

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Frères Mentouri Constantine 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et de Biologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biochimie
Option : Biochimie Appliquée

**Isolement et caractérisation macroscopique des
champignons du genre *Trichoderma* présents
dans différents sols rhizosphériques d'Algérie**

Présenté par :

- MOKRANE Aïmen kheirddine.
- KHALGUIA NourElHouda.

Devant le jury :

- Président du jury : Prof. KHELIFI Douadi. (UFMC1)
- Examineur: Dr BECHKRI Sakina. (UFMC1)
- Encadreur : Dr BELLIL Inès. (UFMC1)

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu, tout puissant, de nous avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les Difficultés.

Un remerciement spécial pour notre encadreur **Mme BELLIL Ines** maitre de conférence à la Faculté des SNV (Université des frères mentouri), qui nous a beaucoup aidé et retenue la longue de la rédaction de ce mémoire et qui nous a orienté avec ses conseils et surtout merci pour sa patience. Merci pour votre gentillesse, vos précieux conseils et votre soutien à tous les instants, soyez rassuré de notre profonde gratitude et notre respectueuse considération vos qualités scientifiques et humaines resteront à jamais pour nous l'exemple.

Toutes nos gratitudes doivent aller également au Professeur **KHELIFI Douadi**, la maitre-de Conférences, **BECHKRI Sakina** d'avoir accepté de juger ce travail.

Un grand merci va à Mr **Bouanaka Hamza** pour toute l'aide qu'il nous a apporté au cours de notre pratique, pour l'accueil et les orientations
Pour sa compréhension et son soutien.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à nos parents, frères et Sœurs ainsi qu'à toute personne qui a contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Chaque jour qui passe je remercie Allah, et je le pris tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.

Ce modeste travail est dédié :

À tous ceux qui mon soutenus soit de près et de loin.

Aux deux chères personnes au monde qui ont été toujours à mes cotés

Tous au long mon parcours, Mon père et Ma mère à qui je dois le

Mérite d'en arriver là.

A mes chers frères : Abdellatif, et Nessim.

A mes chères sœurs : Sameh, Manel et Ouissal.

A mon aimable Lilia et sa famille.

A tous mes amis et mes camarades de promo biochimie appliqué pour les moments Inoubliables passés ensemble.

A tous ceux qui je n'ai pas cité ici et qui ont une place dans mon coeur.

A tous ceux qui m'aiment et qui m'ont encouragé.

Aimen

Dédicace

Je tien en tout premier lieu à remercier le bon dieu Allah le Tout puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.

*A l'homme de ma vie mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir qui m'a élevé, éduqué et m'a donné les actes les plus nobles de ma vie pour grandir dans un environnement sain : Mon père **Mohamed**.*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur celui qui a fait beaucoup de sacrifices pour m'offrir les conditions propices à ma réussite : Ma mère **Fatiha**.*

Que Dieu vous garde et m'aide à vous rendre heureux et fiers de moi.

A mes chers frères "Taki Eddine " "Salah Eddine " et "Badr Eddine " qui ont été un soutien morale généreux et précieux pendant toutes mes années d'études.

Soutien moral précieux A mes amies " Ahlem " "Nour Djihane " et " Rania " qui ont toujours su répondre Présentes A Chaque Fois Que j'avais Besoin d'elles.

*A ma tante **Nacima***

*A mon oncle **yacine***

*A ma cousine **Ines***

*Un Spéciale Dédicace A Ma cousine **Sarah Neghiche**
A Tous ceux qui utilisent la science pour le bonheur et la prospérité de l'humanité.*

NourElHouda

Liste des abréviations

- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique
- **ATP** : Adénosine triphosphate
- **Av. J. -C** : avant Jésus-Christ
- **Bt** : Bactérie pathogène aux insectes
- **CMD**: Corn Meal Dextrose agar
- **CO₂**: Dioxyde de carbone
- **DDT** : Dichlorodiphényltrichloroéthane
- **FAO**: Food and agriculture organization of the United Nations
- **OCDE** : Organisation de coopération et de développement économique
- **OILB** : Organisation internationale de lutte biologique
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **PIPs** : Plant Incorporated-Protectants
- **pH** : Potentiel hydrogène
- **Spp** : *species plurimae* (plusieurs espèces)

Résumé

L'objectif visé dans cette étude est l'isolement et la caractérisation des souches de *Trichoderma* sp présentes dans les sols agricoles d'Algérie. Pour cela 85 échantillons de sols rhizosphériques ont été collectés à partir de plusieurs régions et différentes conditions environnementales et écogéographiques. L'isolement de *Trichoderma* sp a été effectué en utilisant la méthode de suspension-dilution et l'étalement en surface sur milieu PDA, tandis que l'identification a été basée sur l'aspect macroscopique des souches purifiées après plusieurs repiquages. Les résultats d'isolement ont permis d'obtenir 17 isolats de *Trichoderma* sp (T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25, T26, T27, T28, T29, T30, T31 et T32) dont une grande proportion se trouvent essentiellement dans la wilaya de Constantine. D'un autre côté, 41,18% ont été présents dans la rhizosphère du blé. Ces 17 isolats ont été divisés en 10 groupes selon leur ressemblance morphologique ce qui montre une biodiversité plus au moins importante du genre *Trichoderma* en Algérie. Les prochains défis pour chercheurs seront de sélectionner les souches antagonistes aux champignons phytopathogènes afin de réduire les problèmes des maladies dans le secteur agricole.

Mots clés : *Trichoderma*, rhizosphère, antagonistes, biodiversité, phytopathogènes, agricole.

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو عزل وتحديد خصائص سلالات *التريكوډارما* المتواجدة في التربة الزراعية الجزائرية، حيث تم جمع 85 عينة من التربة المحيطة بالجذور لعدة مناطق ذات ظروف بيئية وجغرافية مختلفة.

عزل الفطر تم باستعمال تقنية (تخفيف-معلق) و استعمال (جيلوز دكستروز البطاطا) كوسط مغذي، بينما استند تحديد النوع إلى المظهر العياني للسلاطات المنقاة بعد عدة مرات من اعادة العزل.

أسفرت نتائج العزل و التنقية عن 17 عزلة من *التريكوډارما* توجد نسبة كبيرة منها بشكل رئيسي في ولاية قسنطينة. من ناحية أخرى كان 41.18% من العزلات موجوداً في مزارع القمح. هذه العزلات السبعة عشر تم تقسيمها إلى 10 مجموعات حسب التشابه المورفولوجي وهذا يدل تنوع البيولوجي كبير إلى حد ما لجنس *التريكوډارما* في الجزائر. ستمثل التحديات التالية للباحثين في اختيار سلالات *التريكوډارما* معادية للفطريات الممرضة للنبات من أجل الحد من مشاكل الأمراض في القطاع الزراعي.

الكلمات المفتاحية: تريكوډارما، تربة زراعية، المعاديين، الممرضات النباتية، زراعي، التنوع البيولوجي.

Abstract:

The objective of this study is the isolation and characterization of the strains of *Trichoderma* sp present in agricultural soils in Algeria. For this, 85 rhizospheric soil samples were collected from several regions and different environmental and ecogeographic conditions.

The Isolation of *Trichoderma* sp was performed using the suspension-dilution method and PDA as a nutrient medium, while the identification was based on the macroscopic appearance of the strains purified after several subcultures.

The isolation results 17 isolates of *Trichoderma* sp (T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25, T26, T27, T28, T29, T30, T31 and T32) a large proportion of which are found mainly in the wilaya of Constantine. further, 41.18% was present in the rhizosphere of wheat. These 17 isolates were divided into 10 groups according to their morphological resemblance, this indicates a fairly large biological diversity for the *Trichodarma* genus in Algeria.

The next challenges for researchers will be to select strains that are antagonistic to phytopathogenic fungi in order to reduce disease problems in the agricultural sector.

Key words: *Trichoderma*, rhizosphere, antagonists, biodiversity, phytopathogenes, agricol.

Sommaire

| | |
|--|----|
| Introduction..... | 1 |
| Chapitre 1 : Synthèse bibliographique | |
| I. La lutte biologique | 4 |
| 1. Historique..... | 4 |
| 2. Définitions..... | 5 |
| 3. Les méthodes de la lutte biologique..... | 5 |
| 3.1. La méthode classique ou par acclimatation..... | 5 |
| 3.2. La méthode néoclassique..... | 6 |
| 3.3. La méthode inondative..... | 6 |
| 3.4. La méthode inoculative..... | 6 |
| 3.5. La lutte biologique par conservation..... | 6 |
| 4. Application des champignons dans la lutte biologique par inondation..... | 7 |
| 4.1. La lutte biologique contre les arthropodes par les champignons entomopathogènes...7 | |
| 4.2. La lutte biologique contre les nématodes par les champignons nématophages.....7 | |
| 4.2.1. Les champignons prédateurs..... | 8 |
| 4.2.2. Les champignons ovicides..... | 8 |
| 4.2.3. Les champignons nématophages à spores adhésives..... | 8 |
| 4.3. La lutte biologique contre les phytopathogènes par les champignons antagonistes...9 | |
| 3. Objectifs de la lutte biologique..... | 9 |
| II. Les biopesticides..... | 10 |
| 1. Généralités..... | 10 |
| 2. Définition..... | 10 |
| 3. Les différentes catégories de biopesticides..... | 10 |
| 3.1. Biopesticides microbiens..... | 10 |
| 3.1.1. Les bactéries..... | 10 |
| 3.1.2. Les virus..... | 11 |
| 3.1.3. Les champignons..... | 11 |
| 3.2. Biopesticides végétaux..... | 11 |
| 3.2. Biopesticides animaux..... | 12 |
| III. Le genre <i>Trichoderma</i> | 13 |
| 1. Généralités..... | 13 |
| 2. Définition..... | 13 |
| 3. Taxonomie de <i>Trichoderma</i> | 14 |
| 4. Cycle biologique..... | 15 |

Sommaire

| | |
|--|----|
| 5. Ecologie..... | 15 |
| 6. Mode d'action..... | 16 |
| 6.1. Compétition..... | 16 |
| 6.2. Mycoparasitisme..... | 16 |
| 6.3. Antibiose..... | 17 |
| 7. Utilisation de <i>Trichoderma</i> dans la lutte biologique..... | 18 |
| 8. Caractères du genre <i>Trichoderma</i> | 18 |
| 8.1. Caractères Macroscopiques et cultureux..... | 18 |
| 8.2. Morphologie microscopique..... | 19 |
| 9. Pouvoir pathogène..... | 21 |
| IV. La rhizosphère..... | 23 |
| 1. Généralités..... | 23 |
| 2. Définition..... | 23 |
| 3. Structure de la rhizosphère..... | 23 |
| 4. Microflore rhizosphérique..... | 24 |
| 5. Activité de la rhizosphère..... | 24 |
| 6. Effet rhizosphérique..... | 25 |
| 7. Facteurs déterminants la richesse et l'activité microbienne de la rhizosphère..... | 25 |
| 8. Les Interactions biologiques dans la rhizosphère..... | 26 |
| Chapitre 2 : Matériel et Méthodes | |
| 1. Echantillonnage..... | 28 |
| 2. Isolement des champignons de <i>Trichoderma</i> spp..... | 34 |
| 2.1. Préparation des suspensions- dilutions..... | 34 |
| 2.2. Technique d'isolement..... | 34 |
| 2.2.1. Milieu de culture utilisé..... | 34 |
| 3. Dénombrement..... | 35 |
| 4. Purification..... | 35 |
| Chapitre 3 : Résultats et Discussion | |
| 1. Isolement et purification des isolats appartenant au genre <i>Trichoderma</i> | 39 |
| 1.1. Caractéristiques des souches purifiées..... | 39 |
| 1.1.1. Examen macroscopique..... | 39 |
| 2. Analyse des résultats..... | 45 |
| 2.1. Répartition des échantillons en fonction de la présence de <i>Trichoderma</i> sp..... | 45 |
| 2.2. Répartitions des isolats de <i>Trichoderma</i> sp en fonction de la région..... | 46 |

Sommaire

| | |
|---|----|
| 2.3. Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> sp en fonction du type de rhizosphère..... | 48 |
| 2.4. Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> sp en fonction des caractéristiques macroscopiques (espèces)..... | 50 |
| Conclusion | 53 |
| Références bibliographiques | 55 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 Tableau 1: liste des échantillons de différents types de sol rhizosphérique collectés dans différentes wilayas de l'Algérie. | 29 |
| Tableau 2 Tableau 2 : Résultats de l'examen macroscopique des souches de Trichoderma sp isolées à partir des différents sols rhizosphériques. | 40 |
| Tableau 3 Tableau 3: répartition des échantillons contenant le genre Trichoderma sp..... | 45 |
| Tableau 4 Tableau 4: Répartitions des isolats des Trichoderma sp selon de la région..... | 46 |
| Tableau 5 Tableau 5 : Répartition des isolats de Trichdermasp selon le type de rhizosphère. | 48 |
| Tableau 6 Tableau 6 : Répartition des isolats de Trichdermasp selon les caractéristiques macroscopiques. | 50 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1: Mécanisme de mycoparasitisme exercé par les souches de <i>Trichoderma</i> (Irina et al, 2001)..... | 17 |
| Figure 2: Les caractères des colonies sur des milieux CMD/PDA des souches représentatives de <i>T. harzianum</i> , <i>T. aggressivum</i> f. <i>aggressivum</i> , <i>T. aggressivum</i> f. <i>europaeum</i> , <i>T. atroviride</i> . Les deux colonnes à gauche ont été cultivées pendant 96 h dans l'obscurité et les deux colonnes à droite ont été cultivées pendant une semaine dans l'obscurité, <i>T. atroviride</i> se développe plus rapide à une température de 25 °C (rangée du bas) qu'à 30 °C et a des conidies très foncées (Samuels et al, 2002)..... | 20 |
| Figure 3 : Conidiophores de <i>T. harzianum</i> (Samuels et al, 2002). | 21 |
| Figure 4 : Les différents compartiments de la rhizosphère (McNear, 2013). | 23 |
| Figure 5: Localisation géographique des sites de prélèvement des échantillons du sol rhizosphérique. | 28 |
| Figure 6: Procédé de dénombrement et d'isolement des champignons du genre <i>trichoderma</i> | 37 |
| Figure 7 : La répartition des échantillons contenant <i>Trichoderma</i> sp. | 45 |
| Figure 8: Répartitions des isolats de <i>Trichoderma</i> sp selon la région..... | 47 |
| Figure 9 : Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> sp selon le type de rhizosphère. | 49 |
| Figure 10 : Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> sp selon les caractéristiques macroscopiques..... | 51 |

INTRODUCTION

Introduction

De nombreux microorganismes du sol se développent dans le voisinage proche des racines dans une zone appelée rhizosphère (**Hiltner, 1904**). Ces microorganismes appartiennent à toutes les divisions du vivant (plantes, champignons, bactéries, animaux) et interagissent entre eux et avec la plante de manière bénéfique ou parasite (**Biais, 2006**). Parmi les champignons de la rhizosphère les plus répandus, on trouve les champignons du genre *Trichoderma*.

Trichoderma est un genre de champignons présents dans tous les sols où ils sont les plus répandus champignons cultivables. Ce sont les bio fongicides les plus efficaces utilisés dans l'agriculture actuelle. Les espèces de *Trichoderma* sont des champignons non pathogènes, souvent présentes dans le sol ainsi que l'association avec les plantes. Ces champignons de couleur verte sont bien connus pour leur effet antifongique et des effets stimulant la croissance des plantes. L'espèce de *Trichoderma* sp est le champignon le plus utilisé dans de nombreux domaines, y compris les applications médicales, agricoles et industrielles.

Certains *Trichoderma* sp sont économiquement importants en raison de leur production d'enzymes industrielles (cellulases et hémicellulases), les antibiotiques et leurs actions en tant qu'agents de lutte biologique.

Trichoderma colonise plusieurs niches écologiques où ils jouent un rôle vital, ils ont déjà été reconnus comme agents de lutte biologique efficaces contre les champignons, producteurs de métabolites secondaires d'importance médicale (**Parkash, et al., 2015 ; Vinale, et al, 2008 ; Meliani et al ; 2017**), et agents de biorestauration. De même, leur capacité à dégrader la biomasse lignocellulosique pour produire des biocarburants de deuxième génération et d'autres produits à valeur ajoutée a été largement acceptée (**Parkash et al, 2015 ; Meliani et al ; 2017**).

Le travail de ce mémoire s'inscrit dans ce contexte et a pour objectif l'isolement et la caractérisation des espèces du genre *Trichoderma* à partir de différentes rhizosphères en vue d'apprécier leur diversité.

Le présent travail est structuré en trois parties. Les données bibliographiques sont présentées dans la première partie de ce mémoire, avec une présentation générale de la lutte biologique suivie par une présentation du genre *Trichoderma* tout en mettant l'accent sur des généralités sur

la rhizosphère. La deuxième partie décrit le matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude. Les étapes suivies dans l'exploitation de nos résultats ainsi que leur discussion sont présentées dans la troisième partie. Une conclusion générale et des perspectives sont enfin données.

Synthèse bibliographique

I. La lutte biologique

1. Historique

L'Homme a toujours eu des ennemis dont il voulait réduire l'abondance, que ce soit d'autres hommes ou des ravageurs, dont l'importance et les impacts ont varié au cours de l'histoire. Aussi, depuis le début de l'agriculture, il y a environ 10 000 ans, les fermiers ont rencontré divers problèmes liés aux organismes nuisibles qui ont augmenté avec l'intensification des cultures.

La première utilisation référencée de lutte biologique a été effectuée par les Chinois, dans les environs de l'an 304 avant Jésus-Christ. Dans les vergers d'agrumes, les fermiers utilisaient des fourmis tisserandes (*Oecophylla smaragdina Fabricius*) indigènes qui consommaient une variété de ravageurs pour protéger les fruits **(Peng, 1983)**.

Pendant le IX^{ème} siècle, beaucoup d'études biologiques des ennemis normaux ont été effectuées. Les essais pratiques au sujet de l'application de la lutte biologique ont graduellement avancé. C'était Erasmas DARWIN, qui a édité un livre sur l'agriculture et jardinage en 1800 (phytologia) et dans lequel il a souligné le rôle des ennemis normaux en réduisant les parasites **(Van Lenteren et al, 2006)**.

Au début du XXI^{ème} siècle, la lutte biologique soulevait beaucoup d'enthousiasme en raison du succès obtenus par *RODOLIA CARDINALIS* en Californie **(Vincent, 2000)**.

La lutte biologique est séduisante sur le plan scientifique et écologique, malgré cela ses succès commerciaux ont été peu nombreux au cours de ce siècle en raison de ses limites.

En 1868, la cochenille australienne (*Iceryapurchasi* Maskell), un insecte parasite qui suce la sève des arbres d'agrumes, a été accidentellement introduite en Floride. Suite aux dommages considérables à l'industrie et en l'absence d'autres moyens de lutte, un entomologiste introduisit une coccinelle naturellement prédatrice (*Rodoliacardinalis* Mulsant) de la cochenille en Australie, ce qui mena au premier grand succès de la lutte biologique classique **(Jourdheuil et al, 1991)**.

Après la deuxième guerre mondiale, le DDT est développé et sont découvertes ses propriétés insecticides. L'élaboration de d'autres pesticides chimiques puissants et peu coûteux a diminué l'intérêt pour la lutte biologique et c'est seulement quand des problèmes se sont présentés qu'elle est revenue au goût du jour. **(Waage, 2004)**.

En pratique, l'application de la lutte biologique repose souvent sur une multitude d'actions et d'informations complexes et fines **(Vincent et al, 2000)**.

2. Définitions

Plusieurs définitions de la lutte biologiques ont été proposées par différentes organisations comme la FAO (food and agriculture organization of the United Nations), OCDE (organisation de coopération et de développement économique), OMS (organisation mondiale de la santé).

Ces définitions montrent des différences importantes selon la discipline scientifique, le domaine d'application et/ou le pays concerné.

Les définitions les plus couramment rencontrées :

- « Utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou dommages causés par des organismes nuisibles aux production végétales ».
- « Utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs ».

La définition adoptée par l'Organisation internationale de lutte biologique (OILB) en 1971 est : « Utilisation par l'homme d'ennemis naturels tel que des prédateurs, des parasitoïdes, ou des agents pathogènes pour contrôler des populations d'espèces nuisibles et les maintenir en dessous d'un seuil de nuisibilité » (Suty, 2010).

3. Les méthodes de la lutte biologique

L'utilisation de méthodes de lutte biologique n'est pas une assurance de production agricole naturelle mais plutôt d'une production moins polluante.

Dans la littérature il existe plusieurs méthodes de la lutte biologique selon les modalités d'utilisation, elles ont été définies comme suit (Boivin, 2001).

3.1. La méthode classique ou par acclimatation

On qualifie de lutte biologique classique, la technique qui consiste à introduire une nouvelle espèce dans un environnement afin de contrôler les populations d'un ravageur (Boivin, 2001).

On fait appel à un entomophage ou un organisme exotique (non indigènes = allochtones) introduit dans un territoire avec l'espoir qu'il s'y établisse pour lutter de manière durable contre des organismes exotiques nuisibles (Suty, 2010).

C'est une méthode préventive plutôt que curative. Les détails d'action sont en effet généralement beaucoup plus longs que ceux des produits de synthèse.

3.2. La méthode néoclassique

Cette méthode a pour but d'introduire des organismes exotiques pour lutter contre des organismes indigènes (autochtones) (**Suty, 2010**).

3.3. La méthode inondative

La lutte biologique inondative est une technique augmentative c'est-à-dire qu'on augmente les populations d'ennemis naturels. Dans ce cas, les quantités relâchées dans le milieu sont importantes et l'objectif est de détruire immédiatement un ravageur sans que l'établissement et la reproduction de l'ennemi naturel soient visés (**Boivin, 2001**). C'est à dire de les lâcher en nombre suffisant pour qu'ils contrôlent directement les cibles (**Suty, 2010**). L'utilisation du Bt (bactérie pathogène aux insectes) et des trichogrammes (guêpes parasitoïdes) entrent dans cette approche (**Boivin, 2001**).

3.4. La méthode inoculative

Dans une autre approche augmentative, appelée lutte biologique inoculative, l'ennemi naturel est relâché en petite quantité et doit s'établir, se multiplier et coloniser une zone donnée. Cependant cet établissement n'est généralement pas permanent et des introductions doivent être faites une ou plusieurs fois par saison. La manipulation environnementale permet quant à elle de maximiser les effets bénéfiques des espèces indigènes d'ennemis naturels (**Boivin, 2001**).

Ce type de lutte n'est pas forcément durable mais vise surtout à protéger une culture pendant une période donnée (période de végétation, ou période de fructification) (**Suty, 2010**).

3.5. La lutte biologique par conservation

La lutte biologique par conservation c'est une méthode qui permet d'augmenter des populations d'organismes indigènes, en modifiant l'environnement de culture ou les pratiques agricoles. C'est le cas, de l'implantation de haies ou des plantes-relais abritant les agents de lutte biologique.

La lutte biologique classique et la lutte biologique par conservation ont des rapports très étroits avec l'écologie et la biologie des populations (**Suty, 2010**).

4. Application des champignons dans la lutte biologique par inondation

4.1. La lutte biologique contre les arthropodes par les champignons entomopathogènes

Les insectes sont la classe principale des arthropodes, ils sont considérés parmi les êtres vivants les plus divers. Une petite partie de cette classe contient des espèces appelées les ravageurs agricoles ; ils sont responsables des dommages considérables des cultures, et détruisent environ 20% de la production annuelle mondiale. Pour cela, se posent des méthodes de lutte biologique par l'utilisation des champignons entomopathogènes qui infectent ou provoquent des maladies chez les insectes ou les autres arthropodes (**Schrank et Vainstein, 2010 ; Maurice, 1980**).

Les champignons entomopathogènes appartiennent le plus souvent à l'ordre *Hypocreales* (phylum *Ascomycota*) et *Entomophthorales* (subphylum *Entomophthoromycotina*) (**Vega, 2009**).

La plupart de ces champignons sont spécifiques à leurs hôtes donc le risque d'infecter des insectes utiles est relativement faible, mais il y a quelques champignons moins sélectifs qui peuvent infecter une large gamme d'hôtes (**Seindé, 2018**).

Généralement les spores qui résultent de la reproduction asexuée des champignons sont les principales structures infectieuses dans le processus d'invasion de l'hôte par des champignons entomopathogènes. Dans le cas de contact avec la cuticule de l'hôte, il y aura formation d'un tube germinatif (la conidie) qui effectue plusieurs opérations provoquant la mort de l'hôte, lorsque l'hôte est mort le champignon commence un autre processus de sporulation asexuée hors de l'hôte (**Shah and Pell, 2003**).

4.2. La lutte biologique contre les nématodes par les champignons nématophages

Environ 20% des nématodes connus sont des parasites des plantes qui se trouvent toujours cachés dans le sol ou à l'intérieur des tissus végétaux, une partie de ces parasites entraîne une incidence économique très importante à l'échelle mondiale, En raison de leur extrême résistance, la grande variabilité physiologique, la vie souterraine et la difficulté d'identifier les symptômes causés par les nématodes, l'utilisation des méthodes culturales et les moyens physiques ne peuvent être employés que dans des cas exceptionnels donc l'utilisation des agents biologiques et les nématicides reste la seule solution dans ce cas (**cayrol et Djian-Caporalino, 1992**).

L'utilisation de nématicides n'est pas très bénéfique car leurs mécanismes d'action plus coûteux, ne sont pas spécifiques et non sélectifs capable d'infecter aussi les espèces inoffensives de vertébrés et d'invertébrés, y compris l'homme. D'autre part, l'utilisation d'agents biologiques

(les champignons nématophages) est un moyen plus économique et écologique pour lutter contre les nématodes c'est à dire ils constituent une alternative qui permet de réduire l'emploi d'intrants chimiques (**Li et al., 2015**).

Les champignons nématophages sont des parasites spécifiques de ces nématodes. Il y a plusieurs modes d'action de ces champignons selon le type de champignons et leur interaction avec les nématodes.

4.2.1. Les champignons prédateurs

Les champignons prédateurs sont spécifiques à un petit nombre d'espèces de Nématodes notamment les plus petites, leur mode d'action basé sur l'association entre un sucre sécrété par la cuticule du Nématode et la lectine (protéine) émise par le Champignon pour piéger ces vers et réduire ou enrayer la prolifération qui est par la suite totalement digérée par des enzymes spécifiques.

4.2.2. Les champignons ovicides

Les champignons ovicides équipés de plusieurs filaments les rendent capable de tuer les œufs des Nématodes, ces filaments pénètrent la coque des œufs et détruisent les embryons avec des enzymes spécifiques. Ces embryons sont une source de nourriture pour ces champignons ovicides.

4.2.3. Les champignons nématophages à spores adhésives

Ce type de champignons nématophages capable de former des zoospores biflagellées qui se dirigent vers les nématodes et se fixent sur leur cuticule. Ces spores germent et pénètrent dans le corps où elles produisent un thalle infectieux qui rend la proie malade (**crayol et Djian-Caporalino, 1992 ; Atkins et al, 2005**).

4.3. La lutte biologique contre les phytopathogènes par les champignons antagonistes

La lutte contre les phytopathogènes peut impliquer une interaction directe entre les champignons et les plantes, car les champignons sont capables d'agir comme des antagonistes phytopathogènes, c'est-à-dire qu'ils peuvent utiliser plusieurs mécanismes différents, d'une part stimuler les défenses et la physiologie générale de la plante et d'autre part inhiber le développement des agents pathogènes. Parmi les mécanismes, on peut noter la production des différents métabolites utiles, la compétition pour les nutriments et l'espace, l'antibiose et mycoparasitisme (**Harman et Kubicek, 1998**).

Le *Trichoderma* est le genre le plus connus dans la lutte contre les phytopathogènes pour son activité efficace, sa croissance rapide et la capacité à produire des antibiotiques et plusieurs enzymes d'intérêt (**Vega et al, 2009 ; Harman et Kubicek, 1998**).

5. Objectifs de la lutte biologique

La lutte biologique repose sur le postulat qu'une espèce envahissante se multiplie sans limite dans une aire d'introduction quand elle ne rencontre pas les ennemis naturels (prédateurs, parasites, pathogènes) présents dans son milieu d'origine. C'est la théorie du relâchement écologique. L'utilisation d'une méthode de lutte biologique ne cherche pas à parvenir à une éradication totale de l'espèce envahissante (espèce cible) mais son objectif est d'en réduire suffisamment et durablement les effectifs pour l'amener en dessous d'un seuil de nuisibilité, écologiquement et/ou économiquement acceptables. L'objectif principal est donc rétabli un équilibre durable entre l'agent de lutte et l'espèce cible. Le point le plus important est la sélection ils ne sont pas accompagnés de leur prédateurs naturels, ils peuvent s'adapter à leur nouvel environnement et le coloniser de façon très agressive : c'est le cas de phylloxera de la vigne arrivé de l'Amérique du nord en 1861 et du doryphore arrivé du Canada via l'Allemagne à la fin du XIXème siècle (**Suty, 2010**).

II. Les biopesticides

1. Généralités

Le concept de « biopesticide » n'est pas nouveau. Dès le 7^e siècle av. J.-C., des fermiers chinois utilisaient des plantes comme *Illicium lanceolatum* pour protéger leurs cultures contre les insectes. De même, au Moyen-Âge, des végétaux comme les aconits étaient utilisés contre les rongeurs et des récits indiens datant du 17^e siècle rapportent l'utilisation de racines de *Derris* et de *Lonchocarpus* pour leurs propriétés insecticides. De nos jours, plusieurs biopesticides sont commercialisés (Deravel *et al*, 2014).

2. Définition

Les biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de limiter ou de supprimer les ennemis des cultures (Thakore, 2006).

3. Les différentes catégories de biopesticides

Les produits considérés comme des biopesticides par les agences de réglementation européennes et mondiales sont d'origines diverses. Ils peuvent être classés en trois grandes catégories, selon leur nature : les biopesticides microbiens, les biopesticides végétaux et les biopesticides animaux (Deravel *et al*, 2014).

3.1. Biopesticides microbiens

Cette catégorie comprend les bactéries, champignons, oomycètes, virus et protozoaires. L'efficacité d'un nombre important d'entre eux repose sur des substances actives dérivées des micro-organismes. Ce sont, en principe, ces substances actives qui agissent contre le bio-agresseur plutôt que le micro-organisme lui-même.

3.1.1. Les bactéries

Les biopesticides à base de *Bacillus thuringiensis* sont les plus commercialisés. Ils ont une action insecticide. *Bacillus thuringiensis* est une bactérie à Gram⁺ qui produit, durant sa phase stationnaire de croissance, des protéines cristallines appelées delta-endotoxines ou pro-toxines Cry (Rosas, 2009).

Des espèces bactériennes du genre *Bacillus* utilisant des mécanismes d'action autres que celui employé par *B.thuringiensis* peuvent également protéger les plantes (**Perez-Garcia, 2010**). Des bactéries appartenant à d'autres genres que le genre *Bacillus* ont également été développées en tant que biopesticides (**Deravel et al, 2014**).

3.1.2. Les virus

Les *Baculoviridae* sont des virus à double brins d'ADN circulaire, ayant un génome compris entre 100 et 180 kb, protégés par une paroi protéique. Ils infectent les arthropodes insectes ou larves. Ils représentent un faible risque sanitaire car aucun virus similaire n'a, à l'heure actuelle, été répertorié dans l'infection des vertébrés ou des plantes. Cette propriété les rend particulièrement intéressants pour une utilisation en qualité de bio-insecticide, d'autant plus qu'ils peuvent tuer leur hôte en quelques jours. Ces virus sont classés en fonction de la morphologie particulière de leur corps d'inclusion (**Deravel et al, 2014**).

3.1.3. Les champignons

Outre les bactéries et les virus, certains champignons présentent des activités contre les bio-agresseurs et sont exploités en tant que biopesticides. *Coniothyrium minitans* est connu pour parasiter les champignons du genre *Sclerotinia* spp. Ce genre fongique se retrouve dans le sol et est à l'origine de la maladie appelée pourriture blanche qui peut affecter de nombreuses cultures dont la carotte, le haricot, le colza ou le tournesol.

Plusieurs souches du champignon filamenteux du genre *Trichoderma* sp sont utilisées pour la protection biologique des plantes. Elles ont généralement une activité antifongique contre plusieurs pathogènes du sol ou contre des pathogènes foliaires (**Deravel et al, 2014**).

3.2. Biopesticides végétaux

Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des insectes. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires qui à l'origine, protègent les végétaux des herbivores. Le biopesticide d'origine végétale le plus utilisé est l'huile de neem, un insecticide extrait des graines d'*Azadirachtaindica* (**Schmutterer, 1990**).

Plusieurs molécules dont l'azadirachtine, la nimbidine, la nimbidinine, la solanine, le déacétylazadirchtinol et le méliantriol ont été identifiées comme biologiquement actives dans

l'huile extraite des graines de neem. L'azarachtine, un mélange de sept isomères de tétranortritarpinoïde, est le principal ingrédient actif de cette huile et a la propriété de perturber la morphogénèse et le développement embryonnaire des insectes (**Deravel *et al*, 2014**).

D'autres extraits de plantes ont des activités insecticides ainsi : *Tanacetum (Chrysanthemum) cinerariaefolium*, plus communément appelé pyrèthre, est une plante herbacée vivace cultivée pour ses fleurs dont une poudre insecticide est extraite.

Certaines huiles végétales, qui n'ont pas d'activité antiparasitaire intrinsèque, peuvent être retrouvées sur le marché en tant que biopesticide. Dans ce cas, ce sont leurs propriétés physiques qui sont exploitées. Ainsi, l'huile de colza est l'ingrédient principal de quelques produits comme le VegOil® car, aspergée sur les feuilles et les ravageurs, elle forme un film huileux qui asphyxie ces derniers.

Les plantes à pesticides intégrés (Plant Incorporated-Protectants, PIPs) sont des organismes modifiés par génie génétique, capables de produire et d'utiliser des substances pesticides afin de se protéger contre des insectes, des virus ou des champignons. Les PIPs représentent alors une catégorie de biopesticides.

3.3. Biopesticides animaux

Ces biopesticides sont des animaux comme les prédateurs ou les parasites, ou des molécules dérivées d'animaux, souvent d'invertébrés comme les venins d'araignées, de scorpions, des hormones d'insectes, des phéromones.

Les biopesticides d'origine animale qui sont des signaux chimiques produits par un organisme et qui changent le comportement d'individus de la même espèce ou d'espèces différentes sont également répertoriés sous l'appellation « semio-chimiques ». Les semio-chimiques ne sont pas à proprement parler des « pesticides ».

En effet, ils ne vont pas provoquer la mort des bio-agresseurs, mais plutôt créer une confusion chez ces derniers. Cette confusion les empêchera de se propager dans la zone traitée. Les phéromones d'insectes sont de bons exemples de molécules semio-chimiques utilisées comme alternative à l'utilisation des insecticides. Il s'agit de petites molécules naturellement produites par les insectes et qui sont détectées au niveau des antennes de leurs congénères. Ces molécules peuvent être éphémères ou persistantes, mais dans tous les cas véhiculent un message. Elles peuvent marquer un territoire, prévenir de la disponibilité de nourriture ou être un signal pour l'accouplement. Les phéromones d'insectes sont largement utilisées aussi bien pour limiter les

insectes ravageurs *via* des techniques de piégeage ou de confusion sexuelle que pour surveiller leur nombre (Deravel *et al.*, 2014).

III. Le genre *Trichoderma*

1. Généralités

Le terme *Trichoderma* a été introduit dans la mycologie pour la première fois en 1794 par le mycologue sud-africain christiaan hendrick Persson (Bisset, 1991). C'est le premier qui a décrit le genre *Trichoderma* à partir des échantillons collectés en Allemagne. Les souches isolées du sol, ont été considérées comme des décomposeurs de matière organique (Persoon, 1794).

Les espèces de *Trichoderma* sont les plus étudiées autant qu'agent de bio contrôle (BCAs) contre les pathogènes des plantes (Papavizas, 1985). Ces agents, ont une activité contre une large gamme de pathogènes de plantes.

Les *Trichoderma* sont des fungi ubiquistes (Roqubert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998). Ils sont des éléments majeurs dans la mycoflore terrestre (Widden et Abitrol, 1980 ; Kubicek *et al.*, 2003).

2. Définition

Le genre *Trichoderma* comprend un grand nombre des moisissures imparfaits saprophytes qui se retrouvent couramment dans plusieurs écosystèmes (Johanne, 2002), sont communes dans presque tous les sols agricoles, le bois décomposé et les autres matières organiques végétales (Saba, 2012 ; Esposito et Silva, 1998).

Le *Trichoderma* est une moisissure bénéfique peut s'avérer particulièrement efficace dans la lutte de plusieurs microbes pathogènes parce qu'il a un large spectre d'activité contre ces microbes avec sa capacité à coloniser les racines des plants avant les mauvais champignons par une association de type mycorriza-like (Saba, 2012).

Les isolats de *Trichoderma* sont identifiables grâce à leurs pigments conidiens verts typiques (conidies) ou blancs (phialides) et à leur structure de conidophores branchés, certaines espèces produisent une odeur de sucre ou de « noix de coco » due à un composé volatil biologiquement actif (6-pentyl- α -pyrone) (Yariv, 2016). Ils sont capables de se développer rapidement par l'utilisation d'une large gamme de substrats d'origines naturelle ou chimique bien que leurs besoins nutritionnels faibles (Domenico, 2011).

Les *Trichoderma* spp sont des producteurs efficaces d'enzymes extracellulaires comme la cellulase qui permet de dégrader de la cellulose, ces enzymes sont soit impliquées dans la suppression de maladies des plantes, soit employées dans les industries alimentaires (**Romain, 2018**).

3. Taxonomie de *Trichoderma*

La taxonomie du genre *Trichoderma* a fait l'objet de nombreuses études et de beaucoup de discussions depuis longtemps.

Grace aux travaux de Rifai en 1969 et les autres chercheurs qui ont modifié la classification de *trichoderma* et avec les techniques de biologie moléculaire basées sur le polymorphisme de séquence d'ADN, ils ont pu proposer une classification phylogénique pour ce genre.

La taxonomie moderne des *Trichoderma* spp se présente comme suit (**Harman et Kubicek, 2002 ; Tan Siew Hui, 2013 ; Gams et Bissett, 1998**). *Trichoderma* spp sont des champignons qui appartiennent à :

- Embranchement : Amastigomycota ou Eumycètes.
- Division : Ascomycota.
- Sous division : Pezizomycotina.
- Classe : Sordariomycetes.
- Sous classe : Hypocreomycetidae.
- Ordre ; Hypocreales.
- Famille : Hypocreaceae.
- Genre : *Trichoderma*

Près de 104 espèces composant ce genre, sont des champignons avec de rares formes téléomorphes et sont classées parmi les *Ascomycètes* du genre *Hypocrea* (**Tan Siew Hui, 2013**).

4. Cycle biologique

Les espèces du genre *Trichoderma* ont une reproduction exclusivement asexuée (**Roquebert, 1996**). En effet, après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, deux correspondants à la conidiogenèse d'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se suppose à la culture (**Corbaz, 1990**).

5. Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin (**Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998**). Le genre *Trichoderma* est ubiquitaire et se trouve beaucoup plus dans les écosystèmes agricoles (**Kai Dou 2019**).

En effet, les *Trichoderma* sp sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la mycoflore terrestre et marine (**Widden et Abitrol, 1980 ; Kubicek et al., 2003 ; Kai Dou, 2019**).

Les *Trichoderma* sp terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (**Roquebert, 1996 ; Esposito et Silva, 1998**).

Dans le milieu terrestre la présence des *Trichoderma* spp comprend 6% du nombre total des espèces fongiques semble comparable à celle du milieu marin (6,4% à 10,4%) (**Mohamed-Benkada, 2006**).

L'abondance de *Trichoderma* dans les sols variés est couplée à son habilité à dégrader différents substrats organiques, son adaptabilité métabolique et sa résistance aux inhibiteurs microbiens. Tous ces caractères permettent à *Trichoderma* de survivre dans plusieurs niches écologiques qui dépendent des conditions et des espèces ou des souches impliquées (**Papavizas, 1985**).

6. Mode d'action

Trichoderma est sans conteste l'agent de lutte biologique fongique le plus étudié au niveau des mécanismes d'action. Plusieurs mécanismes ont été mis en évidence : la compétition, le mycoparasitisme et l'antibiose. Ces mécanismes peuvent intervenir seuls, en association ou séquentiellement (**Jijakli, 2003**).

6.1. Compétition

Les souches de *Trichoderma*, sont des bio dégradateurs (**Wardle et al, 1993**) et compétiteurs avec les agents pathogènes dans leurs phases saprophytique surtout lorsque les nutriments forment le facteur limitant (**Simon et Sivasithamparam, 1989**). En effet, pour qu'une espèce de *Trichoderma* soit compétente, elle doit coloniser la rhizosphère à une distance au-delà de 2 cm de profondeur de la graine (**Ahmad et Baker, 1987**). Une fois installée, *Trichoderma* établit une zone d'interaction dans la partie cortex des racines et sécrète des molécules tels que les sidérophores qui absorbent le fer et arrêtent la croissance du pathogène (**Chet et al, 1997 ; Eisendle et al., 2004**). Pour cette raison, la composition du sol influe sur l'efficacité de l'agent antagoniste. L'utilisation efficace des nutriments disponibles par les souches de *Trichoderma*, est basée sur la capacité de *Trichoderma* d'obtenir l'ATP à partir du métabolisme de différents sucres, tels que les dérivés de polymères (**Grondona et al, 1997**).

6.2. Mycoparasitisme

Durant ce processus, *Trichoderma* sécrète des enzymes qui dégradent la paroi cellulaire du champignon hôte, libérant par la suite des oligomères de la paroi cellulaire du pathogène (**figure 1**) (**Vinale et al, 2008**). Il existe en effet plus de 20 gènes séparés qui peuvent être impliqués dans le mycoparasitisme. *Trichoderma* produit dix chitinases différentes et plusieurs β -1,3-glucanases et des protéases (**Figure 1**) (**Vidhyasekaran, 2004**).

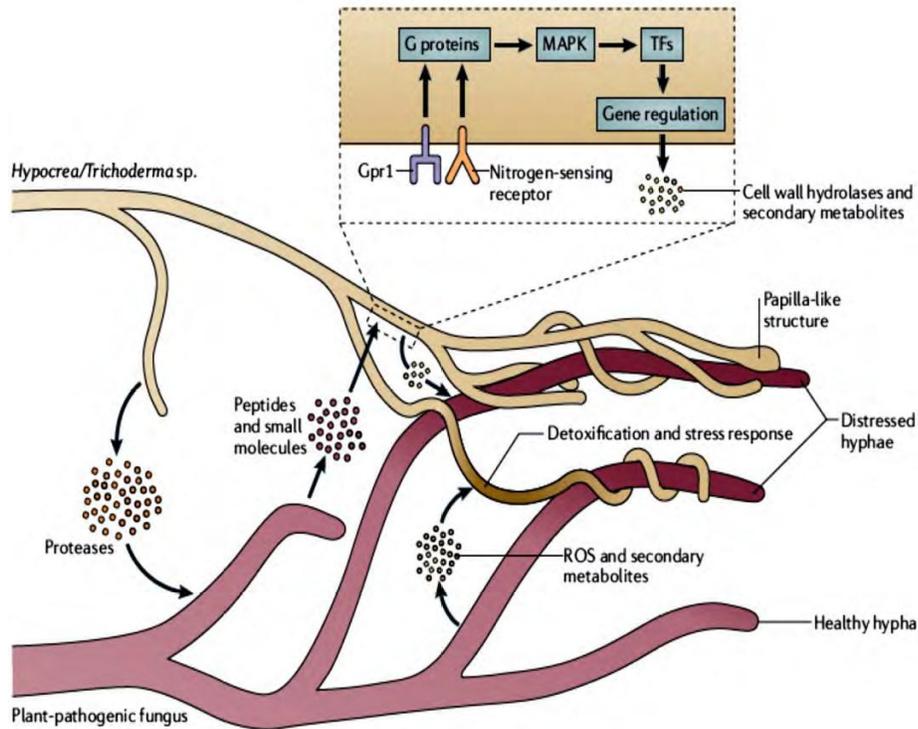


Figure 1: Mécanisme de mycoparasitisme exercé par les souches de *Trichoderma* (Irina et al, 2001).

6.3. Antibiose

Les espèces du genre *Trichoderma* sont capables de produire un très grand nombre de métabolites secondaires avec des activités antibiotiques, dont certains jouent un rôle dans l'antagonisme (Jijakli, 2003).

La production des antibiotiques dépend des paramètres environnementaux tel le substrat colonisé, le pH et la température (Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998 ; Vizcaino et al, 2005). Ces antibiotiques, peuvent être classés en trois groupes : des composés volatiles, des composés hydrosolubles et les peptaïboles qui agissent sur la membrane plasmique (Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991). En effet, les deux premiers groupes d'antibiotiques sont dérivés de plusieurs voies métaboliques. Par contre, le troisième groupe : les peptaïboles ; est le plus des antibiotiques (Degenklob et al, 2003) ; il regroupe plus de 300 molécules. Parmi les molécules bioactives en antibiose, on cite : 6-pentyl-2 α -Pyrone-2-one (6PP), les Koninginins (A, B, D, E et G), l'acide harzianique, Trichodermine, Harziamine, Trichodermal, Harzianolide (Kucuk et Kivanc, 2004).

7. Utilisation de *Trichoderma* dans la lutte biologique

L'utilisation de *Trichoderma* comme agent de lutte biologique, nécessite l'étude de la prolifération, du mécanisme biologique et les facteurs de l'environnement qui gouvernent l'interaction entre l'antagoniste et le champignon *phytopathogène*.

Le champignon *Trichoderma* est considéré comme un facteur essentiel dans la lutte biologique puisque la plupart de ces espèces interviennent dans la lutte des microorganismes nocifs, en particulier les champignons comme *Phytophthora infestans*. Le genre *Trichoderma* se trouve souvent dans la terre ou sur les constituants des plantes, et leur croissance est rapide (**Gary, 1998**). L'efficacité du genre *Trichoderma* dans l'inhibition des organismes pathogènes repose surtout sur leur capacité à produire plusieurs substances ou antibiotiques tels que (Viridine, Gliotoxine...). Ces derniers sont considérés comme des armes contre les organismes phytopathogène.

Le genre *Trichoderma* produit également des enzymes (cellulase, chitinase qui provoquent la lyse du *Phytophthora* dans la pomme de terre (**Bennani, 2004**).

8. Caractères du genre *Trichoderma*

8.1. Caractères Macroscopiques et culturaux

L'aspect macroscopiques des *Trichoderma* ssp a été estimé à partir de cultures sur un milieu riche comme la gélose au dextrose de pomme de terre (PDA) ou le milieu CMD (corn meal dextrose agar), réparties en boîtes de Pétri (**Samuels et al, 2002**) (**figure 2**).

Dans un milieu PDA, les colonies sont blanches en raison de la formation d'un thalle à croissance rapide qui peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides, après quelque jour des taches bleu-vert ou jaune-vert dispersées deviennent observables lorsque des conidies se forment (**Lilliana et bissett, 2011 ; Gams et Bissett 2002**). Les colonies de *Trichoderma* ont une croissance très rapide et envahissent facilement les milieux de culture (**Gams and Bissett 2002**).

8.2. Morphologie microscopique

Les *Trichoderma* spp se développent sous forme d'hyphes fongiques ramifiés de 5 à 10 μm de diamètre. Les filaments fertiles ou les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale très ramifiées et produisent des branches latérales verticillées portant de courtes phialides. Les phialides sont des ovoïdes de forme cylindrique ou presque sous-globuleux, sont directement insérées sur l'extrémité des conidiophores et peuvent être isolées ou en groupes (**figure 3**).

Les conidies unicellulaires (3 à 5 μm de diamètre) sont produites successivement, ils sont réunis en glomérules à l'extrémité des phialides, le plus souvent de couleur vert typique et généralement de surfaces lisses ou granuleuses (**figure 3**).

Les chlamydospores sont très souvent globuleuses et incolores de paroi épaisse et élargie avec un cytoplasme condensé (**Samuels *et al*, 2002 ; Gams et Bissett 2002**).

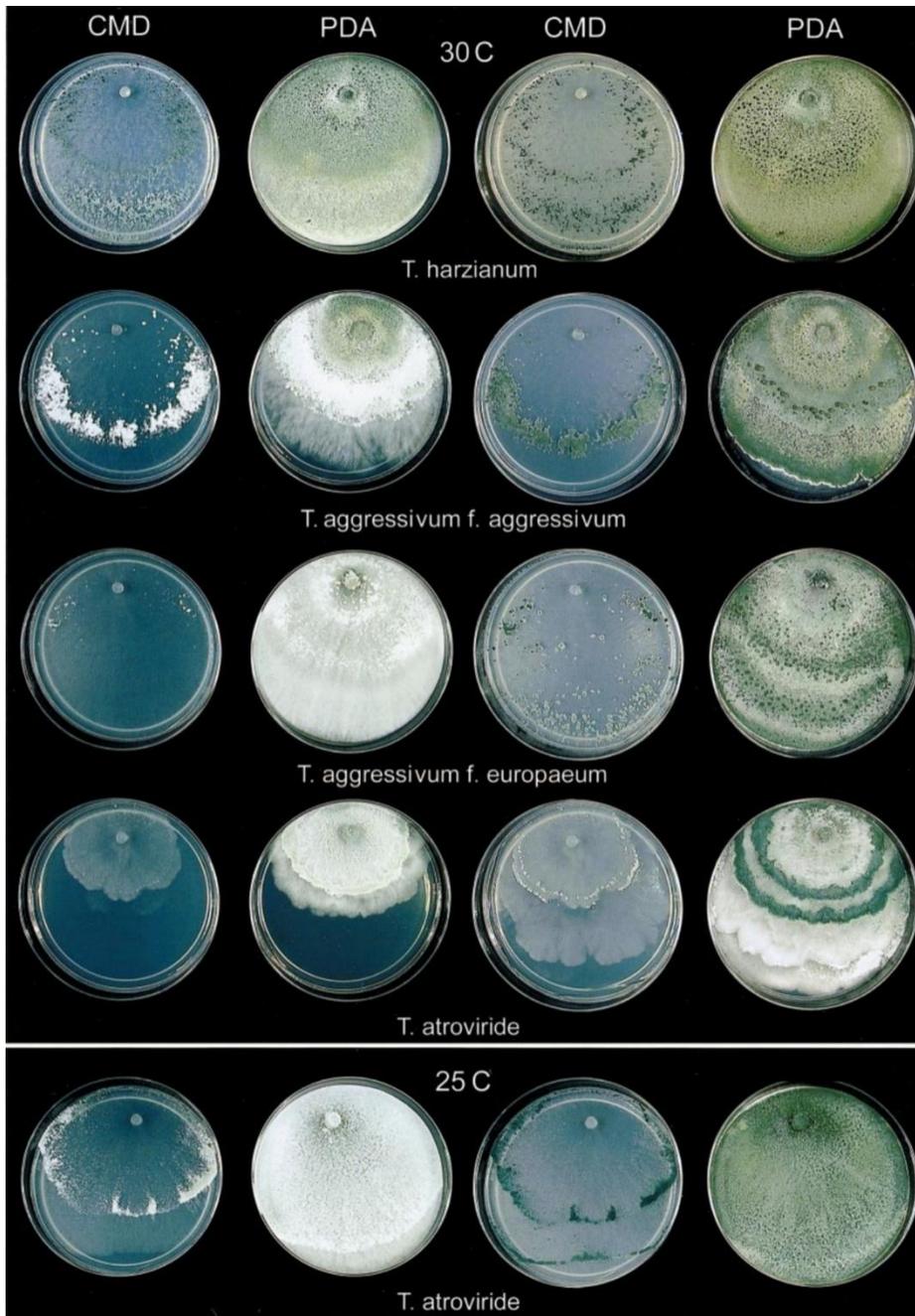


Figure 2: Les caractères des colonies sur des milieux CMD/PDA des souches représentatives de *T. harzianum*, *T. aggressivum f. aggressivum*, *T. aggressivum f. europaeum*, *T. atroviride*. Les deux colonnes à gauche ont été cultivées pendant 96 h dans l'obscurité et les deux colonnes à droite ont été cultivées pendant une semaine dans l'obscurité, *T. atroviride* se développe plus rapide à une température de 25 °C (rangée du bas) qu'à 30 °C et a des conidies très foncées (Samuels et al, 2002).

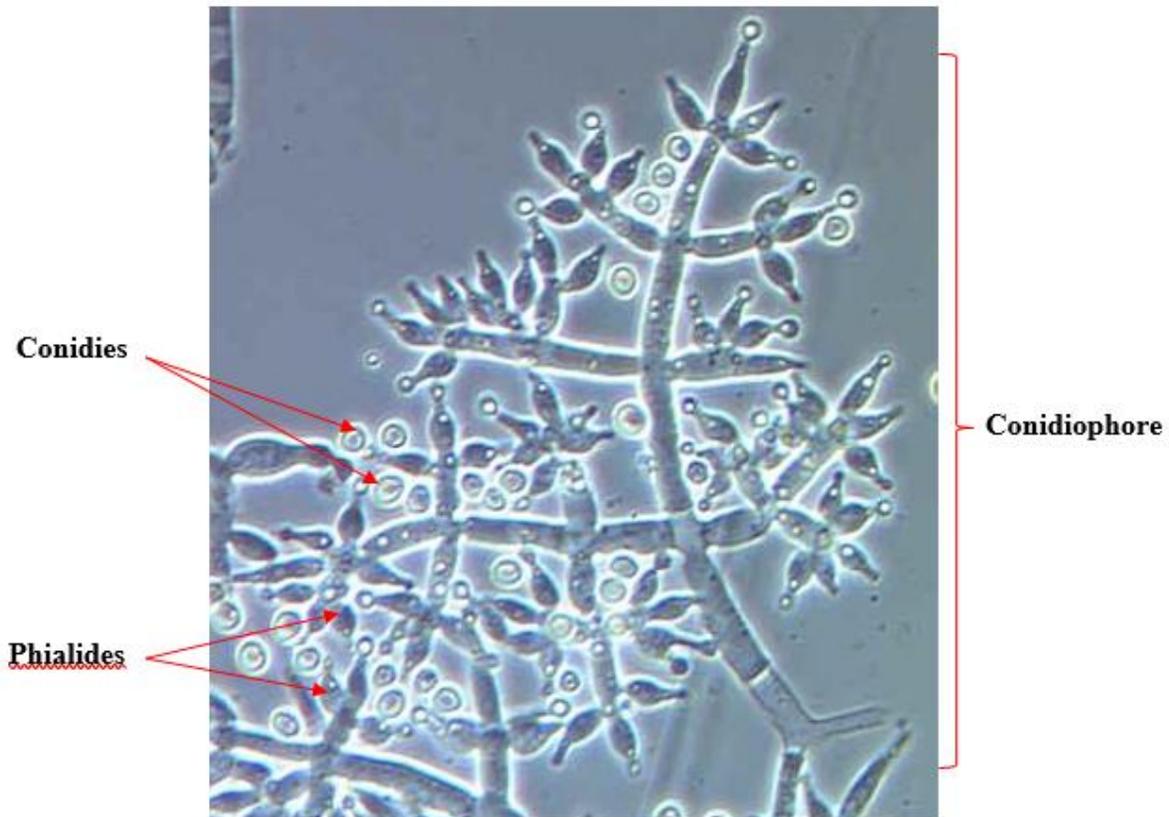


Figure 3 : Conidiophores de *T. harzianum* (Samuels et al, 2002).

9. Pouvoir pathogène

Généralement, la plupart des espèces de *Trichoderma* sont connues pour être utilisées dans la lutte contre les pathogènes des plantes, mais il existe des cas exceptionnels que des espèces dans ce genre sont responsables des pathologies humaines. Plusieurs cas ont été reportés qu'une certaine espèce de *Trichoderma* provoque des infections pulmonaires, des péritonites et des cas d'hépatites chez les patients immunodéprimés. Après plusieurs études, les chercheurs ont pu découvrir que les espèces responsables sont le *T. viride* et *T. koningii* (Loeppky et al., 1983 ; Ragnaud et al., 1984 ; Harman et Kubicek, 2002). En 1995, *T. longibrachiatum* provoque la mort d'un homme de 29 ans qui avait reçu une greffe de moelle osseuse allogénique pour une leucémie lymphoblastique aiguë (Richter et al, 1995).

IV. La rhizosphère

1. Généralités

Le chercheur allemand **Lorenz Hiltner**, bactériologiste spécialiste de microbiologie du sol et professeur d'agronomie au collège Technique de Munich (**Lombi et al, 2001**), a proposé en 1904 le terme rhizosphère où « Rhizo » qui vient du grec rhiza signifiant racine et « Sphair » signifiant (ce qui entoure) (**Gelin and Stengel, 1998**).

La sphère définit le champ d'influence du système racinaire. En raison du volume qu'elle occupe, par rapport au volume de la plante, la rhizosphère est aussi appelée la « moitié cachée » (the hiddenhalf en anglais) (**Abdesselam, 2017**).

2. Définition

La rhizosphère est la région du sol sous l'influence de la racine. Elle représente une interface essentielle entre la plante et le sol, interface active par la présence de microorganismes, bactéries, champignons, ainsi que les prédateurs, considérée comme l'habitat de microorganismes liés aux activités de la racine. La rhizosphère s'étend à la surface des tissus (rhizoplan) et à l'intérieur des tissu (endorhizosphère, habitat des endophytes), alors que la partie extérieure (l'ectorhizosphère ou l'exorhizosphère) qualifie la région du sol située au voisinage de la racine et soumise à leur influence (**Gobat et al, 2010**).

3. Structure de la rhizosphère

Il y a trois zones distinctes de la rhizosphère (**figure 4**) :

- Endorhizosphere ou la rhizosphère interne, qui se compose du cortex racinaire envahi et colonisé par les microorganismes (généralement saprophyte) (**Dommergue, 1975**).
- Le rhizoplan : Il s'agit de la section médiane de la rhizosphère. Il comprend la surface racinaire où les particules du sol et les microorganismes adhèrent (**Pratibha et Kapoor, 2013**).
- Ectorhizosphère : c'est la zone externe, elle constitue le sol immédiatement adjacent à la racine, à l'intérieur de laquelle diffusent les exsudats solubles et volatils de la plante (secrétés par la racine) (**Dommergue, 1975**).

En dehors de ces trois zones de base, autres couches peuvent être définies dans certains

cas, par exemple, dans les plantes à association mycorhizienne, il existe une zone appelée mycorrhizosphère ; tandis que dans certaines autres plantes une autre couche dense fortement adhérente appelée « rhizosheath » est trouvée, elle se compose de poils racinaires, de matière mucoïde, de microorganismes et de particules de sol (**Pratibha et Kapoor, 2013**).

En outre, la racine fait partie de la rhizosphère en tant que les microorganismes colonisent les tissus racinaires internes. Le volume du sol qui ne fait pas partie de la rhizosphère, c'est-à-dire qui n'est pas influencé par la racine est connu sous le nom de sol en vrac. La racine morte est transformée en sol par l'activité rhizosphérique, mais il est différent du sol en vrac (**Pratibha et Kapoor, 2013**).

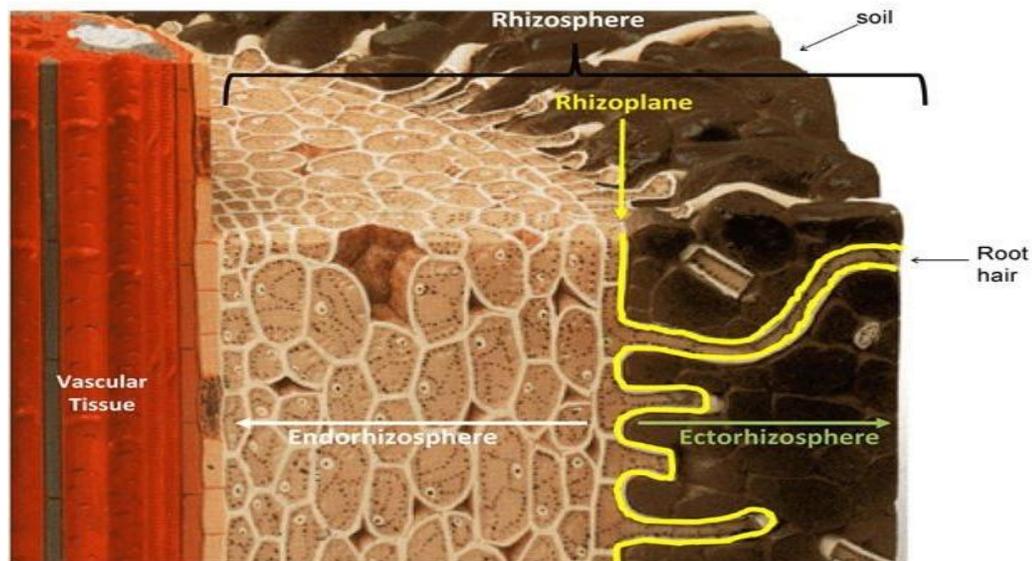


Figure 4 : Les différents compartiments de la rhizosphère (**McNear, 2013**).

4. Microflore rhizosphérique

La diversité des microorganismes associés aux racines des plantes est énorme, de l'ordre de dizaines de milliers d'espèces, peut aller jusqu'à 10^{11} cellules microbiennes par gramme de racine et plus de 30 000 espèces procaryotes. Cette communauté microbienne inclut : les bactéries qui représentent le groupe le plus important de microorganismes de la rhizosphère, les champignons (les plus fréquents sont, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*...etc.), les oomycètes, les nématodes, les protozoaires, les algues, les virus, les archées et les arthropodes.

Des études récentes sur les interactions plantes-microorganismes ont révélé que les plantes déterminent la composition de la microflore racinaire par ses exsudats qui stimulent ou répriment spécifiquement les membres de la communauté microbienne (**Rodrigo et al, 2013 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009 ; Roeland, 2012**).

5. Activité de la rhizosphère

Des phénomènes écologiques particuliers se produisent au niveau de la rhizosphère. En effet, les racines libèrent beaucoup de matières organiques sous forme de mucilage, d'exsudats et plus que 40% des produits de photosynthèse passent au niveau des racines (**SOUFIANE, 1989**). La plante libère des exsudats racinaires qui sont constitués de substances organiques carbonées et azotées : polysaccharides, acides organiques et protéines (**MENCH, 1985**).

Ces exsudats favorisent le développement de la microflore pathogène ou non. Ainsi, en réponse à l'apport énergétique représenté par les exsudats racinaires, des propagules fongiques se développent de façon saprophytique jusqu'à la racine qu'elles peuvent infecter et éventuellement parasiter. (**Schroth et Hildenbrand, 1964**).

La quantité et la composition des exsudats racinaires conditionnent également la nature des activités bactériennes. Ces activités résultent de la synthèse de métabolites tels que les sidérophores, antibiotiques, substances de croissance, acide cyanhydrique, lipopolysaccharides (**Lemanceau, 1992**).

Les exsudats racinaires représentent un élément clé dans les échanges entre la plante et les rhizobactéries, dont la densité et la diversité microbienne au tour des racines est en liaison directe avec la nature et la quantité des exsudats racinaires, cette influence se manifeste par une modification de la croissance de la plante (**LEMANCEAU, 1992**).

6. Effet rhizosphérique

Le sol rhizosphérique présente des caractéristiques physico-chimiques différentes de celles du sol non rhizosphérique. La rhizosphère est en effet un lieu d'échanges importants entre le sol, la racine et la microflore. Ces échanges sont multiples : libération de composés organiques et d'ions, absorption d'eau et d'ions par la racine, respiration de la racine et de la microflore, synthèse de métabolites microbiens divers et variés. L'ensemble de ces échanges détermine une augmentation de la concentration en matière organique et une modification des équilibres ioniques et gazeux de la rhizosphère.

L'effet rhizosphérique est déterminé en grande part par la libération de différents composés organiques regroupés sous le terme « rhizodéposition » (**Gelin and Stengel, 1998**).

La rhizodéposition consiste en l'accumulation des substances organiques et minérales émises par la partie active des radicelles. D'une façon plus générale, la libération d'une partie des photosynthétats dans le sol contribue à la formation des sols. La rhizodéposition comprend différents composés organiques, certains libérés de façon active (sécrétions, mucilages) d'autres de façon passive (exsudats, lysats).

Les rhizodépôts sont constitués majoritairement de composés carbonés mais également, en quantité moins importante, de composés azotés (**Rovira, 1969**). Il est désormais admis qu'en moyenne 20% du carbone assimilé (**Hinsinger et al, 2005**), 40% ou plus de la matière sèche, produite par les végétaux supérieurs via la photosynthèse sont émis par les racines vivantes dans le sol.

7. Facteurs déterminants la richesse et l'activité microbienne de la rhizosphère

L'activité microbienne dans la rhizosphère est influencée par des facteurs climatiques (L'aération, l'humidité, la température, teneur en CO₂) et des facteurs édaphiques (teneur du sol en eau et en oxygène, teneur du sol en éléments assimilables par les plantes, présence de composés phytotoxiques, le pH) (**Dommergues, 1978**).

8. Les Interactions biologiques dans la rhizosphère

La rhizosphère est un centre d'activité biologique intense en raison d'exsudats riches en nutriments. Certains micro-organismes du sol interagissent spécifiquement avec les plantes. Ces interactions peuvent être pathogènes ou bénéfiques. Les interactions bénéfiques comprennent les mycorhizes, les nodosités radicales des légumineuses, fixation de diazote (associé ou libre), solubilisation des nutriments et la production des composés antimicrobiens (**Lepinay, 2015 ; zoe et whitbeck, 2007**). Les micro-organismes de la rhizosphère produisent également des vitamines, des antibiotiques, des hormones végétales, des molécules de communication, qui favorisent la croissance des plantes et atténuent le stress abiotique (**Brahmaprakash et al, 2017**).

La rhizosphère est l'un des principaux sites contribuant à l'entrée des endophytes dans les racines des plantes. Les sites proches de l'émergence des racines latérales et les parties blessées des racines sont des sites importants d'entrée d'endophyte dans la plante. Cela se transforme plus tard en une interaction complexe plante-endophyte, qui profite aux plantes de plusieurs manières, y compris l'acquisition de nutriments, la production de phytohormones, l'induction de la résistance de l'hôte, l'atténuation des stress abiotiques, la production de métabolites secondaires (**zoe et whitbeck, 2007 ; Brahmaprakash et al, 2017**).

Les populations microbiennes sont très abondantes dans la rhizosphère. Les interactions entre les microorganismes sont nombreuses et très intenses parmi lesquelles : la compétition, l'antibiotisme, le synergisme ainsi que certains phénomènes qui découlent de l'antagonisme en particulier la bactériostase, la mycostase et la mycolyse (**Diem et Mangenot, 1975**).

Matériel et Méthodes

1. Echantillonnage

Quatre-vingt-cinq (85) échantillons de sol rhizosphérique ont été collectés dans vingt-trois (23) wilayas d'Algérie pendant les mois de décembre (**Figure 5**), janvier et février de l'année 2019-2020.

Les échantillons ont été prélevés au hasard dans différents types de rhizosphère, ils ont été placés dans des sachets en plastiques étiquetés ensuite transportés au laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales de l'Université Frères Mentouri Constantine 1 et conservés à température ambiante jusqu'à leur analyse (**Tableau 1**).



Figure 5: Localisation géographique des sites de prélèvement des échantillons du sol rhizosphérique.

Tableau 1 : liste des échantillons de différents types de sol rhizosphérique collectés dans différentes wilayas de l'Algérie.

| N° | Communes et regions | Wilaya | Type de sol |
|----|---------------------|--------------------|-------------------------------|
| 1 | Bejaïa | Bejaïa | Rhizosphère d'olivier |
| 2 | Sidi Embarek | Bordj Bou Arreridj | Rhizosphère de blé |
| 3 | Didouchemourad | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 4 | ChelghoumLaïd | Mila | Rhizosphère d'haricot |
| 5 | El Eulma | Sétif | Rhizosphère blé |
| 6 | Ain Touta | Batna | Rhizosphère d'orge |
| 7 | Ouledarama | Mila | Rhizosphère de lentilles |
| 8 | Ouledzouai | Oum el bouaghi | Rhizosphère de blé |
| 9 | El ouldja | Mila | Rhizosphère d'orge |
| 10 | Ain tedles | Mostaganem | Rhizosphère de pomme de terre |
| 11 | Zighoud youssef | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 12 | Batna | Batna | Rhizosphère d'abricot |
| 13 | Ain Mlila | Oum el bouaghi | Rhizosphère de blé |
| 14 | El ghadir | Skikda | Rhizosphère de blé |
| 15 | El kantara | Biskra | Rhizosphère des dattiers |
| 16 | Didouche mourad | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 17 | Ain zada | Borjbouarreridj | Rhizosphère de blé |
| 18 | Ttadjenanet | Mila | Rhizosphère de blé |

Matériel et méthodes

| | | | |
|----|----------------|----------------|-------------------------------|
| 19 | Beni bchir | Skikda | Rhizosphère de blé tendre |
| 20 | Ouladaouf | Batna | Rhizosphère de salade |
| 21 | Ain touta | Batna | Rhizosphère de blé |
| 22 | Hamla | Batna | Rhizosphère de blé tendre |
| 23 | El ghedjati | Batna | Rhizosphère de blé tendre |
| 24 | Teleghma | Mila | Rhizosphère de blé tendre |
| 25 | Ouladhamla | Oum el bouaghi | Rhizosphère de blé |
| 26 | Bejaïa | Bejaia | Rhizosphère d'Olivier |
| 27 | Bouira | Bouira | Rhizosphère de pomme de terre |
| 28 | Ait yahia | Tiziouzou | Rhizosphère d'Olivier |
| 29 | Tolga | Biskra | Rhizosphère de blé |
| 30 | Lakhdaria | Bouira | Rhizosphère de blé |
| 31 | Adrar | Adrar | Rhizosphère de blé |
| 32 | Chlef | Chlef | Rhizosphère de blé |
| 33 | Ouadseguen | Mila | Rhizosphère de blé |
| 34 | Didouchemourad | Constantine | Rhizosphère de poivre |
| 35 | Ain lasel | El Tarf | Rhizosphère de blé |
| 36 | Bounaouara | Constantine | Rhizosphère de pomme terre |
| 37 | Teleghma | Mila | Rhizosphère d'ail |
| 38 | Ain Abid | Constantine | Rhizosphère d'orge |

Matériel et méthodes

| | | | |
|----|---------------------|----------------|----------------------------|
| 39 | Guelma | Guelma | Rhizosphère d'Olive |
| 40 | El henchirtoumghani | Oum el bouaghi | Rhizosphère de blé |
| 41 | Berrahal | Annaba | Rhizosphère de blé |
| 42 | El hadjar | Annaba | Rhizosphère d'oignon |
| 43 | Ain smara | Constantine | Rhizosphère pastèque |
| 44 | Salah boucheour | Skikda | Rhizosphère d'orge |
| 45 | Ali mandjli | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 46 | Berrahal | Annaba | Rhizosphère pomme de terre |
| 47 | El harrouch | Skikda | Rhizosphère de blé |
| 48 | Alger centre | Alger | Rhizosphère de blé |
| 49 | Berrahal | Annaba | Rhizosphère d'oignon |
| 50 | Ain Abid | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 51 | Bejaia | Bejaia | Rhizosphère de figuier |
| 52 | El rouached | Mila | Rhizosphère pomme de terre |
| 53 | El khroub | Constantine | Rhizosphère de blé tendre |
| 54 | Teleghma | Mila | Rhizosphère d'ail |
| 55 | El milia | Jijel | Rhizosphère d'Olive |
| 56 | El Tarf | El Tarf | Rhizosphère de blé |
| 57 | Salah boucheour | Skikda | Rhizosphère de mandarinier |
| 58 | Jijel | Jijel | Rhizosphère de blé |

Matériel et méthodes

| | | | |
|----|----------------|----------------|------------------------------------|
| 59 | El hadaik | Skikda | Rhizosphère d'Oranger |
| 60 | Skikda | Skikda | Rhizosphère de blé |
| 61 | El Milia | Jijel | Rhizosphère de figuier de barbarie |
| 62 | Toudja | Bejaia | Rhizosphère de figuier de barbarie |
| 63 | Tébessa | Tébessa | Rhizosphère de blé |
| 64 | Berrahal | Annaba | Rhizosphère haricot vert |
| 65 | Didouchemourad | Constantine | Rhizosphère de tomate |
| 66 | El Harrouch | Skikda | Rhizosphère de blé |
| 67 | Ain smara | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 68 | Annaba | Annaba | Rhizosphère de blé |
| 69 | Oum el bouaghi | Oum el bouaghi | Rhizosphère de blé |
| 70 | Batna | Batna | Rhizosphère de blé |
| 71 | Telegma | Mila | Rhizosphère d'oignon |
| 72 | Ain nahas | Constantine | Rhizosphère de blé |
| 73 | Didouchemourad | Constantine | Rhizosphère de pomme de terre |
| 74 | Telegma | Milla | Rhizosphère de carotte |
| 75 | Ain Abid | Constantine | Rhizosphère de lentilles |
| 76 | El meridj | Constantine | Rhizosphère d'avoine |
| 77 | Ghilizan | Ghilizan | Rhizosphère de blé |
| 78 | Blida | Blida | Rhizosphère de blé |

Matériel et méthodes

| | | | |
|----|--------------|----------------|---------------------------|
| 79 | Jijel | Jijel | Rhizosphère de blé |
| 80 | Bejaia | Bejaia | Rhizosphère de blé |
| 81 | Sétif | Sétif | Rhizosphère d'orge |
| 82 | El Eulma | Sétif | Rhizosphère de blé |
| 83 | Ain el baida | Oum el bouaghi | Rhizosphère de blé |
| 84 | Tamlouka | Guelma | Rhizosphère de blé |
| 85 | Khanchla | Khanchla | Rhizosphère de blé tendre |

2. Isolement des champignons de *Trichoderma spp*

2.1. Préparation des suspensions- dilutions

❖ But

La diminution de la charge microbienne par dilution de l'échantillon de sol à analyser est réalisée dans le but d'une purification ultérieure plus aisée et l'obtention de colonies bien séparées à partir des cultures mixtes.

❖ Principe

La dilution décimale consiste à diminuer la densité de sol en micro-organismes, d'abord à 1/10 puis à 1/100 et ainsi de suite jusqu'à réduire la concentration microbienne de la suspension mère au facteur de 10^{-3} . Ainsi, le sol est prêt à l'analyse microbiologique, bien que la probabilité d'éliminer un nombre considérable d'espèces microbiennes soit non nulle.

2.2. Technique d'isolement

L'isolement de l'agent antagoniste "*Trichoderma*" à partir du sol agricole est réalisé selon la méthode de suspension-dilution (Davet, 1996 ; Davet et Rouxel, 1997).

La préparation des dilutions consiste, tout d'abord, à préparer la solution mère du sol en ajoutant 1 g du sol qui est mis en suspension dans 90 ml d'eau distillée stérile, suivie d'une agitation à l'aide d'un vortex pendant quelques secondes, puis laissée décanter une à deux minutes (c'est la dilution 10^{-1}).

Un ml de la solution mère est versé dans un tube contenant 9 ml d'eau distillée stérile, c'est la dilution 10^{-2} . Après agitation, 1 ml de la solution 10^{-2} est prélevé stérilement, puis transféré dans un deuxième tube contenant comme le premier, 9 ml d'eau distillée stérile (c'est la dilution 10^{-3}).

2.2.1. Milieu de culture utilisé

• Milieu PDA

Le milieu de culture utilisé pour l'isolement des champignons du sol est le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Mouria *et al.*, 2013). Il est composé de :

- 200 g pomme de terre
- 20g agar agar
- 20g saccharose
- 1000 ml eau distillé

Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée. Le protocole est le suivant :

Tout d'abord faire cuire 200g de pommes de terre pelées, lavées et coupées en tranches fines dans 500 ml d'eau pendant une heure, puis filtrer le liquide avec une passoire dans une bouteille en verre. 20g d'agar-agar et 20g de saccharose sont ajoutés et le volume est complété jusqu'à 500 ml avec l'eau distillée. La préparation est alors mise dans un four à micro-ondes pendant 10 min jusqu'à ce qu'il n'y ait aucun grumeau dans le milieu. Une capsule de 1 g d'antibiotique antibactérien est par la suite rajoutée, pour inhiber des bactéries qui peuvent contaminer le milieu. Le milieu de culture prêt est coulé dans des boîtes de Pétri stériles, et enfin un ml de la suspension est prélevé à l'aide d'une pipette graduée puis étalé sur toute la surface de la boîte de Pétri par un mouvement circulaire sur plan horizontal.

Il est à noter que trois répétitions sont réalisées pour chaque dilution. Les boîtes ont été incubées à 27-30°C pendant six jours (**Botton *et al.* 1990**).

3. Dénombrement

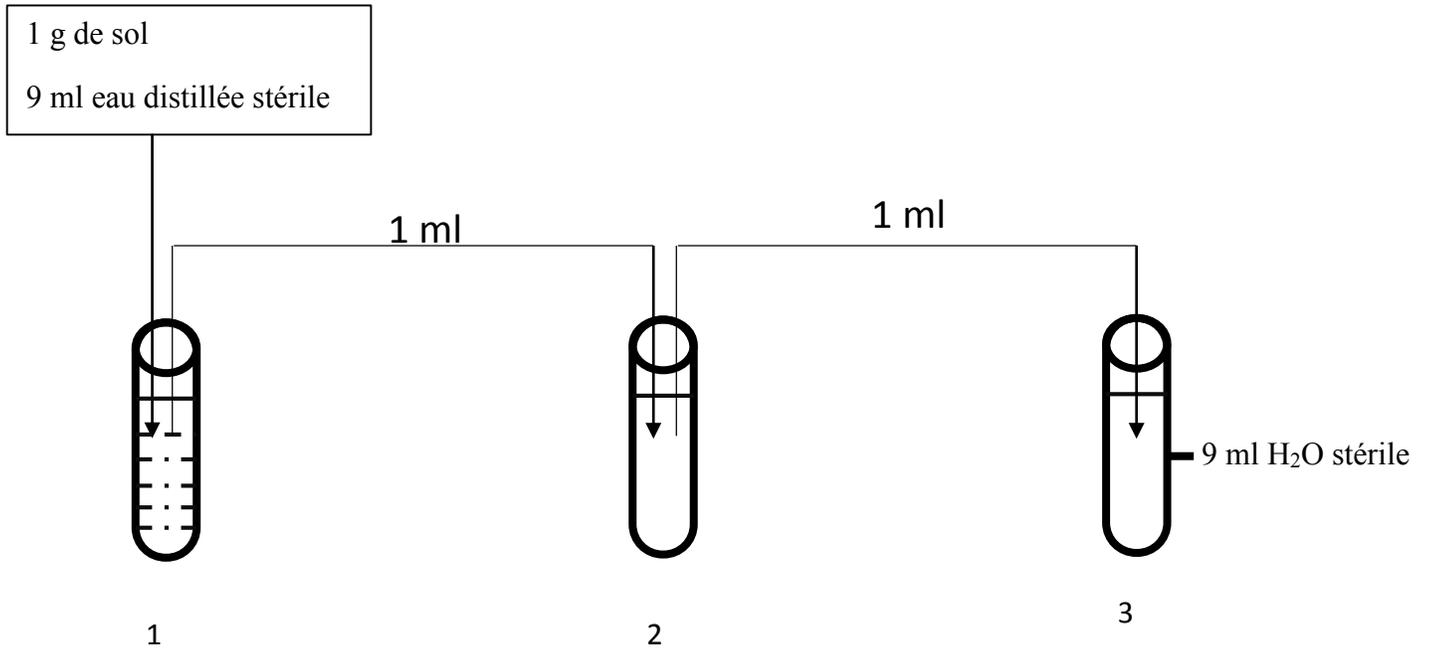
Le dénombrement consiste à compter les colonies présentées sur les boîtes de pétri, le comptage se fait macroscopiquement en tenant compte des caractéristiques des colonies sur leur milieu approprié.

4. Purification

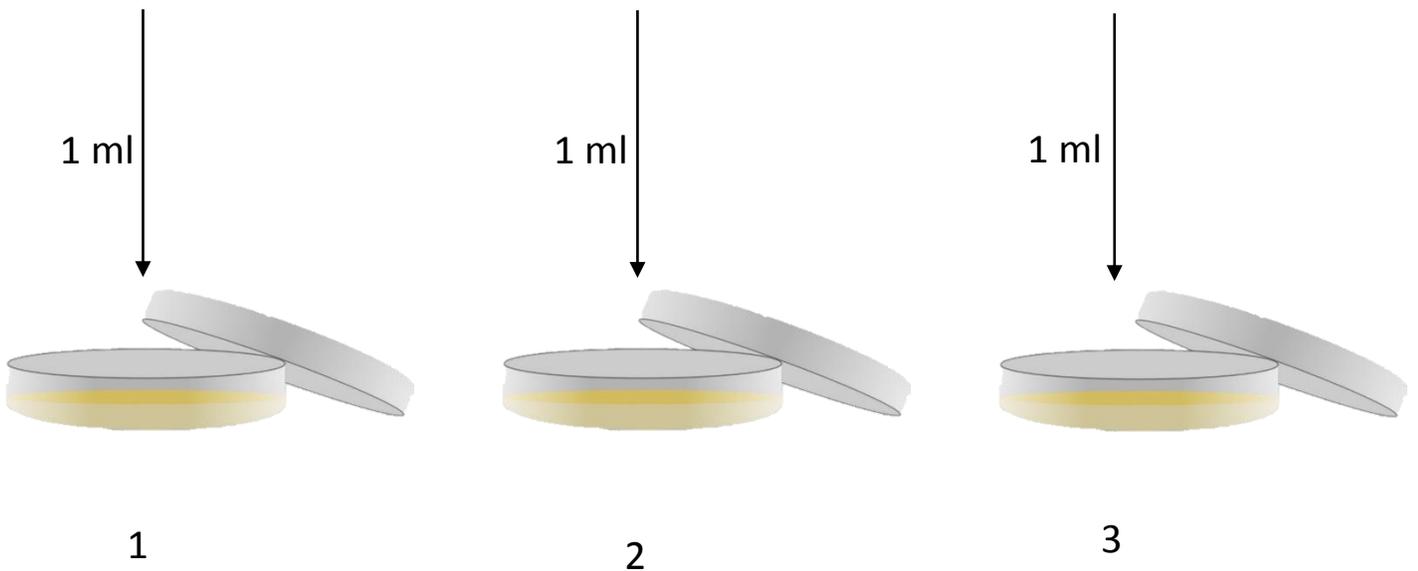
Après un bon développement des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (**Guiraud, 1998**).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse de platine stérilisée tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur le milieu PDA, ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte sur laquelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement. Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen et les boîtes sont incubées à 28°C pendant 15 jours jusqu'à obtention des souches pures.

Dilution

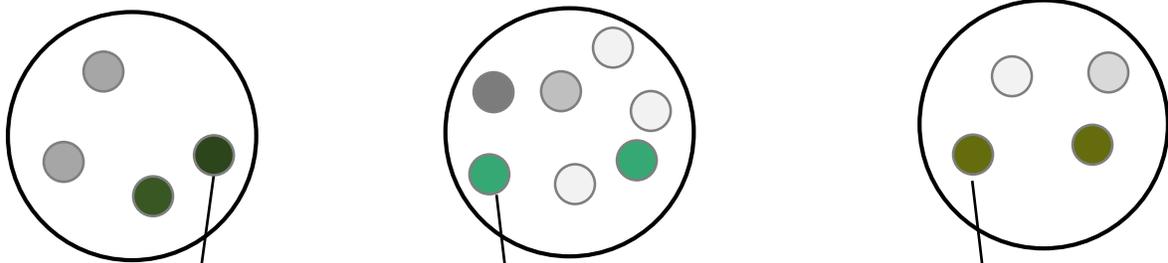


Ensemencement Sur boîtes de Pétri

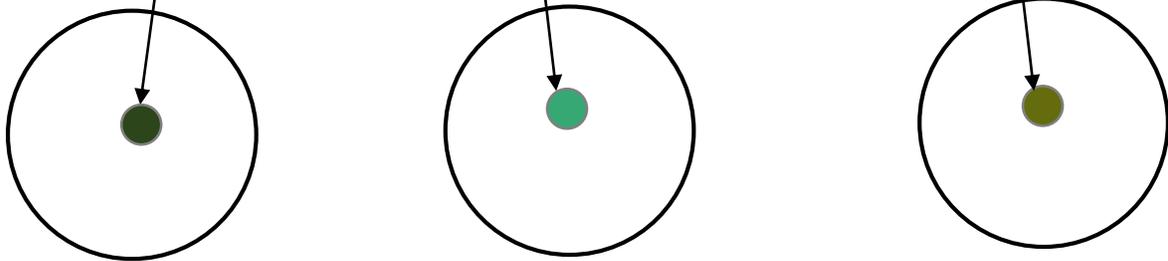


Incubation à 28°C

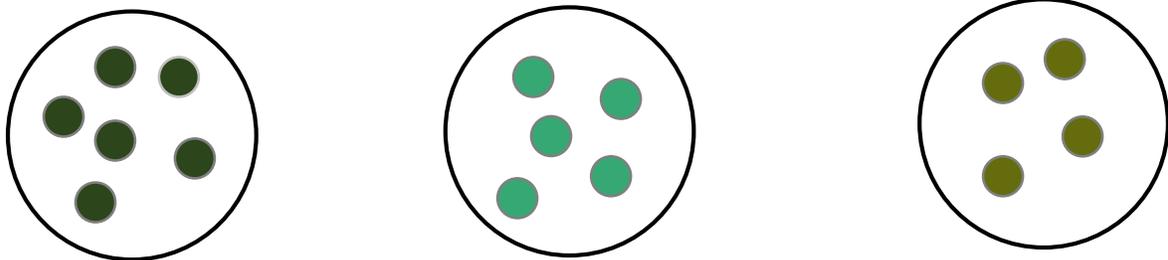
Apparition des colonies



Isolement et purification



Dénombrement



Conservation à 28°C

Figure 6: Procédé de dénombrement et d'isolement des champignons du genre trichoderma

Résultats et discussion

1. Isolement et purification des isolats appartenant au genre *Trichoderma*

Les échantillons de sol rhizosphérique collectés a été analysée. Des isolats du genre *Trichoderma sp* ont été présents dans 17 sols rhizosphériques.

L'isolement et la purification des colonies suspectées de *Trichoderma sp*, ont été réalisés sur milieu PDA. L'identification de ce genre a été faite sur la base des critères morphologiques.

Les isolats obtenus sont représentés par des codes (T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25, T26, T27, T28, T29, T30, T31 et T32).

1.1. Caractéristiques des souches purifiées

1.1.1. Examen macroscopique

Après incubation sur milieu PDA, un examen macroscopique de 17 isolats purifiés a été effectué. L'examen macroscopique permet de définir la couleur, l'aspect des colonies et le taux de croissance. Ces critères ont été considérés comme des caractéristiques taxonomiquement utiles pour une identification préliminaire de *Trichoderma* (**Samuels et al, 2002**).

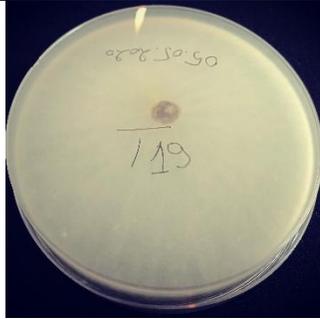
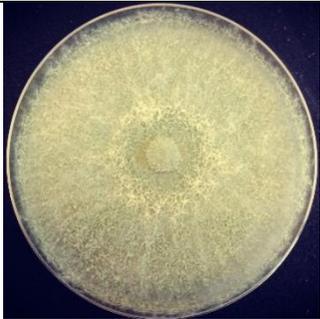
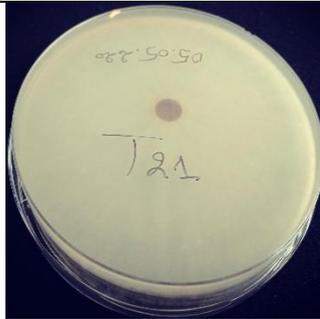
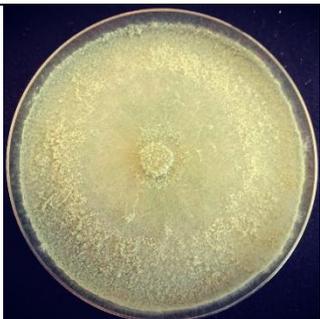
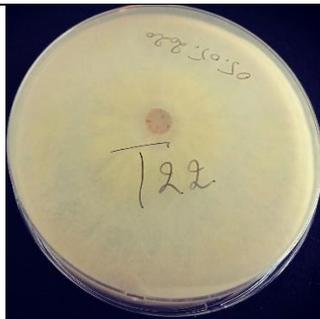
Les aspects macroscopiques des colonies des différents isolats sont récapitulés dans le tableau ci-dessous :

Résultats et discussion

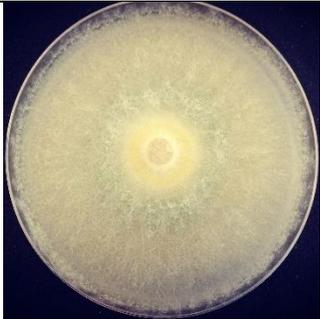
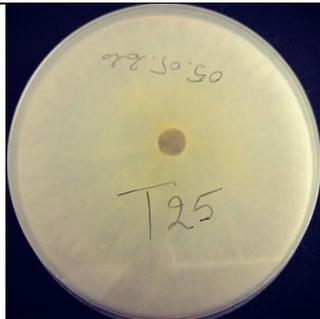
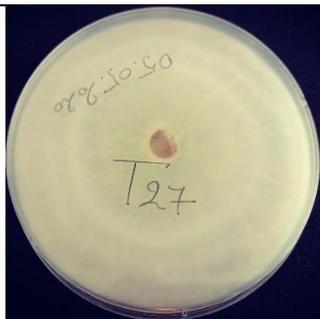
Tableau 2 : Résultats de l'examen macroscopique des souches de *Trichoderma sp* isolées à partir des différents sols rhizosphériques.

| Les isolats | Observation macroscopique | | Caractéristiques macroscopiques |
|-------------|---|--|---|
| | La surface | Le revers | |
| T17 |  |  | <p>Une croissance rapide de la souche, le mycélium est réparti totalement sur la boîte avec l'apparition d'un grand spot circulaire vert au centre (conidies).</p> <p>Le revers est orange.</p> |
| T24 |  |  | <p>Une croissance rapide avec une pigmentation verte répartie sur toute la boîte et des nuances blanches de différentes tailles.</p> |
| T16 |  |  | |

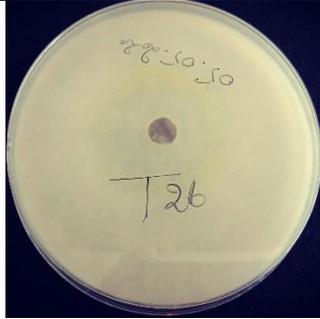
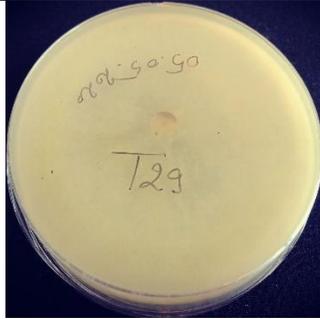
Résultats et discussion

| | | | |
|-----|---|--|--|
| T19 |  |  | <p>Le revers est incolore sauf pour l'échantillon T22 et T16, il y a une tache jaune-verdâtre.</p> |
| T21 |  |  | |
| T22 |  |  | |
| T23 |  |  | |

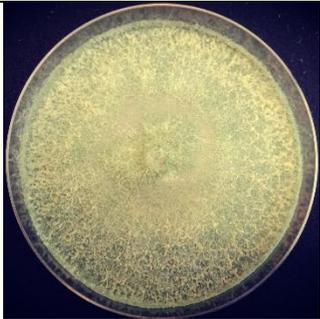
Résultats et discussion

| | | | |
|-----|---|--|--|
| T18 |  |  | <p>Thalle plus ou moins hyalin devenant vert et blanc en vieillissant avec des amas duveteux bleu-verts de conidies.</p> <p>Le revers est incolore.</p> |
| T20 |  |  | <p>Thalle floconneux devenant vert et blanc avec un anneau jaune au centre.</p> <p>Le revers apparaît en jaune au centre.</p> |
| T25 |  |  | <p>Une pigmentation verte au centre avec des nuances blanches et l'apparition des anneaux concentriques.</p> <p>Une croissance plus rapide de l'échantillon T27.</p> |
| T27 |  |  | <p>Le revers apparaît en vert au centre.</p> |

Résultats et discussion

| | | | |
|-----|---|--|--|
| T26 |  |  | Les anneaux n'ont pas été observés et le mycélium s'est réparti uniformément sur les plaques. |
| T29 |  |  | Le revers est incolore. |
| T28 |  |  | Apparition des taches vertes avec des nuances blanches à l'extrémité. Le revers fait apparaître des taches blanches |
| T30 |  |  | Thalles filamenteux verts (conidie) et blancs (phialides) Le revers fait apparaître des taches vertes. |

Résultats et discussion

| | | | |
|-----|---|--|---|
| T31 |  |  | Un spot blanc au centre. Le revers fait apparaître une tâche de la même couleur de la colonie en surface. |
| T32 |  |  | Les anneaux n'ont pas été observés et le mycélium s'est réparti uniformément sur la boîte. Le revers est incolore. |

D'après les recherches faites par **Jaklitsch et Voglmayr, H 2015** sur différentes espèces de *Trichoderma*, on remarque que les caractéristiques macroscopiques de l'isolat T32 sont presque similaires à celles décrites pour *Trichoderma euskadiense*.

L'isolat T18 est aussi morphologiquement proche à l'espèce *T. viride* représentée dans l'étude de **Guigón-López 2010**, la même constatation pour l'isolat T17 qui ressemble à l'espèce *T. harzianum* observée dans l'étude rapportée par **Kim JY 2018**.

Les souches de *Trichoderma sp* isolées à partir de différentes rhizosphères sont morphologiquement très similaires ce qui rend difficile de distinguer entre les espèces. Des méthodes moléculaires basées sur l'amplification par PCR et les polymorphismes des séquences de l'ADN, se sont montrées utiles dans l'identification des isolats de ce genre (**Hjeljord et Tronsmo, 1998**).

2. Analyse des résultats

2.1. Répartition des échantillons en fonction de la présence de *Trichoderma sp*

La répartition des échantillons du sol rhizosphérique en fonction de la présence des champignons du genre *Trichoderma* est représentée dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : répartition des échantillons contenant le genre *Trichoderma sp*

| Echantillons analysés | Nombre | Pourcentage % |
|-----------------------|-----------|---------------|
| Echantillons négatifs | 68 | 80 |
| Echantillons positifs | 17 | 20 |
| Total | 85 | 100 |

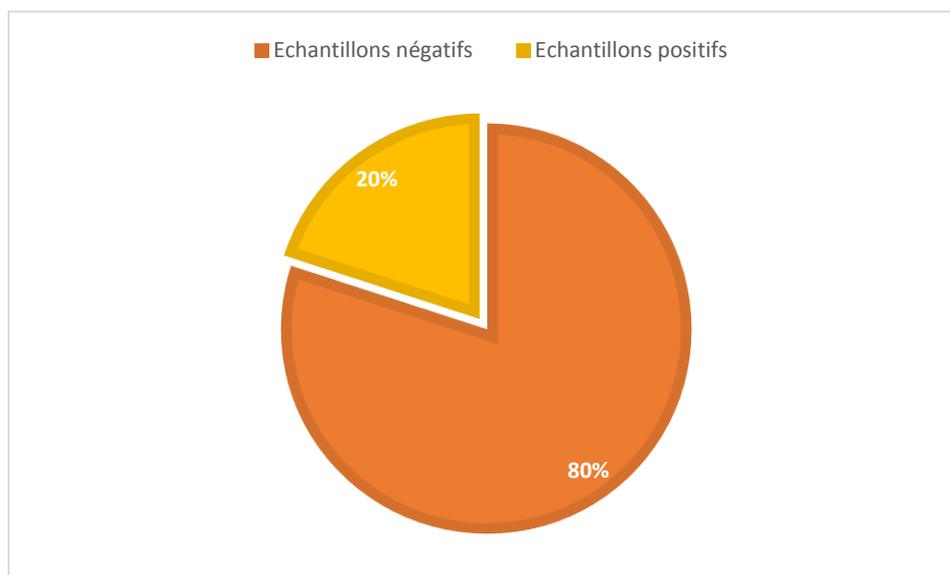


Figure 7 : La répartition des échantillons contenant *Trichoderma sp*.

Dans notre étude, 85 échantillons de sols ont été analysés, la présence de *Trichoderma* était positive dans 17 seulement d'entre eux avec une proportion de 20% (**figure 7**). Les champignons du genre *Trichoderma* étaient complètement absents dans le reste des sols analysés représentant une proportion de 80% (**figure 7**).

2.2. Répartitions des isolats de *Trichoderma sp* en fonction de la région

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* présents dans les sols rhizosphériques en fonction de la région est représentée dans le **tableau 4**.

Tableau 4 : Répartitions des isolats des *Trichoderma sp* selon de la région.

| La région | Le nombre | Le pourcentage |
|-------------------------|------------------|-----------------------|
| Constantine | 3 | 17,65% |
| Mila | 2 | 11,76% |
| Oum el bouaghi | 2 | 11,76% |
| Adrar | 1 | 5,88% |
| Borj bouarreridj | 1 | 5,88% |
| Bouira | 1 | 5,88% |
| Alger | 1 | 5,88% |
| Bejaia | 1 | 5,88% |
| Jijel | 1 | 5,88% |
| Ghilizane | 1 | 5,88% |
| Khenchela | 1 | 5,88% |
| Sétif | 1 | 5,88% |
| Batna | 1 | 5,88% |

Résultats et discussion

| | | |
|--------------|----|------|
| Total | 17 | 100% |
|--------------|----|------|

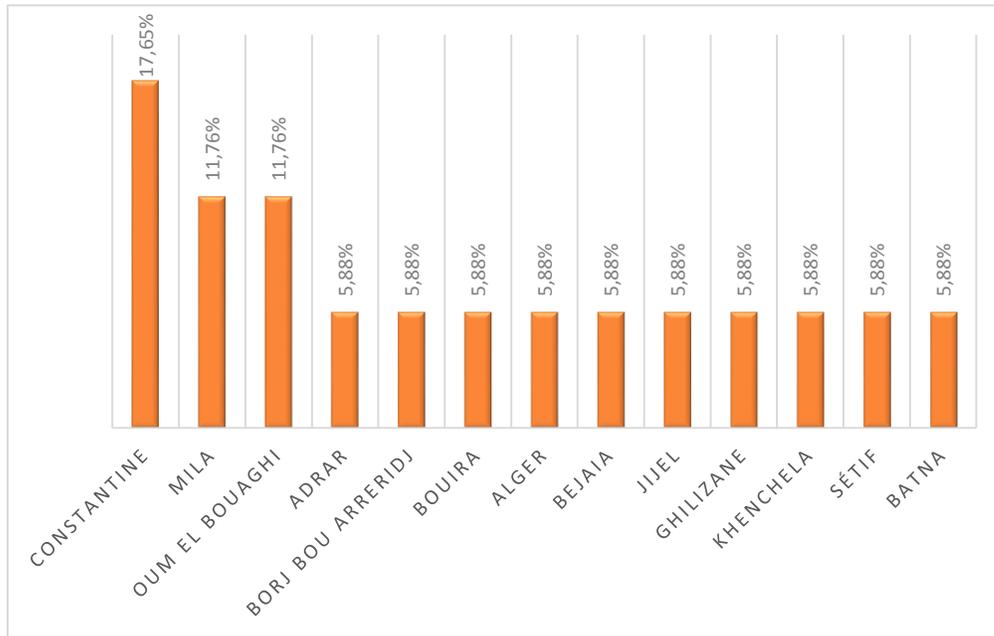


Figure 8: Répartitions des isolats de *Trichoderma* selon la région.

Parmi 85 échantillons analysés provenant de 23 wilayas, nous remarquons que la wilaya de Constantine occupe la première position où se trouvent des échantillons de sol rhizosphérique contenant le genre *Trichoderma*, suivie par la wilaya de Mila et Oum el bouaghi qui occupent la même fréquence (11,76%), le sol rhizosphérique dans le reste des wilayas est presque dépourvu des souches de *Trichoderma*. Ces résultats peuvent être expliqués par la longue période de transport des échantillons et leurs mauvaises conservations, celles-ci entraînent une modification dans les conditions physico-chimiques du sol ce qui altèrent d'une manière directe l'existence de certaines espèces microbiennes (**Figure 8**). En outre, la majorité des échantillons sont collectés à partir des différents endroits de Constantine et les Wilayas qui sont à proximité : Mila et Oum el bouaghi , ce qui peut expliquer la présence abondante de *Trichoderma* dans ces régions.

2.3. Répartition des isolats de *Trichoderma sp* en fonction du type de rhizosphère

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* présents dans les sols rhizosphériques en fonction du type de la rhizosphère (la culture) est représentée dans le **tableau 5**.

Tableau 5 : Répartition des isolats de *Trichoderma sp* selon le type de rhizosphère.

| Type de rhizosphère | Le nombre des isolats | Le pourcentage |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| Rhizosphère de blé | 7 | 41,18% |
| Rhizosphère d'haricot | 1 | 5,88% |
| Rhizosphère de pomme de terre | 1 | 5,88% |
| Rhizosphère d'ail | 1 | 5,88% |
| Rhizosphère de figuier | 1 | 5,88% |
| Rhizosphère d'avoine | 1 | 5,88% |
| Rhizosphère | 5 | 29,41% |
| Total | 17 | 100% |

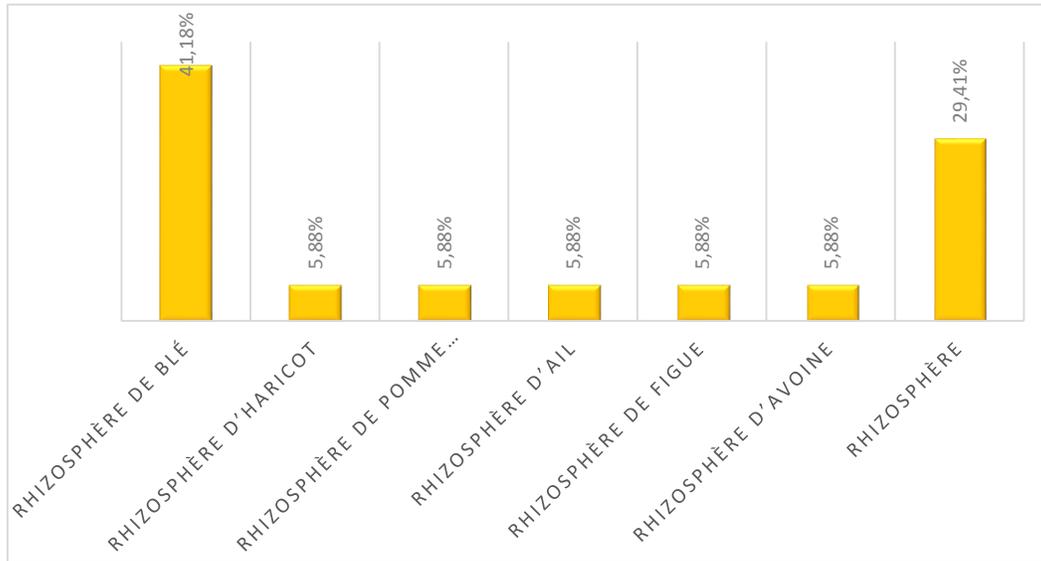


Figure 9 : Répartition des isolats de *Trichoderma sp* selon le type de rhizosphère.

La répartition des isolats selon le type de rhizosphère représentée dans la **figure 9** indique que *Trichoderma sp* se trouve essentiellement dans la rhizosphère du blé avec un pourcentage de 41,18% par rapport aux autres échantillons analysés. Par ailleurs ce genre de moisissure est moins abondant dans la rhizosphère d'haricot, de pomme de terre, d'ail, de figuier et d'avoine avec une fréquence de 5,88% pour chacun. Ce résultat peut être expliqué par la spécificité des exsudats sécrétés par chaque plante, qui déterminent la microflore de la rhizosphère.

Les études rapportées par **Laszlo K (2011)** et son équipe, montrent que la communauté des *Trichodermasp* est très diverse dans la rhizosphère de blé d'hiver. Ils ont détecté dans leurs échantillons 11 espèces, les plus fréquemment isolées sont *T. harzianum* et *T. virens* et les autres sont les suivantes : *T. pleuroticola*, *T. tomentosum*, *T. cerinum*, *T. rossicum*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. atroviride*, *T. gamsii*, *T. koningiopsis* et *T. longibrachiatum* (**Laszlo K, 2011**) ; certaines d'entre elles peuvent être probablement les mêmes isolées dans notre étude.

2.4. Répartition des isolats de *Trichoderma* sp en fonction des caractéristiques macroscopiques (espèces)

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* présents dans les sols rhizosphériques en fonction de leurs caractéristiques macroscopiques est représentée dans le **tableau 6**.

Tableau 6 : Répartition des isolats de *Trichoderma* sp selon les caractéristiques macroscopiques.

| Groupe | Caractéristiques macroscopiques | Le nombre des isolats | Le pourcentage |
|--------|---|-----------------------|----------------|
| 1 | -croissance rapide de la souche, -mycélium réparti totalement sur la boîte -apparition d'un grand spot circulaire vert au centre (conidies). -revers orange. | 1 | 5,88% |
| 2 | -croissance rapide - pigmentation verte répartie sur toute la boîte -nuances blanches de différentes tailles. -revers incolore -tache jaune-verdâtre. | 6 | 35,29% |
| 3 | -Thalle plus ou moins hyalin devenant vert et blanc en vieillissant -amas duveteux bleu-verts de conidies. - revers incolore. | 1 | 5,88% |
| 4 | -Thalle floconneux devenant vert et blanc - anneau jaune au centre. -revers jaune au centre. | 1 | 5,88% |
| 5 | -pigmentation verte au centre -nuances blanches -anneaux concentriques. -croissance plus rapide. | 2 | 11,76% |

Résultats et discussion

| | | | |
|----|--|----|--------|
| 6 | -Absence d'anneaux -mycélium réparti uniformément sur les plaques. -revers unicolore. | 2 | 11,76% |
| 7 | -taches vertes -nuances blanches à l'extrémité. Le revers avec des taches blanches | 1 | 5,88% |
| 8 | -Thalles filamenteux verts (conidie) et blancs (phialides) -revers avec des taches vertes. | 1 | 5,88% |
| 9 | -Un spot blanc au centre. -revers avec une tâche de la même couleur de la colonie en surface. | 1 | 5,88% |
| 10 | -Absence d'anneaux -mycélium réparti uniformément sur la boîte. -revers incolore. | 1 | 5,88% |
| | Total | 17 | 100% |

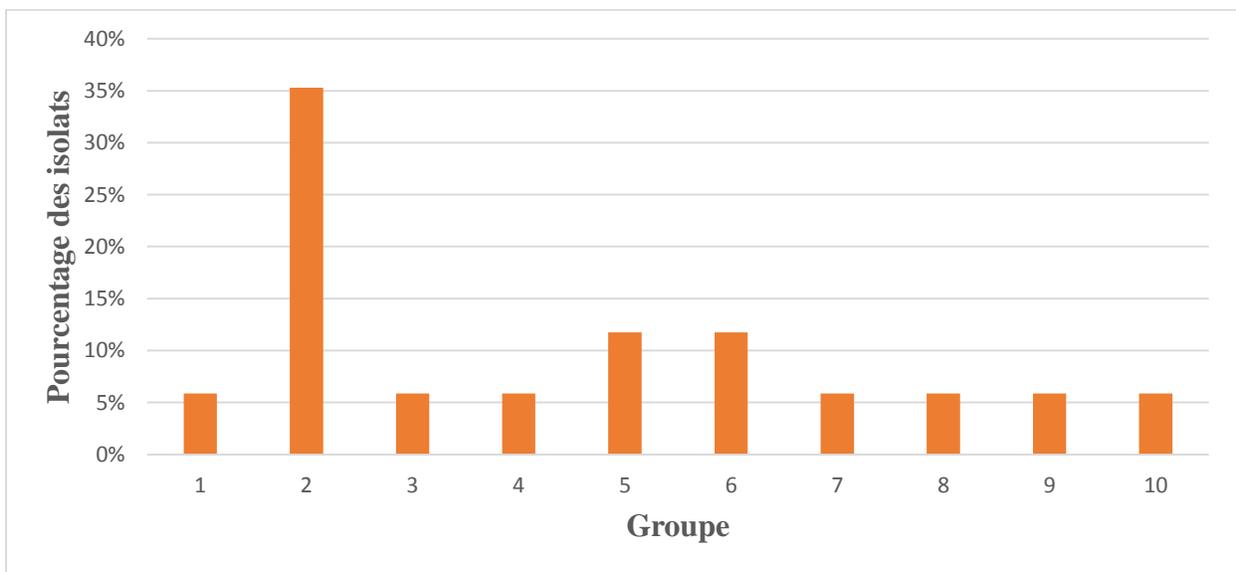


Figure 10 : Répartition des isolats de Trichoderma selon les caractéristiques macroscopiques.

Dans cette étude, un total de 17 isolats de *Trichoderma* sp ont été isolés à partir des différents échantillons. Ces 17 isolats sont divisés en 10 groupes selon la ressemblance des caractéristiques macroscopiques (**tableau 6**). D'après la **figure 10** nous remarquons que le 2eme groupe est le plus dominant, dont 35 % des isolats sont presque similaires, suivi par le 5eme et le 6eme groupe qui représentent 11% des isolats. Par ailleurs, le reste des groupes sont peu fréquents. Ces résultats montrent une diversité importante des espèces de *Trichoderma* dans les différentes régions en Algérie, avec une abondance des souches appartenant au 2eme groupe.

D'après les études rapportées par **Okoth et al 2007**, *T. harzianum* était l'espèce la plus fréquemment isolée à partir de 60 échantillons de sol provenant de différents endroits.

Widden et Abitbol 1980 ont constaté qu'il y a une différence significative dans la distribution des espèces de *Trichoderma* entre les différents habitats. La variation saisonnière est un facteur qui affecte le nombre des espèces dans les échantillons. Des populations plus importantes de *Trichoderma* sp dans les sols ont été estimées au printemps et en été par rapport à l'automne et à l'hiver. **Danielson et Devey 1973** ont trouvé que *T. viride* et *T. polysporum* sont limités aux zones où les températures sont basses. D'autre part, *T. harzianum* se trouve le plus souvent dans les régions à climat chaud. *T. hamatum* et *T. koningii* sont largement distribués dans des zones où les conditions climatiques sont diverses (**Roiger et al 1991**). Dans notre étude, les échantillons ont été collectés en hiver (décembre, janvier et février), ce qui peut être une raison de plus qui explique le nombre réduit des isolats par rapport au nombre d'échantillons analysés.

En outre, l'humidité est considérée comme un facteur majeur qui affecte la diversité des espèces de *Trichoderma*. **Danielson et Devey 1973** ont révélé qu'une teneur élevée en humidité pourrait être utile pour augmenter la population de *Trichoderma*. Également, **Weindling et Fawcett 1934** ont signalé que l'acidité affecte aussi la présence et la densité de *Trichoderma spp* et que certaines espèces peuvent s'adapter aux habitats acides.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

L'agriculture en Algérie a connu un développement positif ces dernières années. Cependant ce domaine est menacé par les phytopathogènes qui attaquent les plantes cultivées et devant cette situation nous constatons qu'en Algérie il y a peu de travaux sur *Trichoderma spp* qui est connue comme un agent de lutte biologique contre certains champignons. C'est à cette problématique que nous avons attaché ce travail sur l'isolement et la caractérisation des espèces du genre *Trichoderma* dont l'objectif est de connaître leur diversité en Algérie.

Au cours de cette étude, nous avons pu isoler 17 souches de *Trichoderma spp* à partir de 85 échantillons de sols rhizosphériques collectés de différentes régions en Algérie. L'identification du genre a été effectuée selon les caractères macroscopiques.

Sur l'ensemble des 17 isolats de *Trichoderma spp*, nous avons obtenu les résultats suivants :

- Les isolats ont été divisés en 10 groupes en fonction de leur ressemblance morphologique, dont le 2eme groupe est le plus dominant avec un pourcentage de 35,29%.
- La wilaya de Constantine occupe la première position où se trouvent des échantillons de sol rhizosphérique contenant le genre *Trichoderma*, suivie par la wilaya de Mila et Oum el bouaghi.
- Ces isolats se trouvent essentiellement dans la rhizosphère du blé avec un pourcentage de 41,18% par rapport aux autres types de sols rhizosphériques.

Ces résultats indiquent que le genre *Trichoderma* est présents dans les différentes régions de l'Algérie avec une biodiversité plus au moins importante. Certaines espèces de ce genre peuvent être des acteurs très efficaces contre les problèmes des maladies phytopathogènes.

Cette étude est une initiation, il est recommandé de réaliser des recherches approfondies qui visent principalement à :

- Compléter l'identification des isolats par des techniques de biologie moléculaire.
- évaluer l'activité enzymatique des isolats.
- Sélectionner les isolats qui ont un effet antagoniste sur les champignons phytopathogènes.

Références Bibliographiques

-A-

ABDESSELAM, N., 2017. IDENTIFICATIONS ET CARACTÉRISATIONS DES BACTÉRIES ISOLEES A PARTIR DE DIFFERENTS SOLS (PhD Thesis).

Ahmad I et Baker R (1987). Composition saprophytic ability and Cellulolytic activity of rhizosphere competent mutants of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*; 77: 358-362.

Atkins S.D, Clark I.M, Pande S, Hirsch P.R, et Kerry B.R (2005). The use of real-time PCR and species-specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology Ecology*; 51:257-264.-

-B-

Bais, H.P., T.L. Weir, L.G. Perry, S. Gilroy et J.M. Vivanco (2006). The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57 : p. 233-66.

BENNANI Y (2004). Le mildiou de la pomme de terre.

Bissett J A (1991). Revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Pachybasium*. *Can. J. Bot.* 69: 2373-2417.

Boivin G (2001). Parasitoïdes et lutte biologique : paradigme ou panacée ? *Vertigo - la revue électronique en sciences de l'environnement*. <https://doi.org/10.4000/vertigo.4096>

Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y et Veau P (1990) . Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. P : 34-428.

Brahmaprakash, G.P, Sahu, Pramod et Lavanya, Nair G, Sneha et Gangaraddi, Vijaykumar et Gupta, Amrita (2017). Microbial Functions of the Rhizosphere. *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*; 177-210.

-C-

Cayrol J C, Djian-Caporalino C, Panchaud-Mattei E (1992). La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites. *Courrier Environ*; 17: 31-44.

Chet I., J. Inbar et I. Hadar (1997). Fungal antagonists and mycoparasites,” Wicklow DT, Soderstrom B(eds.). *The mycota IV: Environmental and microbial relationships*, Springer-Verlag Berlin. P: 165-184.

Corbaz Roger (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. 1ère éd. Suisse. ISBN 2-88074-201-3.

-D-

Danielson R.M et Devey C.B (1973). The abundance of Trichoderma propagules and the distribution of species in forest soil. *Soil Biol Biochem*; 5: 485-494

Davet P (1996). Vie microbienne du sol et production végétales, (edn) INRA. Paris

Davet P et Rouxel F (1997). Détection et isolation des champignons du sol. (edn) INRA Paris.

Degenklob T., Berf A., Gans W., Schlegel B et Grafe U (2003). The occurrence of peptaibols and structurally related peptaiboliques in fungi and their fragment ions. *J. Peptide. Sci.*9:666-678.

Deravel, J., Krier, F., Jacques, P (2014). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*

Diem H.G et Mangenot F (1975) Influence de la rhizosphère sur les interactions microbiennes dans le sol, *Bulletin de la Société Botanique de France*; 122: 203-212.

Domenico P (2011). *Trichoderma spp. in innovative substrates for ornamentals plants.* Thèse de doctorat: Department of Agriculture, Food and Environment. Italy: University of Pisa, 11-13p.

Dommergues Y (1975). Pourquoi et comment développer les recherches sur la rhizosphère ? . *Bulletin de la Société Botanique de France* ; 122 : 7-19.

Dommergues Y (1978). Mycorrhizes et fixation d'azote. *Microbiologie des Sols du Centre O.R.S.T.O.M*; 9/14 : 1040-1056.

-E-

Eisendle R., Oberegger P., Buttinger and H. Illmer Haas (2004). Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the Pae C-mediated ambient-pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*,” *Eukaryotic cell*.Vol. 3. P: 561-563.

Esposito E et Silva, M (1998). Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*.*Crit. Rev. Microbiol.*, 24 (2): 89-98.

-G-

Gams W et Bissett J (1998). Morphology and identification of *Trichoderma* sp. In: *Trichoderma and Gliocladium* Volume 1: Basic biology, taxonomy and genetics. Kubicek C.P, Harman G.E et Ondik K.L (Eds.). London (UK): Taylor & Francis Ltd. p. 3-34.

Gary E (1998). *Trichoderma et Gliocladium*. Edited by Gary E, Harman and Christian P. Kubicek, 2. P: 367.

Gelin, S., Stengel, P (1998). Sol : interface fragile. Editions Quae.

Ghisalberti E.L et Sivasithamparam K (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil. Biol. Biochem* ; 23: 1011-1020.

Guigón-López C, Víctor G.P, Francisco V.A, Elizabeth C.M, Graciela Dolores Á.Q, Leticia B.L, Michelina R, Stefania L, Sheridan W et Lorito M (2010). Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. Su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatógenos, *Revista mexicana de fitopatología*; 28: 87-96.

Giraud J (1998). *Microbiologie alimentaire* .p 8-101.p 330 Edition Donod, Paris.

Grondona, M.R. Hermosa, M. Tejada, M.D. Gomis, P.F. Mateos, P.D. Bridge, E. Monte et I. Garcia-Acha (1997). Physiological and biochemical characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soil borne fungal plant pathogens," *Appl Environ Microbiol.* Vol. 63.p: 3189-3198.

-H-

Harman E.G, Kubicek C.P (1998). *Trichoderma and Gliocladium*. Volume 2: *enzymes, biological control and commercial applications*. London (UK): Taylor & Francis. p.122-124.

Hiltner, L (1904). Über neuere erfahrungen und probleme auf dem gebiete der bodenbakteriologie unter besonderer berücksichtigung der bründüngung und der brache. *Arbeiten Aus Dem Paul-Ehrlich-Institut (Bundesamt fur Sera und Impfstoffe) zu Frankfurt A.M. (Stuttgart).*DLG ; (98): p. 59-78.

Hinsinger P., Gobran G., Gregory P., et Wenzel W.W (2005). Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes: research review. *New phytologist* 168 I.N.R.A. 293-303p.

Hjeljord L, Tronsmo A (1998). *Trichoderma and Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma and Gliocladium*, Volume:2 *Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman G E, Kubicek C P (EDs). London (UK): Taylor and Francis Ltd. p. 131-151.

-I-

Irina S. Druzhinina , Verena Seidl-Seiboth , Alfredo Herrera-Estrella , Benjamin A. Horwitz, Charles M. Kenerley, Enrique Monte, Prasun K. Mukherjee, Susanne Zeilinger, Igor V. Grigoriev et Christian P. Kubicek (2011). Trichoderma: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews. Microbiology*. Volume 9.

-J-

Jaklitsch W.M et Voglmayr H (2015). Biodiversity of Trichoderma (Hypocreaceae) in Southern Europe and Macaronesia. *Studies in Mycology*; 80 :1–87.

Jijakli, H (2003). La lutte biologique en phytopathologie. **In :** *Lepoivre, P. phytopathologie*. Ed. les presses agronomiques des Gembloux. Pp : 289-311

Johanne C (2002). Le pouvoir antagoniste de Trichoderma. Horti protection INC. Conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St Rémi le 5 décembre 2002.

Jourdeuil, P., Grison, P. et Fraval, A. (1991). La lutte biologique, un aperçu historique. In *Institut national de la recherche agronomique (INRA)*. Le courrier de l'environnement de l'INRA, [En ligne]. <http://www.inra.fr/dpenv/jourdc15.htm> (Page consultée le 2 février 2010).

-K-

Kim J.Y, Kwon H.W, Lee D.H, Ko H.K et Kim S.H (2019). Isolation and Characterization of Airborne Mushroom Damaging Trichoderma spp. from Indoor Air of Cultivation Houses Used for Oak Wood Mushroom Production Using Sawdust Media. *The Plant Pathology Journal*; 35(6):674-683.

Kubicek C.P., Bissett J., Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C et Szakacs G (2003). Genetic and metabolic diversity of Trichoderma sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38 (3): 310-319.

Kucuk et Kivanc (2004). vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma hazrianum*. *Turk. J. Biol.* Vol 28. P: 11-128.

-L-

Laszlo K, Láday M, Körmöczi P, Manczinger L, Rákhely G & Vágvölgyi C et Szekeres A (2011). Trichoderma communities of the winter wheat rhizosphere. *Agrár- és vidékfejlesztési szemle*; 6: 413-418.

Lemanceau, L (1992). Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescents 413–437, 414.

Lepinay Clémentine (2013). *Etude des interactions plantes-microbes et microbes-microbes au sein de la rhizosphère, sous un aspect coûts-bénéfices, dans un contexte de variation*

environnementale. Thèse de doctorat : Sciences agricoles. France : Université de Bourgogne, 22-32p.

Li J, Zou C.G, Xu J.P, Ji X.L, Niu X.M, Yang J.K et al (2015). Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions: Basis for biological control of plant-parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*; 53:67-95.

Lilliana Hoyos-Carvajal et John Bissett (2011). Biodiversity of Trichoderma in Neotropics. In: *The Dynamical Processes of Biodiversity - Case Studies of Evolution and Spatial Distribution*, Oscar Grillo and Gianfranco Venora (Ed). Croatia: IntechOpen. p. 303-315.

Loeppky C.B, Sprouse R.F, Carlson J.V et Everett E.D (1983). Trichoderma viride peritonitis. *Southern Medical Journal*; 76:798–799.

Lombi, E., Zhao, F.-J., Dunham, S.J., Mcgrath, S (2001). Phytoremediation of Heavy Metal–Contaminated Soils. *Journal of Environment Quality* 30, 1919. <https://doi.org/10.2134/jeq2001.1919>

Lugtenberg B et Kamilova F (2009). Plant-growth-promoting Rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol*; 63 :541–556.

-M-

Maurice Roth (1980). *Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des Insectes*, Paris : Office de la recherche scientifique et technique outre-mer (ORSTOM). p.11.

McNear Jr, D.H (2013). The rhizosphere – roots, soil and everything in between. *Nature Education Knowledge*; 4(3):1.

Meliani A, Bensoltane A, Benidire L et Oufdou K (2017). Plant growth-promotion and IAA secretion with *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Research & Reviews: Journal of Botanical Sciences* ;6(2):16-24.

Mench M (1985). Influence des exsudats racinaires solubles sur la dynamique des métaux dans la rhizosphère du maïs (*Zea mays* L). Thèse de Dr del'INPL, Univ Nancy, 109 p

Mohamed-benkada Mustapha (2006). Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre Trichoderma. Th. : Pharmacie : Nantes : 9,10, 11,12,13,p.

Mouria, B., Ouazzani-Touhami, A et Douira, A (2013). Isolement et identification de la mycoflore du compost des déchets urbains solides. *Nature & Technology* 13.

Références bibliographiques

-O-

Okoth S.A, Roimen H, Mutsotso B et al (2007). Land use systems and distribution of Trichoderma species in Embu region, Kenya. *Trop and Sub trop Agroeco Sys*; 7 : 105-112.

-P-

Papavizas G.C (1985). Trichoderma and Gliocladium: Biology, Ecology, and Potential for Biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*; 23, 23–54.

Parkash V et Saikia AJ (2015). Habitational abiotic environmental factors alter arbuscular mycorrhizal composition, species richness and diversity index in *Abroma augusta* L. (Malvaceae) rhizosphere. *Plant Pathology & Quarantine* ;5(2):98-120.

Peng S (1983). Biological control - One of the fine traditions of ancient Chinese agricultural techniques. *Scientia Agricultura Sinica*, no 1, p. 92-98.

Persoon C.H (1794). Desposita methodica fungorum. Romer's. *Neues Mag Bot.* 1: 81- 128.

Pratibha P, Kapoor N, Sarita Sachdeva (2013). Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Rev Environ Sci Biotechnol*; 3:63-77.

-R-

Ragnaud J.M, Marceau C, roche M.C, Wone C (1984). Infection prétoriale a *trichoderma koningii* sur dialyse péritonéale continue ambulatoire, *Médecine et maladie infectueuse* ; 7/8: 402-405.

Richter S, Cormican M.G, Pfaller M.A, Lee C.K, Gingrich R, Rinaldi M.G, and D.A (1999). Sutton, Fatal Disseminated Trichoderma longibrachiatum Infection in an Adult Bone Marrow Transplant Patient: Species Identification and Review of the Literature, *J Clin Microbiol*; 37: 1154–1160.

Rodrigo M, Paolina G, Jos M. Raaijmakers (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*; 37: 634–663.

Roeland L, Berendsen et Pieterse, Corné M.J, Peter A.H.M. Bakker (2012). The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*; 17: 478-486.

Roiger D.J et Jeffers S.N (1991). Evaluation of Trichoderma spp. for biological control of Phytophthora crown and root rot of apple seedlings. *Phytopathology* ; 81(8) : 910-917.

Références bibliographiques

Romain Giraud (2018). *Trichoderma* : une solution de biocontrôle, *clinique du gazon*. Disponible sur le site : <http://cliniquedugazon.fr/index.php/2018/08/10/trichoderma-une-solution-de-biocontrole/>

Roquebert M.F. (1996). Interaction antagoniste des *Trichoderma sp* dans les systèmes telluriques : systématique, biologie et écologie des organismes. Compte rendu des 4èmes rencontres en toxicologie. Paris.

Rosas-Garcia (2009). Biopesticide Production from *Bacillus thuringiensis*: An Environmentally Friendly Alternative. *BIOT* 3, 28–36.

Rovira AD (1969). Plant root exudate. *Botany Revue* 35, 35-57.

-S-

Saba H, Vibhash D, Manisha M, Prashant K.S, Farhan H et Tauseef A (2012). *Trichoderma* a promising plant growth stimulator and biocontrol agent. *Mycosphere* ; 3(4), 524–531.

Samuels G, Dodd S, Castlebury L et Petrini O (2002). *Trichoderma* Species Associated with the Green Mold Epidemic of Commercially Grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia*; 94: 146-170.

Schmutterer, H (1990). Properties and Potential of Natural Pesticides from the Neem Tree, *Azadirachta Indica*. *Annual Review of Entomology* 35, 271–297.

Schrank A, and Vainstein M.H (2010). *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon* 56 :1267-1274

Schroth MN, Hildenbrand DC (1964). Influence of plant exudates on root-infecting fungi. *Annu Rev Phytopathol* 2, 101-132

Seindé Touré (2018). *Interactions insectes – micro-organismes entomopathogènes comme source d’inspiration pour la découverte concomitante de bio-insecticides et d’antimicrobiens*. Thèse de doctorat : Institut de Chimie des Substances Naturelles / Métabolites de plantes et de micro-organismes associés : isolement, synthèse et bioactivité. Paris : Ecole Doctorale : Sciences de la Nature et de l’Homme – E, 23p.

Shah P.A et Pell J.K (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 61 :413-423.

Simon A., Sivasithamparam K (1989). Pathogen Suppression: A Case Study In Biological Suppression Of *Gaeumannomyces Graminis* Var. *Tritici* In Soil. *Soil Biol Biochem* 21: 331-337.

Références bibliographiques

Sivasithamparam K. and Ghisalberti E.L (1998). Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. Taylor and Francis. London. UK.

Soufiane, B (1989). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes [WWW Document].

Suty, L (2010). La lutte biologique: Vers de nouveaux équilibres écologiques. Editions Quae.

-T-

Tan Siew Hui (2013). *Morphological Characterization and Sequence Analysis Of 5.8s-Its Region of Trichoderma Species.* Thèse de doctorat: bachelor of science biotechnology . Malaysia: faculty of science universiti tunku abdul rahman (UTAR) ; 6-8p.

Thakore, Y (2006). The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology* 2, 194–208. <https://doi.org/10.1089/ind.2006.2.194>

-V-

van Lenteren, J.C., Bale, J.; Bigler, F.; Hokkanen, H.M.T. et Loomans, A.J.M (2006). Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. *Annual review of entomology*, vol. 51, p. 609-634.

Vega F.E, Goettel M.S, Blackwell M, Chandler D, Jackson M.A, Keller S, et al (2009). Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*; 2:149-159.

Vidhyasekaran, P (2004). Concise encyclopedia of plant pathology. Food Products Press and The Haworth Reference Press. 587p.

Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Marra R, Woo SL, Lorito M (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* ; 40(1):1-10

Vincent, C.,Panneton, B.and Fleurat- Lessard , F (2000). La lutte physique en phytoprotection. Institut National de la recherche Agronomique. 347 p.

Vzcaiini J.A., Sanz L., Basilio A., Vincent F, Gutierrez S., Hermosa M.R. et Monte E (2005). Screening of antimicrobial activities in *Trichoderma* isolate representing three *Trichoderma* sections. *Mycol. Res.* 109:1397-1406

-W-

Waage, J (2004). La lutte biologique – Réaliser la promesse. Dossiers Biocontrôle, décembre, p. 1.

Références bibliographiques

Wardle D.A., Parkinson D., Waller J.E (1993). Interspecific competitive interactions between pairs of fungal species in natural substrates. *Oecologia* **94**: 165-172.

Weindling R et Fawcett HS (1934). Experiments in biological control of Rhizoctonia damping off. *Phytopathology*; 24: 1142, 1934.

Widden P, Abitbol JJ (1980). Seasonality of Trichoderma species in a spruce forest soil. *Mycologia* ; 72 : 775-784.

-Y-

Yariv B, J Gupta Kapuganti1 et Ada Viterbo (2016). Quick guide Trichoderma. *Current Biology*; 20: 9-390.

-Z-

Zoe G. Cardon et Julie L. Whitbeck (2007). *The Rhizosphere: An Ecological Perspective*, London (UK) : British Library; p. 1-25.

Références bibliographiques

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par : MOKRANE Aimen kheirddine

KHALGUIA Nour El Houda

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie

Option : Biochimie Appliquée

Thème : Isolement et caractérisation macroscopique des champignons du genre *Trichoderma* présents dans différents sols rhizosphériques d'Algérie

Résumé

L'objectif visé dans cette étude est l'isolement et la caractérisation des souches de *Trichoderma* sp présentes dans les sols agricoles d'Algérie. Pour cela 85 échantillons de sols rhizosphériques ont été collectés à partir de plusieurs régions et différentes conditions environnementales et écogéographiques. L'isolement de *Trichoderma* sp a été effectué en utilisant la méthode de suspension-dilution et l'étalement en surface sur milieu PDA, tandis que l'identification a été basée sur l'aspect macroscopique des souches purifiées après plusieurs repiquages. Les résultats d'isolement ont permis d'obtenir 17 isolats de *Trichoderma* sp (T16, T17, T18, T19, T20, T21, T22, T23, T24, T25, T26, T27, T28, T29, T30, T31 et T32) dont une grande proportion se trouvent essentiellement dans la wilaya de Constantine. D'un autre côté, 41,18% ont été présents dans la rhizosphère du blé. Ces 17 isolats ont été divisés en 10 groupes selon leur ressemblance morphologique ce qui montre une biodiversité plus au moins importante du genre *Trichoderma* en Algérie. Les prochains défis pour chercheurs seront de sélectionner les souches antagonistes aux champignons phytopathogènes afin de réduire les problèmes des maladies dans le secteur agricole.

Laboratoire de Génétique Biochimie et Biotechnologies Végétales, Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie Université des frères Mentouri Constantine 1

Mots clés : Mots clés : *Trichoderma*, rhizosphère, antagonistes, phytopathogènes, agricole, biodiversité.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Prof. KHELIFI.Douadi (UFMC1)

Encadreur : Dr. BELIL.Ines (UFMC1)

Examineur : Dr. BECHKRI.Sakina (UFMC1)