**Nom et Prénom : OUAZZANI CHAHDANI ABDELLATIF**
**Date de soutenance : 12 /12/2020**
**Directeur de Thèse : A.OUAZZANI TOUHAMI**

***Sujet de Thèse :***

# Production et formulation d'un biofongicide à base d'une souche marocaine de Trichoderma asperellum et bioessais sur la culture de la tomate contre Verticillium dahliae et Botrytis cinerea

***Résumé :***

La production et la formulation d'un produit biofongicide et biostimulant à base d'une souche marocaine de Trichoderma asperellum enregistrée sous le code Banklt1902509 SMis 1 KU987252 RAB 95369, caractérisée par sa capacité de tolérer les conditions méditerranéennes, ainsi que le recyclage des déchets de production pour préparer un compost utilisé dans l'agriculture comme biofertilisant.

L'ensemble des tests réalisés in vitro et in vivo a permis de développer un produit à base d'un champignon à une formulation visqueuse capable d'être conserver à une température ambiante ou à une basse température arrivée à 4°C pendant plus de 38 semaine en gardant son pouvoir antagoniste et biostimulant par rapport à d'autres formulations. In vitro, le pouvoir antagoniste du champignon formulé est vérifié. Les pourcentages de colonisation et d'inhibition contre Verticillium dahliae sont respectivement de 79.58 et 39.24 % à la température ambiante et respectivement de 81.49 et 44.99 % à 4°C. Les pourcentages de colonisation et d'inhibition contre Botrytis cinerea sont respectivement de 62.66 et 43.66 % à la température ambiante et respectivement de 75 et 45.09 % à 4°C.

In vivo, le traitement foliaire ou racinaire des plantes de tomate et de fraisier par le produit de Trichoderma a permis de réduire de l'incidence de la maladie causée par Verticillium dahliae et Botrytis cinerea ainsi qu'il a permis de stimuler le développement des paramètres agronomiques de ces plantes. Le poids frais de l'épicotyle des plantes de tomate traitées par le produit et inoculées par Verticillium dahliae est de 123.93 g par rapport à 99.9 g de témoin sain avec une réduction de 100 % de l'indice de rabougrissement et une réduction de 64.07 % de l'indice de l'altération foliaire après trois mois sous les conditions de la serre. Le traitement des plantes de fraisier par le produit et inoculation par Botrytis cinerea ont aboutit à la réduction de la maladie avec plus de 95 % après le troisième traitement sous la serre.

L'application du produit en combinaison avec d'autre produit d'origine biologique ou chimique a montré une compatibilité remarquable avec le produit phytosanitaire de synthèse (Switch). Ils ont assuré une protection des plantes de fraisier contre Botrytis cinerea et une amélioration des paramètres agronomiques.

Les tests de tolérance in vitro ont montré que la souche sélectionnée est capable de supporter les conditions de stress abiotique dont la croissance diamétrale sur milieu solide est arrivée à 60.8, 22.2, 31.8 et 5 mm en présence respectivement de 1000 mg.L-1 de Fer, Zinc, Cuivre ou Soufre par rapport à 68.1 mm de témoin. Et à la même concentration de ces quatre éléments, la croissance pondérale dans le milieu liquide est arrivée respectivement à 7.003, 3.64, 0.364 et 2.342 g par rapport à 9.761 g de témoin. Elle a montré également une forte activité antagoniste contre Verticillium dahliae soit par compétition soit par antibiose dont le pourcentage d'inhibition de la croissance en présence de 1000 mg/L de chacun des éléments étudiés a dépassé 67 %.

L'utilisation de ce produit dans l'agriculture intégrée est une approche qui permet de réduire l'utilisation des produits chimiques conventionnels et donc réduire les effets indésirables sur l'environnement et la santé humaine.

**Mots clés** : Production, formulation, recyclage, Additif, Trichoderma asperellum, Tomate, Fraisier, Verticillium dahliae, Botrytis cinerea, Lutte biologique, compatibilité..

***Abstract :***

The production and formulation of a biofungicide and biostimulant product based on a Moroccan Trichoderma asperellum strain registered under Banklt1902509 SMis 1 KU987252 RAB 95369, characterized by its ability to tolerate Mediterranean conditions, as well as the recycling of production waste to prepare a compost used in agriculture as biofertiliser.

All the tests carried out in vitro and in vivo have made it possible to develop a product based on a fungus with a viscous formulation able to be stored at an ambient temperature or at a low temperature reached at 4°C for more than 38 week by retaining its antagonistic and biostimulating power compared to other formulations. In vitro, the antagonist power of the formulated fungus is checked. The percentages of colonization and inhibition against Verticillium dahliae are respectively 79.58 and 39.24% at room temperature and respectively 81.49 and 44.99% at 4°C. The percentages of colonization and inhibition against Botrytis cinerea are respectively 62.66 and 43.66% at room temperature and respectively 75 and 45.09% at 4°C.

In vivo, foliar or root treatment of tomato and strawberry plants with the product of Trichoderma has reduced the incidence of disease caused by Verticillium dahliae and Botrytis cinerea and has stimulated development of agronomic parameters of these plants. The fresh weight of the epicotyl of tomato plants treated with the product and inoculated with Verticillium dahliae is 123.93 g compared to 99.9 g of healthy control with a 100 % reduction in stunting index and a reduction of 64.07% in the index of foliar alteration after three months under greenhouse conditions. The treatment of strawberry plants with the product and inoculation with Botrytis cinerea resulted in disease reduction with more than 95% after the third treatment in the greenhouse.

The application of the product in combination with other biological or chemical products showed a compatibility with the synthetic plant protection product (Switch). They ensured protection of strawberry plants against Botrytis cinerea and improved agronomic parameters.

in vitro tolerance tests have shown that the selected strain is able to withstand abiotic stress conditions whose diametric growth on solid medium reached 60.8, 22.2, 31.8 and 5 mm in the presence of 1000 mg.L-1 of Iron, Zinc, Copper or Sulphur respectively compared with 68.1 mm of control. And at the same concentration of these four elements, the weight growth in the liquid medium reached 7.003, 3.64, 0.364 and 2.342 g respectively compared to 9.761 g of control. It also showed a high antagonist activity against Verticillium dahliae either by competition or by antibiosis with a growth inhibition rate of 1000 mg/L in each of the studied elements exceeding 67 %.

The use of this product in integrated agriculture is an approach that reduces the use of conventional chemicals and therefore reduces adverse effects on the environment and human health.

**Keywords**: Production, formulation, recycling, Additive, Trichoderma asperellum, Tomato, Strawberry, Verticillium dahliae, Botrytis cinerea, Biological control, compatibility.

**الملخص:**

بالاعتماد على سلالة فطرية مغربية الأصل، تنتمي لفصيلة *Trichoderma asperellum* و مسجلة تحت رقم Banklt1902509 SMis 1 KU987252 RAB 95369، تم إنتاج و صياغة مضاد للفطريات و عامل محفز للنمو. تتميز هذه السلالة بقدرتها على تحمل الظروف المميزة لمنطقة البحر الأبيض المتوسط فضلاً عن إعادة تدوير مخلفات الإنتاج لإعداد سماد حيوي يمكن استخدامه في الزراعة.

جميع الاختبارات التي أجريت في المختبر وفي الجسم الحي جعلت من الممكن تطوير منتج على قاعدة الفطر مع تركيبة لزجة قادرة على الاحتفاظ به لأكثر من 38 أسبوعًا في درجة حرارة الغرفة أو عند درجة حرارة منخفضة تصل إلى 4 درجات مئوية مع الحفاظ على قوتها المناهضة والمحفزة للحيوية مقارنة مع المستحضرات الأخرى. في المختبر تم التحقق من القوة المعادية للفطر المصاغ. النسب المئوية للاستعمار و الكبح ضد *Verticillium dahliae* هي 79.58 و 39.24 ٪ على التوالي في درجة حرارة

الغرفة و 81.49 و 44.99 ٪ على التوالي في 4 درجات مئوية. النسب المئوية للاستعمار و الكبح ضد *Botrytis cinerea* هي 62.66 و 43.66 ٪ على التوالي في درجة حرارة الغرفة و 75 و 45.09 ٪ على التوالي في 4 درجات مئوية.

على مستوى النبتة، أدى العلاج الورقي أو الجذري لنباتات الطماطم والفراولة باستخدام المنتج *Trichoderma* إلى تقليل حدوث المرض الناجم عن *Verticillium dahliae* و *Botrytis cinerea* وكذلك حفز تطوير المعايير الزراعية لهذه النباتات. يبلغ الوزن الطازج للجزء الهوائي لنبات الطماطم الذي يتم معالجته بالمنتج والملقح بـ *Verticillium* dahliae إلى 123.93 جم مقارنة مع 99.9 جم بالنسبة للنبات الشاهد مع انخفاض بنسبة 100 ٪ في مؤشر التقزم وانخفاض 64.07 ٪ في مؤشر تلون الأوراق بعد ثلاثة أشهر تحت ظروف البيوت البلاستيكية. قللت معالجة نباتات الفراولة بالمنتج والملقحة بـ *Botrytis cinerea* من المرض بأكثر من 95٪ بعد المعالجة الثالثة في البيوت البلاستيكية.

أظهر تطبيق المنتج بالاقتران مع منتج آخر ذي أصل بيولوجي أو كيميائي توافقًا ملحوظًا مع المنتج الاصطناعية (Switch). إذ توفر حماية نبات الفراولة ضد *Botrytis cinerea* وتحسين المعايير الزراعية.

أظهرت الاختبارات الأولية في المختبر أن السلالة المختارة قادرة على تحمل ظروف الإجهاد اللاأحيائي حيث بلغ نمو قطرها المتوسط إلى 60.8 و 22.2 و 31.8 و 5 ملم على التوالي بوجود 1000 ملغم من الحديد أو الزنك أو النحاس أو الكبريت مقارنة بـ 68.1 ملم بالنسبة للشاهد. في نفس تركيز هذه العناصر الأربعة ، كان نمو الوزن في الوسط السائل 7.003 ، 3.64 ، 0.364 و 2.342 جم مقارنة بـ 9.761 جم بالنسبة للشاهد. كما أظهر أيضًا نشاطًا قويًا ضدّ *Verticillium dahliae* إما عن طريق المنافسة أو عن طريق مضاد للجراثيم التي تزيد نسبة كبح نموه عن 67٪ بوجود 1000 مجم / لتر من كل عنصر من العناصر التي شملتها الدراسة.

استخدام هذا المنتج في الزراعة المتكاملة هو نهج يقلل من استخدام المواد الكيميائية التقليدية وبالتالي يقلل من الآثار الضارة على البيئة وصحة الإنسان.

**الكلمات المفتاحية :** الإنتاج ، الصياغة ، إعادة التدوير ، المضافات ، *Trichoderma asperellum*، الطماطم ، الفراولة ، *Verticillium dahliae*، *Botrytis cinerea* ، المكافحة البيولوجية ، التوافق.