTTTTCTGTAGTCCCCT  
CGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAA  
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATT  
GCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGG  
GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGAC  
CTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCC  
TCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGCGTCCACGTCC

>Seq4 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 4 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

ACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGT  
GAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCT  
GGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTG  
GGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCG  
CAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGCGTCCACGTCC

>Seq5 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 5 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

GTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCGGAGGACCAACCAAACTTTTTCTGTAGTCCCCT  
CGCGGACGTTTTTCTTAAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACG  
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC  
AGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGC  
ATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCT  
CGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTC  
TCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGCGTCCACGTCC

>Seq6 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 6 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

GGCGCCCCGCGGAGGGACCAACCAAACTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTT  
ACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTG  
GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT  
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGC  
GTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAG  
ACGGGATCCCGGCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTT  
TGCACAACCTCGCACCGGGAGCGCGGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAA

>Seq7 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 7 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

ACTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACAAACT  
GTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGG  
AGGGACCAACCAAACTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGC  
AAAAATTCAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAG  
AACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTG  
AACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACC  
TCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGG

CCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGC  
ACCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAA

>Seq8 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 8 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTC  
GCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTC  
GCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAAC  
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG  
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGG  
CATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACC  
TCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCT  
CTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAAC  
ACCCAACCTTCT

>Seq9 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 9 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGC  
CCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGA  
CGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATC  
TCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA  
ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATG  
CCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGG  
GAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCT  
GCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCC  
AACTTCT

>Seq14 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 14 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

GTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGA  
ACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTAT  
TTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGG  
TTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAG  
TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTC  
CGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCC  
CTAAGACGGGATCCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAG  
TAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTCT  
GAAATGTG

>Seq18 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 18 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

TACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCGGGTTCGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGC  
GCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTTTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTATAATCTG  
AGCCTTCTCGGCGCCCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATC  
TCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGA  
ATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATG  
CCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCC  
CTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCG  
CAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCG

>Seq19 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 19 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

GTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGC  
CCCGGGTTCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTAT  
TGATAACCCCTCGCGGGTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTT

CGAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA  
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA  
CATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAAC  
CCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATAC  
AGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCG  
GCGCGTCCACAGCCGTTAAACAC

>Seq21 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 21 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

AATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCC  
CGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGT  
TTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGGCCTTCGAAAATGAATCAAACTT  
TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT  
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATT  
CTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGT  
TGGGGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAG  
CCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCC

>Seq22 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 22 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCC  
CCGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGT  
TTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGGCCTTCGAAAATGAATCAAACTT  
TCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAAT  
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATT  
CTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGT  
TGGGGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAG  
CCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAA  
ACACCAAACCTTCTGAA

>Seq23 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 23 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCAATGTGAACGTTACCAAACCTG  
TTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGA  
GGACCAACCAAACCTCTTATTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTC  
GGCGCCTCTCGTAGGGCCTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTC  
TGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA  
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGA  
GCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAG  
CGGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTT  
GCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCCGTTAAACACCCAAC

>Seq24 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 24 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

GCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCACCAAACCTCTTA  
TTGTATACCCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGGCTT  
GGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA  
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA  
CATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAAC  
CCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTCCCTTAGCGGGTGGCCGTCTCCGAAATA

CAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGC  
GGCGGTCCACAGCCGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTGAC

>Seq25 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 25 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

GCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTT  
GCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCCGCCGGAG  
GACCAACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCG  
GCGCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCT  
GGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAA  
TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAG  
CGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTGCCTTGGC  
GGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGC  
ACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGC

>Seq28 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 28 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CCCGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTAT  
TGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTT  
CGAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCA  
GCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCA  
CATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAAC  
CCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATAC  
AGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCG  
GCGCGTCCACAGCCGT

>Seq29 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 29 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

AAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCG  
CAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCG  
CGGGTTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCA  
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA  
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCC  
AGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGT  
CGGCGTTGGGGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCG  
CCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGC  
CGTTAAACACCCAACCTTCTGAAATGTGACCT

>Seq33 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 33 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACTCTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTT  
TTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAATGAATCAAACTTTCAA  
CAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTG  
AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTG  
GCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGG  
GGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGCAGCCT  
CTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGC

>Seq40 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 40 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTG  
TTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGA  
GGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTCGCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCA  
AAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGA  
ACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGA  
ACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCT  
CGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACCTCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGC  
CCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCA  
CCGGGAGCGCGGCGGTCCACGTCCGTAAAACACCCAACCTTCTGAAA

>Seq42 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 42 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTG  
CGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCGGAGGACCAACCAAACCTCTTATTGTATACCC  
CCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCCTCTCGTAGGGGTTTCGAAAATG  
AATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG  
CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGC  
CCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGG  
GGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTGCCTTGGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGG  
TCTCGCCGCAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTTTGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCC  
ACAGCCGTTAAACACCCAACCT

>Seq43 [Organism=Trichoderma harzianum] isolate 43 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

ACCTGCGGAGGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCAATGTGAACGTTACCAAAC  
TGTTGCCTCGGCGGGATCTCTGCCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCGCCG  
GAGGACCAACCAAACCTCTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTTTATAATCTGAGCCTTC  
TCGGCGCCTCTCGTAGGGGTTTCGAAAATGAATCAAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGT  
TCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGT  
GAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTCC  
GAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGATCGGCCCTGCCTT  
GGCGGTGGCCGTCTCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCTCTCCTGCGCAGTAGTT  
TGCACACTCGCATCGGGAGCGCGGCGCGTCCACAGCC

>Seq44 [Organism=Trichoderma atroviride] isolate 44 ITS1, ITS2 and 5.8S, complete cds

CCAAACCCAATGTGAACCATAACCAAACCTGTTGCCTCGGCGGGGTCACGCCCCGGGTGCGTC  
GCAGCCCCGGAACCAGGCGCCCGCCGGAGGGACCAACCAAACCTCTTTTCTGTAGTCCCCTC  
GCGGACGTTATTTCTTACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATGAATCAAAACTTTCAACAAC  
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTG  
CAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGCCAGTATTCTGGCGGG  
CATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCTCGAACCCCTCCGGGGGGTTCGGCGTTGGGGACC  
TCGGGAGCCCCTAAGACGGGATCCCGGCCCCGAAATACAGTGGCGGTCTCGCCGAGCCT  
CTCCTGCGCAGTAGTTTGCACAACCTCGCACCCGGGAGCGCGGCGCGTCCACGTCCGTAAAAC  
ACCAAACCTTCTGAAATGTGACCT

### Annexe 3

Consensus des isolats (tef )

>*T. atroviride* 01

```
CCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTCTGGCTGCCTTGCTTGTCTTTTAGTGGGGTGCCAACT
TTTTGTTTGGCTGCAACCCCGCTATCGCCACTGTCCCTCTGTCCAACGAATTGTA CTGCT
CAATTGCATCGTCTTCTGCCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCA
ATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGCAAGGGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTC
AAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCA
AGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTCGCTGTTCCCTCATTGACACTTGGAGACCATCA
TTCTAACGTGCCGCTCTACAGACGCTCCCGGTCA
```

>*T. gamsii* 02

CTTTATTGGCACAGTCGTGTGTCCGGCAATCCTGTTCTCAGTCTTGTC AATTTTTTCTCTCGC  
ATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCTCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTCTGGCT  
GCCTTGTGGTTTTAGTGGGGTGCCAGCTTTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCT  
GTCCCTCATCCATCGTCTTAACAATTTGTTCACTCAATCGCATCTCATCTTCTCTGTGGTTCA  
ATGTGCTGATCATGATTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAAGCTCGCAAGGGTTCTTTCAAGT  
ATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGC  
CCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTC  
ATTGGCGTTTCGAAATCATAATTCTAACGTGCCACTCTACAGA

>*T. atroviride* 03

TTCTGCTTTTTACTCCGCTCCCTGAGCACAATCGTGCCCGACAATTCTGTCCTCAGTCTTGT  
CATTTTTTTTCCCTCGCAGCATCACACCCCGCTTTACCTGTCTACCCCTCCTTTGGCACAGCA  
AAATTTTCTGGCGGCCTTGCTTGGCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTTTTTTTTGTTTGGCTGCA  
ACCCCGCTATCGCCACTGTCCCGTCCCAACGAATTGTACTCAATTGCATCGTCTTCTCCATC  
TCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGCAAG  
GGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCA  
CCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTAT  
GTTTTCGTTTTTCTCATTGATACTTGGAGACCAAGATTCTAACGTGCCGCTCTGTAGACGC  
TCCCGGTCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGAT

>*T. atroviride* 04

CCTCAGTCTTGTCATTTTTTTTTCCCTCGCAGCATCACACCCCGCTTTACCTGTCTACCCCTCC  
TTTGGCACAGCAAAAATTTCTGGCTGCCTTGGCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTTTTTTTT  
GTTTGGCTGCAACCCCGCTATCGCGACTGTCCCGTCCCAACGAATTGTACTCAATTGCATCG  
TCTTCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCGA  
GCTCGGCAAGGGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAG  
CGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCG  
TCATTGGTATGTTTTCGCTTTTCTCATTGATACTTG

>*T. atroviride* 05

TCTTGTCAttTTTTTTCCTCGCAGCatCaCaCCCCGctTTACctGTcTACCCcTCCTTTGGCACAGcA  
AAATTTTctGGcTGCTTGCTtGGCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTTTTTTtGTTtGGctGCAACCC  
CGCTATCGCCACTGTCCCGTCCCAACGAGTTGTACTCAATTGCATCGTCTTCTCCATCTCTG  
TGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGCAAGGGTT  
CTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGAcAAGCTCAaGGCCgAgCGTGAgCGTGGTATCACCATCG  
ACATTGCCCTTGGAAGTTCgAGACTCCCAagtACTATGTCACCGTCATTggtatGTTTTcgc

>*T. atroviride* 06

GTCTTGTCATTTTTTCTTCCTCGCAGCATCACACCCCGCTTTCCTGTCTACCCCTCCTTTGGCACA  
GCAAAAATTTCTGGCTGCCTTGTCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTTTTGTTTGGCTGC  
AACCCCGCTATCGCCACTGTCCCTCTGTCCCAACGAATTGTACTCGCTCAATTGCATCGTCT  
TCTGCCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCG  
AGCTCGGCAAGGGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGA  
GCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACC  
GTCATTGGTATGTTTTCGCTGTTCTCATTGACACTTGGAGACCATCATTCTAACGTGCCGC  
TCTACAGACGCTCCCGGTCACCGTGATTTT

>*T. atroviride* 07

GAGAAGGTGAGCTCATTTCTGCTTTTTTACTCCGCTCCCTGAGCACAATCGTGCCCGACAAT  
TCTGTCTCAGTCTTGTCAATTTTTTTTCCCTCGCAGCATCACACCCCGCTTTACCTGTCTACCC  
CTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTCTGGCTGCCTTGTCTTGGCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTT

TTTTTGGTTGGCTGCAACCCCGCTATCGCCACTGTCCCGTCCCAACGAGTTGTA CTCAATTG  
CATCGTCTTCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCC  
GCCGAGCTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGC  
GTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGT  
CACCGTCATTGGTATGTTTTCGCTTTTCC

>*T. atroviride* 08

TCCGCTCCCTGAGCACAATCGTGCCCGACAATTCTGTCTCAGTCTTGTCAATTTTTTTCCCT  
CGCAGCATCACACCCCGCTTTACCTGTCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAATTTCTGGCT  
GCCTTGCTTGGCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTTTTTTGTTTGGCTGCAACCCCGCTATCGC  
GACTGTCCCGTCCCAACGAATTGTA CTCAATTGCATCGTCTTCTCCATCTCTGTGTGGTTC A  
TTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGGCAAGGGTCTTTCAAGT  
ATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGC  
CCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTCGCTTTTCC  
TCATTGATACTTG

>*T. atroviride* 09

TCTTGTCAATTTTTCTTTCGCAGCATCACACCCCGCTTTCTGTCTACCCCTCCTTTGGCACAG  
CAAAATTTTCTGGCTGCCTTGCTTGTCTTTTAGTGGGGTGCCAACCTTTTTGTTTGGCTGCA  
ACCCCGCTATCGCCACTGTCCCTCTGTCCCAACGAATTGTA CTGCTCAATTGCATCGTCTT  
CTGCCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCG A  
GCTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAG  
CGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCG  
TCATTGGTATGTTTTCGCTGTTCCTCATTGACAC

>*T. gamsii* 10

AGAAGGTAAGCTAATTTCACTACTTTTATCACTACGCTTTGTTGGCACAGTCGTGTGTCCGA  
CAATCCTGTTCTCAGTCTTGTCAATTTTTCTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCTA  
CCCCTCCTTTGGCACAGCAAAATTTTCTGGCTGCCTTTGGTTTTTAGTGGGGTGCTAGCTT  
TTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCTCTGTCCCTCATCCATCGTCTTAACAATTTGTTCA  
CTCAATCGCATCTCATTTTTCTCTGTGGTTCAATGTGCTGATCATGATTCAATCAATAGGAAG  
CCGCCGA ACTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCG A  
GCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTAT  
GTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTTCGAAATCATGATTCTAACGTG  
CCACTCTACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATC

>*T. gamsii* 11

GGTAAGCTAATTTCACTATTTTTATCATTACGCTTTATTGGCACAGTCGTGTGTCCGGCAAT  
CCTGTTCTCAGTCTTGTCAATTTTTCTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCTCTAC  
CCCTCCTTTGGCACAGCAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTTTGGTTTTTAGTGGGGTGCCAGC  
TTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTAACAATTTGTT C  
ACTCAATCGCATCTCATCTTCTCTGTGGTTCAATGTGCTGATCATGATTCAATCAATAGGAA  
GCCGCCGA ACTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCG A  
AGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTA  
TGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTTCGAAATCATAATTCTAACGT  
GCCACTCTACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACA

>*T. gamsii* 12

AGAAGGTAAGCTAATTTCACTATTTTTATCACTACGCTTTATTGGCACAGTCGTGTGTCCGG  
CAATCCTGTTCTCAGTCTTGTCAATTTTTCTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCT  
CTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTTTGGTTTTTAGTGGGGTGC

CAGCTTTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTAACAATTT  
GTTCACTCAATCGCATCTCATCTTCTCTGTGGTTCAATGTGCTGATCATGATTCAATCAATA  
GGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCGTGGGTTCCTTGACAAGCTCAAG  
GCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGT  
ACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTTCGAAATCATGATTCTA  
ACGTGCCACTCTACAGA

>*T. atroviride* 13

CCCGACAATTCTGTCCTCAGTCTTGTCATTTTTTTTTCTCGCAGCATCACACCCCGCTTTACC  
TGCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAATTTTTCTGGCTGCCTTGCTTGGCTTTTAGTGGGGT  
GCCAACTTTTTTTGTTTGGCTGCAACCCCGCTATCGCCACTGTCCCGTCCCAACGAGTTGT  
ACTCAATTGCATCGTCTTCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAAT  
TAGGAAGCCGCCGAGCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCGTGGGTTCCTTGAAAAAATCT  
GGGCCAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAA  
GTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTCGCTTTTCC

>*T. atroviride* 14

AAGTGAGCTCATTCTGCTTTTTCACTCCGCTCCCTGAGCACAATCGTGCCCGACAATTCTGT  
CCTCAGTCTTGTCATTTTTTTTTCTCGCAGCATCACACCCCGCTTTACCTGTCTACCCCTCCT  
TTGGCACAGCAAAATTTTTCTGGCTGCCTTGCTTGGCTTTTAGTGGGGTGCCAACTTTTTTTT  
GTTTGGCTGCAACCCCGCTATCGCCACTGTCCCGTCCCAACGAGTTGACTCAATTGCATCG  
TCTTCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCGA  
GCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTATGCGTGGGTTCCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAG  
CGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCG  
TCATTGGTATGTTTTCGCTTTTCTCATTGATACTTCGAGACCAAGATTCTAAC

>*T. orientale* 15

CCCAACATCTGTGACCAAATGGCTCGCGCCGACAGATTTTTCTTTCCCATCACCCCGCT  
TTCTTCTACCCCTCCTTTGGGCGACGCAAAATTTTTTTGGCTGCGTTTTCGGGTTTTAGTGGGG  
GGGTGCACCTGCAGCAACCCACTACCCGCTGGCCGCCCTCTGTTCTGGTCTCCCAACACAT  
TTGCACACGCGTCATCACTCAGCAGTCTGTGCAGCAATGCTAATCCTTTTTCCCCTCAACAGG  
AAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCGTGGGTTCCTTGACAAGCTCAAGGC  
CGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTAC  
TATGTCACCGTCATTGGTATGTTTGATCCATCGCACTGCATCATTTGCCACAACATCATGCT  
AATgTCCTCTCACAGACGCT

> *T. atrobrunneum* 16

CGAGAAGGTAAGCTTCAACTGATTTTTCGCCTCGATTCTTCCTCCTTCACATTCAATTGTGCC  
CGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTTCATCACCCCGCTTTCCATTACCCC  
TCCTTTGCAGCGACGCAAAAATTTTTTTGCTGTCGTTTTGGTTTTTAGTGGGGTTCCTGTGC  
AACCCCACTAGCTCACTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCTAGTCATCATTCAACACG  
CTTTGTGGCTTTGGTCATTACAGCGATGCTAACCCTTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCGAAC  
TCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCG  
TGGTATCACCATCGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTC  
ATTGGTATGTCCTCATCAATCTCATGGTGCAACTGCGAGCTAGTGCTAACATGCAATTCAC  
AGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATCACTGT

> *T. afroharzianum* 17

CAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTTCATTACCCCTCCTTTGCAGC  
GACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTAGTGGGGTTCTCTGTGCAACCCCACTAGC  
TCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGTGCTCTGCGTCTTTG  
GTCATTCAAGCGACGCTAACCCTTTTACATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTT  
CCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCAT  
TGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTAAGTCTT  
CACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATTCACAGACGCTCCCGGC  
CACCGTGATTTTCAT

> *T. harzianum* 18

CACTCTTCTCCACATTCAATTGTGCCCCGACAATTCCGCAGAGAATTTTCGTGTGGACAATT  
TTTCATCACCCCGCTTTCATTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTT  
GGTTTTAGTGGGGTTTCTTGTCACCCCACTAGCTCACTACTTTTTTTCTGCTTCGCTCTCAC  
TTCCCAGCCATCATTCAACGTGCTCTGTGTCATCACTTTCAGCGATGCTAACCCTTTTCCA  
TCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAG  
CTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTC  
CCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTCTTTCATCAATTTACACAGCGATTACAAG  
CCAGTGCTAACAAAGCAATCACAGACGCTCCCG

> *T. afroharzianum* 19

TGTGCCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTTCAT  
TACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGTTCTCT  
GTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAAC  
GTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTCAAGCGACGCTAACCCTTTTACATCAATAGGAAGCCGCC  
GAACCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTG  
AGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCAC  
CGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGC

> *T. afroharzianum* 20

GAGAAGGTAAGCTTCAACTGATTTTCGTCTCGATTCTTCCCTCCTCCACATTCAATTGTGCCC  
GACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTTCATTACCCCT  
CCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGTTCTCTGTGCAAC  
CCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGTGCTCT  
GCGTCTTTGGTCATTCAAGCGACGCTAACCCTTTTACATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCG  
GCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGG  
TATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTG  
GTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATTCACAGAC  
GCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATCAC

> *T. afroharzianum* 21

AGTCGAGAAGGTAAGCTTCAACTGATTTTCGTCTCGATTCTTCCCTCCTCCACATTCAATTGT  
GCCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTTCATTAC  
CCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGTTCTCTGTG  
CAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGTG  
CTCTGCGTCTTTGGTCATTCAAGCGACGCTAACCCTTTTACATCAATARGAAGCCGCCGAA  
CTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGC  
GTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGT  
CATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATTCAC  
AGACGCTCC

> *T. afroharzianum* 22

ATTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTTCATCACCCCGCTTTCC  
ATTACCCCTCCTTTCCAGCGACGCAAATTTTTTTTTCTGTCGTTTGGTTTTAGTGGGGTTCT  
CTGTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCTCGTCATCATTCA  
ACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGCTAACCCTTTTCCATCAATAGGAAGCCGC  
CGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGT  
GAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCA  
CCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAA  
TCACAGACG

> *T. harzianum* 23

TGAGAAGGTAAGGTTCAAATGATTTTTGCCTCGATTTTCCCTCCAAAATCAAATGTGCCCG  
ACGATTCTGAAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTCGTACCCCGCTTTCCATTACCCCTC  
CTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTTGCTGTCTTTTGGTTTTAGTGGGGTTTTCTTGCGCACCC  
ACTAGCTCACTGCTTTTTTTTTATTTTTGGCTTCACTCTCACTTCCCCGCCATTCAACGTA  
CTGTGCTTTGGTCATTACAGCGATGCTAACCCTTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCGAAC  
GGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGT  
GTATCACCATCGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATT  
GGTATGTCTTCTTCATCAACTTCATGCTTCAATTGCAAGCCAGTGCTAACAGGC

> *T. harzianum* 24

GAATTTTCGTGGTCGACAATTTTCGTACCCCGCTTTCCATTACCCCTCCTTTGCAGCGAC  
GCAAATTTTTTTTTGCTGTCTTTTGGTTTTAGTGGGGTTTTCTTGTGCACCCCACTAGCTCACT  
GCTTTTTTTTTTTTTTTGGcTTCaCTCiCacTTCCCCGCCaTTCAACGTA  
ACTCTGTGTCTTTGGTC  
ATTACAGCGATGCTAACCCTTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCT  
TCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAAGTCAAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCG  
ACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTCTTCT  
TCATCAACTTCATGCTTCAATTGCAAGCCAGTGCTAACAGGCAATCACAGACGCTACCGC

> *T. afroharzianum* 25

TCAAGTTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTTCATCACCCCGCT  
TTCCATTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTAGTGGGG  
TTCTCTGTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCTCGTCATCA  
TTCAACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGCTAACCCTTTTACATCAATAGGAAG  
CCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGA  
GCGTGAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTAT  
GTCACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCA

> *T. gamsii* 26

CTTTATTGGCACAGTGGTGTGTCCGACAATCCTAGTTCTCAATCTTGCCAATTTTTCTCGC  
ATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCTCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTCTGGCT  
GCCTTGTTTCGGTTTTTAGTGGGGTGCCAGCTTTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGC  
TGTCCTCATCCATCGTCTTCAAAATTTGTTCACTCAATCGCATCTCATTCTCCGTGGTTC  
AATGTGCTGATCATGATTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCTTCAAG  
TATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTG  
CCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCT  
CATTGGCGTTTTCGAAATCATGATTCTAACGTGCCATTCTACAGACGCTCCCGGCCACCGTG  
ATTCATCAAGAACATGATC

> *T. afroharzianum* 27

TTCGAGAAGTTAACCTTAAACTGATTTTCGCCTGGATTTTTCCTCTCTTCACATTCAATTGTG  
CCCACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTGACAATTTTTCATCACCCCGCTTCCATTACC  
CCTCCTTTCCAGCGACGCAAATTTTTTTTTCTGTGCTTTGGTTTTTGTGGGGTTCTCTGTG  
AACCCACATAGCTCCCTGCTTTTTCCTGCTTCACTCTCACTTCCTCGTCATCATTCAACGTG  
CTCTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGTAACCCTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCGAA  
CTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGC  
GTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGT  
CATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATCAC  
A

> *T. afroharzianum* 28

TTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTGACAATTTTTCATCACCCCGCTTCCA  
TTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTGCTTTGGTTTTTGTGGGGttCtCT  
GTGCaacCCCACtAgCtCCcTgTTTTTcctGcttCactCtcAcTTCcTcGtCaTcaTTcaAcGTGctetGCGTcT  
TtGGTCatTcAgcGACgctAAcCaCTtTtACaTcaATAgGAaGcCGccGaAcTcgGcaAggGttccttcAAGTAC  
GcTtGggTCTTGAcAAGCTCAAgGCCgAGCGTGAgcGTGGTATCACCATTGACATTGcTCTGTG  
GAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCT  
GCAATTGCGGACCAGTGCTAAC

> *T. afroharzianum* 29

GTTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTGACAATTTTTCATCACCCCGCTTCC  
ATTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTGCTTTGGTTTTTGTGGGGTTCT  
CTGTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCCTGCTTCACTCTCACTTCCTCGTCATCATTCA  
ACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGTAACCCTTTTACATCAATAGGAAGCCG  
CCGAACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCG  
TGAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTC  
ACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTCGCGGACCAGTGCTAACAGGC  
AAT

> *T. gamsii* 30

TAGTTCTCAGTCTTGTCATTTTTTCTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCTCTACC  
CCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTTTGGTTTTTGTGGGGTGCCAGCT  
TTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTAACAATTTGTTC  
CTCAATCGCATCTCATCTTCTCTGTGGTTCAATGTGCTGATCATGATTCAATCAATAGGAAG  
CCGCCGAACCTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCAAGGCCGA  
GCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTAT  
GTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCAT

> *T. gamsii* 31

GAGAAGGTAAGCTAATTTCACTATTTTTATCACTACGCTTTATTGGCACAGTCGTGTGTCCG  
GCAATCCTGTTCTCAGTCTTGTCATTTTTTCTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTC  
TCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTTTGGTTTTTGTGGGGTG  
CCAGCTTTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTAACAAT  
TTGTTCACTCAATCGCATCTCATCTTCTCTGTGGTTCAATGTGCTGATCATGATTCAATCAA  
TAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTCTTGACAAGCTCA  
AGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAA  
GTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTTGAAATCATAATTC  
TAACGTGCCACTCTACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATCA

> *T. afroharzianum* 32

GAGAAGGTAACCTTCAACTGATTTTCGCCTCGATTCTTCCTCTCTTCACATTCAATTGTGCC  
CGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTCCATTTACCC  
CTCCTTTCCAGCGACGCAAATTTTTTTTTCTGTGCTTTGGTTTTTAGTGGGGTTCTCTGTGCA  
ACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGTGCT  
CTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGCTAACCCTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCGAAC  
CGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGT  
GGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCA  
TTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATTCACA  
GACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATCA

> *T. afroharzianum* 33

TCAATTGTGCCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTT  
TCCATTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGT  
TCTCTGTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCAT  
TCAACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGCTAACCCTTTACATCAATAGGAAGC  
CGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGTAAAGGCCGAGC  
GTGAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGT  
CACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGC  
AATTCACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGT

> *T. harzianum* 34

AGCCCGACGATTTCCTGAAGAAGAATTTTCGTAGTCGACAATTTTTCGTCACCCCGCTTTCCA  
TTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTTGCTGTCCTTTTGGTTTTTAGTGGGGTTTCTT  
GTGACCCCCCTAGCTCCCTGCTTTTTTTTTTTTTTTGGCTTCACTCTCACTTCCCCGCCATT  
CAACGTA CTGTGCTTTTGGTCATTACAGCGATGCTAACCCTTTCCATCAATAGGAAGCC  
GCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGC  
GTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGT  
CACCGTCATTGGTATGTCTTCTTCATCAACTTCATGCTTCAATTGCAAGCCAGTGCTAACAG  
GCAATCACAGACGCT

> *T. afroharzianum* 35

TCGAGAAGGTAAGCTTCAACTGATTTTCGCCTCGATTCTTCCTCCTCCACATTCAATTGTGC  
CCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTCCATTTACCC  
CTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGTTCTCTGTGCA  
ACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGTGCT  
CTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGCTAACCCTTTACATCAATAGGAAGCCGCCGAAC  
CGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGT  
GGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCA  
TTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATTCACA  
GACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATCAC

> *T. afroharzianum* 36

TTCTCCTCCACATTCAATTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTT  
TCATCACCCCGCTTCCATTTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTTGCTGTCGTTT  
GTTTTTAGTGGGGTTCTCTGTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCAC  
TTCTCGTCATCATTCAACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTACAGCGACGCTAACCCTTTA  
CATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACA  
AGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGAC  
TCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGAC  
CAGTGCTAACAGGCAATTCACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATC  
AC

> *T. afroharzianum* 37

TTCTCCTCCACATTCAATTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTT  
TCATCACCCCGCTTTCCATTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTGGCTGTCGTTTG  
GTTTTAGTGGGGTTCTCTGTGCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTTCTGCTTCACTCTCAC  
TTCTCGTCATCATTCAACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTTCAGCGACGCTAACCCTTTTA  
CATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACA  
AGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTTCGAGAC  
TCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGAC  
CAGTGCTAACAGGCAATTCACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATC  
AC

> *T. afroharzianum* 38

ACTCGCTTCTTCCTCCTCCACATTCAATTGTGCCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTC  
GACAATTTTTTCATCACCCCGCTTTCCATTACCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTTGC  
TGTCGTTTGGTTTTAGTGGGGTTCTCTGGtGCAACCCCACTAgCTCCCTGCTTTTTCTGCTT  
CACTCTCACTTCTCGTCATCATTCAACGTGCTCTGCGTCTTTGGTCATTTCAGCGACGCTAA  
CCACTTTTACATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCCCTTCAAGTACGCTTGGG  
TTCTTGACcAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGA  
AGTTTCGAGACTCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGC  
AATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATtCACAGACG

> *T. gamsii* 39

ACTATTTTTATCACTACGCTTTATTGGCACAGTGGTGTGTCCGACAATCCTGTTCTCAATCT  
TGCCAATTTTTTCTCGCATCGTCACACCCCGCTYTACCTGTCTCTACCCCTCCTTTGGCACA  
GCAAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTTCCGGTTTTTAGTGGGGTGCCAGCTTTTTTTTTTCTGGCA  
ACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTACAATTTGTTCACTCAATCGCATC  
TCAWTTTCTCCGTGGTTCAATGTGCTGATCATGATTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTC  
GGCAAGGGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTG  
GTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCAAGTACTATGTCACCGTCATT  
GGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTCGAAATCATGATTCTAACGTGCCATTCTACAGA  
CGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAA

> *T. atroviride* 40

TCTGTCCTCAGTCTTGTCAATTTTTCTTCGCGAGCATCACACCCCGCTTTCCTGTCTACCCCTC  
CGTTGGCACAGCAAAAATTTTCTGGCTGCCTTGCTTGTCTTTTAGTGGGGTGCCAACTTTTT  
GTTTGGCTGCAACCCCGCTATCGCCACTGTCCCTCTGTCCCAACGAATTGTACTCGCTCAAT  
TGCATCGTCTTCTGCCTCCATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAG  
GAAGCCGCCGAGCTCGGCAAGGGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGG  
CCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCAAGTA  
CTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTCGCTGTTCTCATTGACACTTGGAGACCATC

> *T. gamsii* 41

CGAGAAGGTAAGCTAATTTCACTATTTTTATCACTACGCTTTATTGGCACAGTGGTGTGTCC  
GACAATCCTGTTCTCAATCTTGCCAATTTTTTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTGTCT  
CTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTTCCGGTTTTAGTGGGGTGC  
CAGCTTTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTACAATT  
TGTTCACTCAATCGCATCTCATTTTCTCCGTGGTTCATGTGCTGATCATGATTCAATCAAT  
AGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAA

GGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAG  
TACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTCGAAATCATGATTCT  
AACGTGCCATTCTACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGA

> *T. afroharzianum* 42

TGCCCCACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGTCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTTCCATTA  
CCCCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGTCTCTGT  
GCAACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGT  
GCTCTGCGTCTTTGGTCATTCAGCGACGCTAACCACTTTTACATCAATAGGAAGCCGCCGA  
ACTCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAG  
CGTGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCG  
TCATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATTGCGGACCAGTGCTAACAGGCAATTC  
ACAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGA

> *T. afroharzianum* 43

CCCGACAATTCTGCAGAGAATTTTCGTGCCGACAATTTTTCATCACCCCGCTTTCCATTACC  
CCTCCTTTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGTCGTTTGGTTTTTAGTGGGGTCTCTGTGC  
AACCCCACTAGCTCCCTGCTTTTTCTGCTTCACTCTCACTTCCCTCGTCATCATTCAACGTGC  
TCTGCGTCTTTGGTCATTCAGCGACGCTAACCACTTTTACATCAATAGGAAGCCGCCGAAC  
TCGGCAAGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCG  
TGGTATCACCATTGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTC  
ATTGGTAAGTCTTCACTAAGTTCATGCTGCAATT

> *T. atroviride* 44

ATTTTTCTTCGCAGCATCACACCCCGCTTTCCTGTCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAAA  
TTTTCTGGCTGCCTTGTCTGTTTTAGTGGGGTGCCAACTTTTTGTTTGGCTGCAACCCCGC  
TATCGCCACTGTCCCTCTGTCCCAACGAATTGTACTCGCTCAATTGCATCGTCTTCTGCCTC  
CATCTCTGTGTGGTTCATTGTGCTAATCATGCTTCAATCAATAGGAAGCCGCCGAGCTCGG  
CAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGT  
ATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTG  
GTATGTTTTCGCTGTTCC

> *T. gamsii* 45

TCGAGAAGGTAAGCTAATTTCACTATTTTTATCACTACGCTTTATTGGCACAGTCGTGTGTC  
CGGCAATCCTGTTCTCAGTCTTGTCATTTTTTCTCTCGCATCGTCACACCCCGCTCTACCTG  
TCTCTACCCCTCCTTTGGCACAGCAAAAATTTTCTGGCTGCCTTGTGGTTTTTAGTGGGG  
TGCCAGCTTTTTTTCTGGCAACCCCGCTAATCGCCGCTGTCCCTCATCCATCGTCTTAACA  
ATTTGTTCACTCAATCGCATCTCAYCTTCTCTGTGGTTCATGTGCTGATCATGATTCAATC  
AATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCAAGGGTCTTTCAAGTATGCGTGGGTTCTTGACAAGCT  
CAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTATCACCATCGACATTGCCCTCTGGAAGTTCGAGACTCCC  
AAGTACTATGTCACCGTCATTGGTATGTTTTAGTATCCTCATTGGCGTTTCGAAATCATGAT  
TCTAACGTGCCACTCTAAGACGCTCCCGGCCACCGTGATTTTC

> *T. guizhouense* 46

GAGAAGGTAAGCTTCAACTGATTTTCGCCTCGATTCCCTTCTTTCATATTCAATTGTGCC  
GACAATTCTTCAGACTTTTTGGGTCGACAATTTTTCGTCACCCCGCTTTCCATTACCCCTCCT  
TTGCAGCGACGCAAATTTTTTTGCTGCCGTTTGATTTTTAGTGGGGTCTCTGTGCAACCC  
CACTAGCTCACTGCTTTTTTTGCTGCTTCACTTCCAGTCATCATTCAACGTGATCTGTG  
TCTTTGGTTATTCAACGATGCTAACCACTTTTCCATCAATAGGAAGCCGCCGAACCTCGGCA  
AGGGTTCCTTCAAGTACGCTTGGGTTCTTGACAAGCTCAAGGCCGAGCGTGAGCGTGGTAT  
CACCATCGACATTGCTCTGTGGAAGTTCGAGACTCCCAAGTACTATGTCACCGTCATTGGT  
ATGTCTACTTCATCAACTTCATGCTGCAATTGCAACCCAGTGCTAACAGGCAATTCACAGA  
CGTCCCGGCCACCGTGATTTTCATCAAGAACATGATCAC

### Annexe 3

Analyse de la variance des isolats pour l'indice de la maladie sur collet

Tests Univariés de Significativité pour disease index : Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	<b>SC</b>	<b>Degr. de</b>	<b>MC</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>ord. origine</b>	7,11770	1	7,117704	213,3267	0,000000
<b>isolates</b>	10,83042	5	2,166084	64,9203	0,000000
<b>Erreur</b>	0,60058	18	0,033365		

Analyse de la variance de la confrontation directe des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *R.solani*

Tests Univariés de Significativité pour diametre of mycelial growth (mm) (rhizoctonia Directe) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
<b>ord. origine</b>	190153,8	1	190153,8	44537,68	0,00
<b>isolates</b>	9818,9	46	213,5	50,00	0,00
<b>Erreur</b>	401,3	94	4,3		

ANOVA de la confrontation indirecte des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *R.solani*

Tests Univariés de Significativité pour diametre of mycelial growth (mm) ( Rhizoctonia Indirecte) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
<b>ord. origine</b>	329488,3	1	329488,3	2810,348	0,00
<b>isolates</b>	41649,0	46	905,4	7,723	0,00
<b>Erreur</b>	11020,7	94	117,2		

ANOVA de la confrontation directe des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *A.solani*

Tests Univariés de Significativité pour mycelial growth (mm) <i>Alternaria</i> Directe ) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
<b>ord. origine</b>	106658,8	1	106658,8	27543,74	0,00
<b>isolates</b>	4617,2	46	100,4	25,92	0,00
<b>Erreur</b>	364,0	94	3,9		

ANOVA de la confrontation indirecte des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *A.solani*

Tests Univariés de Significativité pour mycelial growth (mm) ( <i>Alternaria</i> Indirect) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
<b>ord. origine</b>	104524,3	1	104524,3	22778,86	0,00
<b>isolates</b>	2639,4	46	57,4	12,50	0,00
<b>Erreur</b>	431,3	94	4,6		

ANOVA de la confrontation directe des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *B. cinerea*

Tests Univariés de Significativité pour mycelial growth (mm) ( <i>botrytis</i> Directe) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
<b>ord. origine</b>	94900,45	1	94900,45	19143,01	0,00
<b>isolates</b>	8813,55	46	191,60	38,65	0,00
<b>Erreur</b>	466,00	94	4,96		

ANOVA de la confrontation indirecte des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *B. cinerea*

Tests Univariés de Significativité pour mycelial growth (mm) (botrytis indirecte) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
ord. origine	58458,45	1	58458,45	12779,29	0,00
isolates	2742,55	46	59,62	13,03	0,00
Erreur	430,00	94	4,57		

ANOVA de la confrontation indirecte des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *F. culmorum*

Tests Univariés de Significativité pour diametre of mycelial growth (mm) (fusarium Indirect) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
ord. origine	615120,3	1	615120,3	63961,63	0,00
isolates	3870,7	46	84,1	8,75	0,00
Erreur	904,0	94	9,6		

ANOVA de la confrontation directe des 46 isolats de *Trichoderma* spp. contre *F. culmorum*

Tests Univariés de Significativité pour diametre of mycelial growth (mm) (fusarium Direct) Paramétrisation sigma-restreinte Décomposition efficace de l'hypothèse					
	SC	Degr. de	MC	F	p
ord. origine	183601,0	1	183601,0	58044,27	0,00
isolates	8649,6	46	188,0	59,45	0,00
Erreur	297,3	94	3,2		

## Annexe 4

Corrélations entre confortation directe et indirecte (*Alternaria solani*)

Variable	Corrélations (Feuille) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=138 (Observations à VM ignorées)		
	isolats	diametre de colonies confrontation directe alternaria	diametre de colonies confrotation indirecte Alernaria
isolats	1,00	0,03	0,17
diametre de colonies confrontation directe alternaria	0,03	1,00	0,11
diametre de colonies confrotation indirecte Alernaria	0,17	0,11	1,00

Corrélations entre confortation directe et indirecte (*Botrytis cineria*)

Corrélations (Feuille de données1) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=138 (Observations à VM ignorées)			
Variable	Var1	diamètre de colonies confrontation directe Botrytis	diamètre de colonies confrontation Indirecte Botrytis
Var1	1,00	0,33	0,17
diamètre de colonies confrontation directe Botrytis	0,33	1,00	0,14
diamètre de colonies confrontation Indirecte Botrytis	0,17	0,14	1,00

Corrélations entre confortation directe et indirecte (*Fusarium culmorum*)

Corrélations (Feuille de données Fusarium) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=138 (Observations à VM ignorées)			
Variable	Isolats	Diamètre de colonies confortation directe Fusarium	Diamètre de colonies confrontation indirecte
Isolats	1,00	0,03	0,10
Diamètre de colonies confortation directe Fusarium	0,03	1,00	0,27
Diamètre de colonies confrontation indirecte	0,10	0,27	1,00

Corrélations entre confortation directe et indirecte (*Rhizoctonia solani*)

Corrélations (correlation Rhizoctonia s) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=138 (Observations à VM ignorées)			
Variable	Diamètre de colonies confrontation Directe (Rhizoctonia s)	Diamètre de colonies confrontation Indirecte (Rhizoctonia s)	
Diamètre de colonies confrontation Directe (Rhizoctonia s)	1,00	0,14	
Diamètre de colonies confrontation Indirecte (Rhizoctonia s)	0,14	1,00	

Corrélations entre l'indice de maladie et la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* en confortation directe

Variable	Corrélations (Corre indice de maladie (directe)) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=14 (Observations à VM ignorées)	
	diamètre de colonie de fusarium confroté au tricho( Directe)	Indice de maladie (Fusarium/ Trichoderma)
diamètre de colonie de fusarium confroté au tricho( Directe)	1,00	0,02
Indice de maladie (Fusarium/ Trichoderma)	0,02	1,00

Corrélations entre l'indice de maladie et la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* en confrotation indirecte

Variable	Corrélations (Feuille de données1) Corrélations significatives marquées à p < ,05000 N=20 (Observations à VM ignorées)	
	Indice de Maladie fusarium	Diamètre des colonies Fusarium ( Conf Indirecte)
Indice de Maladie fusarium	1,00	0,25
Diamètre des colonies Fusarium ( Conf Indirecte)	0,25	1,00