



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

: المكر وبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : mycologie et Biotechnologie Fongique

INTITULE

**Contribution à l'étude des champignons telluriques
et recherche des genres d'intérêt**

Présenté par : DIR AMEL

DAIKH Nour El Houda

Soutenu le : 06/07/2021

Jury d'évaluation :

Président de jury : Dr. ABDELAZIZ Ouided (MCB UFM Constantine)

Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (MRB - INRAA Constantine)

Examineur : Dr. BAAZIZ Necira (MCB - UFM Constantine)

Co-rapporteur : Dr. Ouffroukh Ammar (MRB -Directeur - INRAA Constantine)

Année universitaire 2020-2021

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Allah tout puissant qui nous a bénis et nous a donné le courage et la patience d'accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier particulièrement Dr. ABDELAZIZ Ouided, URB à MCB UFM Constantine d'avoir acceptée la présidence du jury de ce travail.

Nos remerciements s'adressent aussi à Dr. BAAZIZ – BouchibiNecira, MCB - UFM Constantine d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos remerciements s'adressent à Dr. OUFFROUKH Ammar, Directeur de l'URC- INRAA Constantine d'avoir accepté de co-encadrer notre travail.

Nous remercions très sincèrement Dr. HARRAT Wahiba, chercheure à l'URC- INRAA Constantine notre promoteur pour ses orientations éclairées, sa gentillesse, son soutien et pour le partage de son expérience, elle nous a vraiment aidées à surmonter toutes les difficultés que nous avons rencontrées dans cette étude. Nous lui exprimons notre profond reconnaissance et sympathie.

Nous tenons aussi à faire part de nos remerciements aux deux ingénieurs de l'INRAA-URC, Mme Boussaha Saoussene et Mme Imami Salha pour leur aide et conseils.

Enfin nous adressons nos remerciements à tous ceux qui nous ont aidées de loin ou de près à concrétiser ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce travail :

À mes très chers parents

Ma mère Samra et mon père

Moustafa

Pour leur patience, leur amour leur soutien et leur encouragement

.Vous êtes la lumière qui a toujours éclaircie ma vie que Dieu vous

Protège et vous garde pour nous.

À mes chères sœurs

Hadjer, khitam, Darine, Nada.

*Sans oublier mon cher binôme Nour el houda, tous les membres de
ma*

Famille et toutes les personnes que j'aime.

DEDICACE

Je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

À mes très chers parents Leila et El Hani

Quoi que je fasse ou que je dis, je ne

Saurai point vous remercier comme il se doit .votre affection me couvre, votre bienveillance me guide et votre présence à mes cotées a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Vous êtes mon amour éternel, la source de mon bonheur et le secret de ma réussite. Que Dieu vous protège et vous accorde santé, bonheur et long vie.

À mes chers frères

Abd El Rahim, Seif el din

Pour leur appui leur encouragement et leurs conseils et qui ont été le meilleur soutien pour moi.

Et à mon cher binôme Amel au nom de l'amitié qui nous réunit, et au nom de nos souvenirs inoubliables.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION..... 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. LE SOL 4

1. Définition du sol..... 4

2. Les constituants du sol 4

3. Les phases du sol..... 5

3.1.1. La phase solide du sol..... 5

3.1.2. La phase liquide du sol..... 6

3.1.3. La phase gazeuse du sol 6

4. La microflore du sol 7

4.1. Les Bactéries 7

4.2. Les champignons 7

4.3. Les protozoaires..... 8

4.4. Les levures..... 8

4.5. Les virus 8

4.6. Les algues 9

5. L'importance du sol en agriculture 9

Chapitre 2. Les champignons du sol 10

1. Définition..... 10

2. Classification des champignons..... 10

3. Morphologie des champignons (moisissures)..... 11

4. Cycle de vie des champignons 12

5. Reproduction des champignons 13

6. Conditions de croissance des champignons..... 14

6.1. Éléments nutritifs 14

6.1.1. Source de carbone et d'énergie 15

6.1.2. Source d'azote..... 15

6.2. Éléments minéraux..... 15

6.3. Facteurs physicochimiques..... 16

6.4.	Température	16
6.5.	pH.....	16
6.6.	Activité en eau (Aw)	16
6.7.	Oxygène	17
6.8.	Lumière	17
6.9.	Humidité.....	17
7.	Mode de vie des champignons	17
7.1.	Les saprophytes	17
7.2.	Les parasites.....	18
7.3.	Les symbiotiques.....	18
8.	Métabolites secondaires des champignons	18
9.	Principaux genres des champignons telluriques.....	19
9.1.	Le genre <i>Aspergillus</i>	19
9.2.	Le genre <i>Penicillium</i>	19
9.3.	Le genre <i>Fusarium</i>	20
9.4.	Les Mucorales :.....	21
9.5.	Le genre <i>Trichoderma</i> :	21
10.	Effets des pesticides sur la biologie des sols	22
11.	Lutte biologique à l'aide de microorganismes antagonistes	23
11.1.	Définition de la lutte biologique	23
11.2.	Les microorganismes antagonistes.....	23
11.3.	Induction de la résistance systémique.....	25
PARTIE PRATIQUE		
MATERIEL ET METHODES.....		
28		
1.	Méthode d'échantillonnage	28
2.	Matériel utilisé pour l'analyse du sol.....	58
3.	Préparation de milieu de culture utilisé	58
4.	Technique d'isolement des champignons	29
4.1.	Préparation des solutions (solution mère et dilutions)	29
4.2.	Ensemencement sur milieu solide	30
4.3.	Dénombrement des colonies et Purification.....	30
5.	Identification des champignons.....	32
5.1.	Identification macroscopique	32
5.2.	Identification microscopique	32

6. Test d'antagonisme <i>in vitro</i>	33
6.1. Méthode de confrontation directe	33
6.2. Mesures de l'inhibition	33
RESULTATS ET DISCUSSION	36
1. Résultats	36
1.2. Nombre de colonies pour tous les échantillons	36
1.3. Nombre de colonies par échantillon	36
1.4. Nombre de colonies obtenues par échantillon en fonction des dilutions	37
1.5. Genre fongiques identifiés	38
1.6. Genre fongique identifiés par échantillon	39
1.7. Test de confrontation direct	44
2. Discussion	46
CONCLUSION	48
Références bibliographiques	50
Résumé	59

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Les constituants d'un sol	5
Figure 2. Exemple des moisissures (A) et levures (B)	10
Figure 3. Les grands groupes des eumycètes.	11
Figure 4. Les différentes structures des hyphes fongiques. (A) Hyphe septé ; (B) Hyphes cénocyttaire	12
Figure 5. Cycle de vie des moisissures	13
Figure 6. Modes de reproduction chez les champignons	14
Figure 7. Schéma d'une tête Aspergillaire	19
Figure 8. Schéma d'un pénicille.....	20
Figure 9. Schéma d'un Fusarium. (a) Microconidie; (b) Chlamidospores.....	20
Figure 10. Appareil reproducteur des mucorales	21
Figure 11. Caractéristiques microscopiques du genre <i>Trichoderma</i>	22
Figure 12. Mécanisme de mycoparasitisme exercé par les souches de <i>Trichoderma</i>	25
Figure 13. Les mécanismes d'induction de la résistance systémique par les souches de <i>Trichoderma</i>	26
Figure 14. Prélèvement de l'échantillon du sol.....	28
Figure 15. Zones d'échantillonnage. (A) O.E.B. ; (B) Mila	29
Figure 16. Préparation de dilution. (A) Pesée du sol pour la solution mère ; (B) Préparation des dilutions jusqu'à 10^{-4}	30
Figure 17. Tubes à essai contenant les dilutions (de 10^{-1} à 10^{-4}).	30
Figure 18. Méthode de suspension dilutions.....	31
Figure 19. Technique de purification. (A) Prélèvement des isolats ; (B) Ensemencement dans une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu PDA.	32
Figure 20. Préparation des lames pour l'observation microscopique	33
Figure 21. Technique de confrontation directe	34
Figure 22. Réalisation des confrontations directes au laboratoire. (A) Prélèvement de l'explant de <i>Trichoderma sp.</i> ; (B) Prélèvement de l'explant de <i>Fusarium sp.</i> ; (C) Mise en confrontation des deux champignons en boîte de Pétri sur milieux PDA.....	34
Figure 23. Exemple des colonies obtenues à partir des différentes dilutions (Solution mère, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}).	36
Figure 24. Nombre de colonies obtenues par échantillon	37
Figure 25. Nombre de colonies obtenues par échantillon en fonction des dilutions.....	37

Figure 26. Nombre de colonies identifiées par genre.....	38
Figure 27. Représentation en segments des pourcentages totaux des genres identifiés au niveau de tous les échantillons étudiés.....	38
Figure 28. Nombre de colonies identifiées par genre au niveau de chaque échantillon.	39
Figure 29. Caractérisation des isolats du genre <i>Pénicillium</i> (A) recto de la culture ; (B) verso de la culture ; (C) observation microscopique. (1, 2, 3 et 4 sont les différentes formes de <i>Pénicillium</i> obtenues).....	41
Figure 30. Caractérisation des isolats (A) recto de la culture ; (B) verso de la culture ; (C) observation microscopique. (1) <i>Aspergillus</i> ; (2) <i>Fusarium</i> ; (3) <i>Verticillium</i> ; (4) <i>Rhizopus</i>	42
Figure 31. Caractérisation des isolats (A) recto de la culture ; (B) verso de la culture ; (C) observation microscopique. (1) <i>Mucor</i> ; (2) <i>Trichoderma</i> ; (3) <i>Gliocladium</i>	43
Figure 32. Croissance mycélienne du <i>Fusarium sp.</i> : Différence entre le Témoin et la confrontation	44
Figure 33. Taux d'inhibition de l'antagoniste vis-à-vis du pathogène	44
Figure 34. Lutte biologique <i>in vitro</i> . (A) <i>Fusarium sp.</i> ; (B) <i>Trichoderma sp.</i> ; (C) Confrontation directe. (1) Recto de la boîte ; (2) Verso de la boîte.....	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Principaux constituants des phases du sol (Gobat, 2003).....	6
Tableau 2. Nombre de microorganismes par gramme de terre de sol, en fonction de la profondeur selon Alexander (1991).	8
Tableau 3. Les grands groupes des microorganismes du sol (Roger et Garcia, 2001).....	8
Tableau 4. Echantillons de sol.....	28
Tableau 5. Les caractéristiques morphologiques des genres étudiées.....	40

LISTE DES ABREVIATIONS

MOS : Matière Organique du Sol.

COV : Composés Organiques Volatils.

pH : Potentiel d'hydrogène.

AW : Activité en eau.

MPa : Méga pascal.

E : Echantillon.

D : Dilution.

PDA : Potato Déxtrose Agar.

INRAA : Institut National de Recherche Agronomique.

URC : Unité de Recherche Constantine. Algérie.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le sol est une composante importante de l'environnement ; c'est une zone critique en contact avec l'atmosphère au sein de laquelle se produisent des interactions complexes impliquant la roche, ses interactions sont avec l'eau, l'air et les organismes vivants (**Tessier *et al.*,2002**).

La population microbienne du sol constituée le maillon final de la chaîne trophique du sol, par laquelle transite le carbone et les éléments nutritifs des matières organiques avant de redevenir disponibles pour les plantes ; elle remplit donc une fonction essentielle et obligatoire dans le « recyclage » des matières organiques retrouvées au sol. Les microorganismes influent sur la qualité des sols (**Denis et Martin, 2005**).

Tous les types de micro-organismes existent dans les sols. Ce sont soit des eucaryotes (champignons, algues et protozoaires), soit des procaryotes (bactéries et cyanobactéries). Leur biodiversité est considérable, ainsi que leur distribution qui est fonction non seulement de la présence de substrats énergétiques (essentiellement des résidus végétaux) et d'éléments minéraux, mais aussi de nombreux facteurs physiques et chimiques caractérisant chaque sol, notamment la structure, l'aération, le pH, la température et la teneur en eau (**Dommergues, 2021**).

Ces dernières décennies, la protection de l'environnement s'impose de plus en plus comme une préoccupation mondiale majeure. Dans le domaine de l'agriculture, il est indéniable que l'expansion et la productivité agricole doivent dorénavant passer par une gestion optimale des insectes nuisibles et des mauvaises herbes en minimisant les effets sur l'environnement.

La méthode classique de lutte chimique contre les insectes ravageurs des récoltes, maladies fongiques et des mauvaises herbes, jadis considérée comme panacée, fait de plus en plus place à la lutte intégrée et à la lutte biologique par utilisation de micro-organismes. Il est admis maintenant par tous que la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement, entre autres, par la toxicité dans la chaîne trophique, la pollution des eaux de surface et souterraine (**Mathias, 2001**).

L'utilisation des produits chimiques peut créer un déséquilibre de la microflore tellurique qui pourrait conduire à la destruction du milieu écologique (**Ousalah, 2003**). En

raison de leurs effets cumulatifs et de résoudre ces différents problèmes que les recherches se poursuivent pour mettre au point de nouvelles méthodes telles que la lutte biologique.

L'objectif de ce travail est une approche pour réaliser un inventaire des principaux genres de champignons cultivables sur milieu solide au laboratoire présents dans 05 échantillons de sol agricole prélevés dans l'Est Algérien à savoir les wilayas de Mila et Oum El Bouaghi.

Aussi, de révéler la présence de champignons d'intérêt au niveau de la rhizosphère des cultures communes à la région.

Ce travail consiste à isoler, purifier et identifier les différents champignons présents dans les différents échantillons pour ressortir la biodiversité du sol agricole et faire ressortir et tester les champignons d'intérêt dans la lutte biologique.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1. LE SOL

1. Définition du sol

Depuis la naissance de la pédologie de nombreuses Définition du « sol » ont été proposées (**Girard, 2011**).

Le sol est un milieu vivant. Il figure parmi les habitats les plus diversifiés et renferme certains des assemblages les plus variés d'organismes vivants et constitue l'un des écosystèmes les plus complexes de la nature. Aucun autre habitat n'abrite une densité d'espèces aussi élevée que le sol. Par exemple, un gramme de sol peut contenir des millions d'individus et plusieurs milliers d'espèces de bactéries (**Kilbertus, 1980 ; FAO, 2001**).

Girard (2011) a défini le sol comme étant « un volume qui s'étend depuis la surface de la terre jusqu'à une profondeur marquée par l'apparition d'une roche dure ou meuble peu altérée ou peu marquée par la pédogenèse ».

Selon **Joffe (1949)**, le sol est un corps naturel de constitution minérale et organique, différencié en horizons d'épaisseur variable qui diffère des matériaux sous-jacents par sa morphologie, ses propriétés physico-chimiques, sa composition et ses caractéristiques biologiques ».

Le sol est un compartiment essentiel agissant comme contrôleur et révélateur de nombreux processus écologiques par ses caractères physiques, chimiques et biologiques à court et à long terme (**Davet, 1996**).

2. Les constituants du sol

Le sol est un mélange complexe de fragments de roches de granulométries variées, d'organismes vivants et d'humus (**Jérôme et al., 2004**).

Le sol est formé de trois compartiments physiques : un compartiment solide, un compartiment liquide et un compartiment gazeux (**Fig.1**).

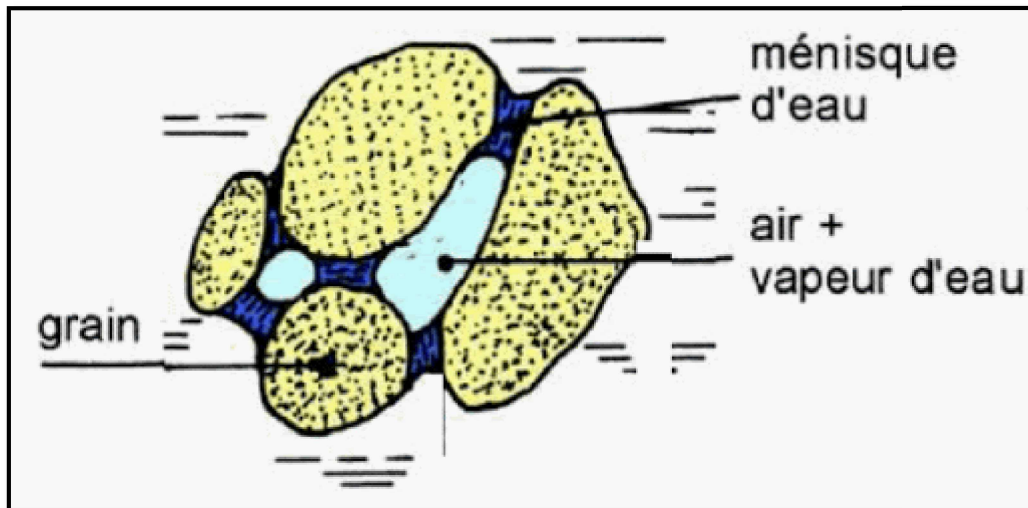


Figure 1. Les constituants d'un sol (Lumière *et al.*, 2000).

3. Les phases du sol

3.1.1. La phase solide du sol

Elle est constituée de deux types d'éléments distincts (**Tab.1**) :

a. Les éléments minéraux ou « constituants mécaniques » qui proviennent essentiellement de l'altération mécanique et chimique de la roche mère, ils se présentent sous la forme de pierres, de graviers, de sables grossiers ou fins, de limons, d'argiles, de calcaire ou encore d'oxyde de fer.

b. Les éléments organiques ou la matière organique du sol (MOS). Cette phase de composition très variable au cours du temps, peut-être plus ou moins abondante dans le sol, de 0% dans les déserts à sols minéraux à plus de 95% dans les tourbières (**Mustin, 1987**).

–Fraction minérale

La fraction minérale est principalement constituée de minéraux primaires et de minéraux secondaires, les oxydes métalliques ou les argiles (**Duchaufour, 1994**).

–Fraction organique

Fraction organique formée par des bactéries, des champignons et des actinomycètes mais aussi des racines ou encore de la faune (protozoaires, nématodes, certaines insectes), tous participent d'une manière ou d'une autre à la formation et à l'évolution du sol, en particulière de sa fraction organique (**Gobatet *al.* 2003**). Le sol est un assemblage

d'organisme extrêmement divers qui régule les processus de décomposition de la matière organique et du cycle des nutriments (Bardget et Girffiths, 1997).

3.1.2. La phase liquide du sol

Elle représente l'eau contenue dans le sol et dans laquelle sont dissout les substances solubles provenant à la fois de l'altération des roches, de la décomposition des MOS et des apports extérieurs tels que les fertilisants et pesticides, cette phase est le lieu des réactions chimiques permanentes indispensables à l'évolution de la matière organique et à la croissance des végétaux (Mustin, 1987). On peut cependant donner quelques indications générales en distinguant deux catégories de solutés (microéléments et macroéléments), elle contient également des ions H^+ et OH^- dont les concentrations déterminent la réaction du sol caractérisée par le pH (Calvet, 2000).

3.1.3. La phase gazeuse du sol

La phase gazeuse du sol est encore appelée atmosphère du sol, elle est composée des mêmes gaz que l'air auxquels s'ajoutent certains gaz provenant de la décomposition des MOS comme le méthane et l'ammoniac (Mustin, 1987). Mais elle peut être très variable dans l'espace et dans le temps, elle dépend principalement de deux facteurs qui sont la proximité de l'atmosphère c'est-à-dire la profondeur dans le sol et l'activité biologique (Calvet, 2003).

Tableau 1: Principaux constituants des phases du sol (Gobat, 2003).

	Constituants solides		Constituants liquides	Constituants gazeux
	Minéraux	Organiques	(Solution du sol)	Atmosphère du sol
Origine	Désagrégation Physique et altération Biochimique des roches	Décomposition des êtres vivants.	Précipitations, nappes ruissellement.	Air hors sol, matière en décomposition respiration.
Critères de Classement	Taille (granulométrie) Qualité (minéralogie)	Etats (vivants, morts) Qualité chimique (originelle, transformée)	Origine (météorique Phréatique) Etat physique (potentiel hydrique) Qualité chimique	Origine (air, organismes) qualité Chimique

Catégorie	Selon granulométrie Squelette (>2mm) Terre fine (<2mm) Selon minéralogie : Quartz Minéraux silicatés Minéraux carbonatés	Organismes vivants Organismes morts Matière organique Héritées : cellulose Matières organiques Humifiées : acides	Eau, substances, cation et anion Dissoutes : alcools, acides organique	Gaz d'air : N ₂ , O ₂ Gaz issus de la respiration et de la décomposition des organismes
------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

4. La microflore du sol

Le sol est un réservoir important de microorganismes, il renferme une microflore complexe et variée qui joue des rôles essentiels dans l'écosystème tellurique et les organismes pluricellulaires qui y vivent (**Munees et Mulugeta, 2013**). La microflore du sol est formée de bactéries (archaebactéries et eubactéries) champignons (levures et moisissure), d'algues et de protozoaires (**Tab.1 ; 2**).

4.1. Les Bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol. On estime d'ailleurs que tous les groupes de bactéries connues pourraient être isolés du sol si les techniques et les milieux adéquats sont utilisés (**Dommergues et Mangenot, 1970**). De ce fait, accéder à la diversité bactérienne de manière exhaustive constitue un des défis majeurs de ces dernières décennies en écologie microbienne et les techniques qui y sont dédiées n'ont cessé d'évoluer. Il existe plusieurs groupes de la bactérie telle qu'ammonifiantes, pectinolytiques, de genre arthrobacter. (**Theodorakopoulos, 2013**).

4.2. Les champignons

La biomasse fongique est sans doute très variable suivant les cas, mais on peut l'évaluer entre 120 kg/ha et plus d'une tonne dans les sols normaux (**Dommergues et Mangenot, 1970**). Leurs activités métaboliques sont multiples et fondamentales à l'équilibre écologique des sols. De nombreux travaux indiquent la prédominance des genres : *Mucor*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Zygorhynchus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Verticillium* (**Noumeur, 2008**).

4.3. Les protozoaires

Plusieurs espèces de protozoaires du sol se montrent très ubiquistes et se retrouvent dans des conditions climatiques très différentes. On attribue parfois aux amibes à thèques une préférence pour les sols acides, il en existe cependant des espèces exclusivement calcicoles (Davet, 2003).

4.4. Les levures

Les levures sont peu nombreuses dans le sol. Il faut donc admettre que le sol renferme une population propre composée de levures variables suivant son type et ses caractéristiques variable aussi suivant la végétation qu'il porte. Cependant les lois de leur répartition ou de leurs éventuelles fluctuations saisonnières sont encore imparfaitement connues (Dommergues et Mangenot, 1970).

4.5. Les virus

A côté des bactéries, actinomycètes, champignon, et algues, qui sont visible au microscope optique, le sol renferme aussi des microorganismes dont l'existence ne peut être démontrée que par la microscopie électronique, il s'agit essentiellement de virus (Dommergues et Mangenot, 1970). Les virus libres, placés hors d'une cellule vivante et à la lumière sont rapidement inactive. Mais, dans le sol, ils peuvent, une fois adsorbés conserver longtemps leur pouvoir infectieux (Davet, 2003).

Tableau 2. Nombre de microorganismes par gramme de terre de sol, en fonction de la profondeur selon Alexander (1991).

Profondeur (cm)	Bactéries	Actinomycètes	Mycètes	Algues
3 à 8	2750000	2080000	119000	25000
20 à 25	2179000	545000	50000	5000
35 à 40	570000	49000	400000	500
65 à 75	11000	5000	6000	100
135 à 145	1400	-	3000	-

Tableau 3. Les grands groupes des microorganismes du sol (Roger et Garcia, 2001).

Grands groupes	Taxons considérés comme importants dans le sol
----------------	------------------------------------------------

Bactéries	Pseudomonas
	Bacillus
	Protistes inférieures
Champignons	Moisissures à plasmodium
	Champignons à flagelle
	Zygomycètes
	Champignons supérieur
	Champignons imparfaits

4.6. Les algues

Du fait de leur caractère phototrophe, les algues possèdent une signification microbiologique très différente de celle des bactéries ou des champignons dans le sol. Les algues peuvent se contenter de faibles intensités lumineuses, ce qui leur permet d'avoir un comportement autotrophe actif à plusieurs millimètres au-dessous de la surface, particulièrement dans les sols riches en particules de quartz translucides où la lumière peut diffuser jusqu'à plus de 2 cm dans certains sols (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

5. L'importance du sol en agriculture

En agriculture, le sol est un facteur déterminant majeur pour la production végétale. Un sol en bon état structurel détermine pour une grande part le peuplement à la levée. Le développement du peuplement dépend du développement du système racinaire dans le sol. C'est également un réservoir important d'eau et d'éléments nutritifs pour les plantes.

Ses caractéristiques hydriques et mécaniques ont une incidence considérable sur le nombre de jours disponibles pour réaliser les travaux en bonnes conditions, notamment en automne, en hiver et au printemps. L'état du sol a enfin une influence notable sur le parasitisme tellurique : ravageurs, champignons parasites, la plupart de ces fonctionnalités des sols agricoles sont en relation avec leur statut organique. Il est donc nécessaire de surveiller l'évaluation de ce statut afin de le préserver, voire de l'améliorer (**Bodet, 2006**).

Chapitre 2. Les champignons du sol

1. Définition

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes vivants sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystème (Mueller et Schrit, 2007). Les champignons sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire pourvus de véritable noyau avec membrane nucléaire, chromosomes et nucléole (Guinberteamet *al.*, 2021). Pouvant être unicellulaire ou pluricellulaire (Fig. 2).

Les champignons sont hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils se nourrissent de matière organique préexistante par opposition aux végétaux qui utilisent la photosynthèse pour produire leur propre matière et sont qualifiées d'autotrophe. Ils sont majoritairement aérobies et se multiplient grâce à des spores (Pruvost, 2018).

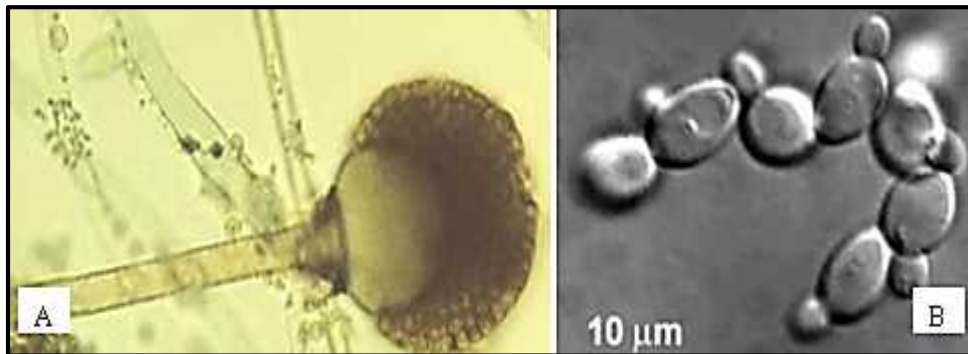


Figure 2. Exemple des moisissures (A) et levures (B) (Source : Site 1)

2. Classification des champignons

Les champignons sont des organismes vivants constitués en grande partie de filaments de cellules de structure simple et de quelques cellules plus spécialisées qui donneront naissance à des spores. Les champignons ont un matériel génétique confiné dans un noyau au même titre que les plantes et les animaux. Ils possèdent toutefois un certain nombre de caractéristique qui en font un groupe à part : parois contenant de la cellulose et de la chitine, absence de chlorophylle et de mobilité. L'ensemble de ces caractéristiques fait en sorte que les taxonomistes classent les champignons dans un règne distinct (Kendrick, 1999).

Les champignons sont subdivisés en classes, en ordres, en familles, puis en genre et en espèces, ces deux derniers termes étant utilisés pour les désigner.

La mention « *sp.* » placée après le genre signifie que la souche n'a pas été identifiée au-delà du genre, tandis que « *spp.* » est utilisé pour désigner un ensemble d'espèces du même genre. La classification des moisissures, tout comme celle des autres champignons est d'abord basée sur le mode de reproduction sexuée ce critère définit quatre des ordres des mycètes soit des Chytridiomycètes, les zygomycètes, les basidiomycètes (**Fig.3**). En outre, lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue la division est appelée Deutéromycotina ou champignons imparfaits (**Blackweller *al.*, 1998**).

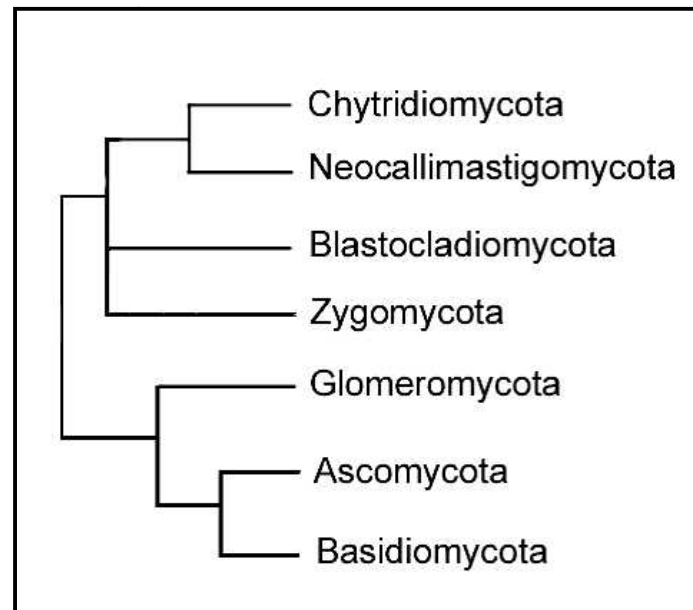


Figure 3. Les grands groupes des eumycètes (Durieux, 2008).

3. Morphologie des champignons (moisissures)

La structure des champignons repose sur leur appareil végétatif appelé thalle, constitué des hyphes ou cellules allongées en forme de filaments tubulaires de 2 à 10 μm de diamètre. Ces hyphes comprennent les organites classiques d'une cellule : noyau, mitochondrie, cytoplasme, vésicules. Ils peuvent être cloisonnés ou non et leur association forme le mycélium (**Fig.4**). Comme pour tout substrat, la colonisation des supports papiers est réalisée par extension et ramification des hyphes parfois visibles sous forme de petites tâches colorées à leur surface. Les hyphes puisent l'eau et les substances organiques dans les différents substrats qu'ils colonisent nécessaire à leur développement (**Boudih, 2011**).

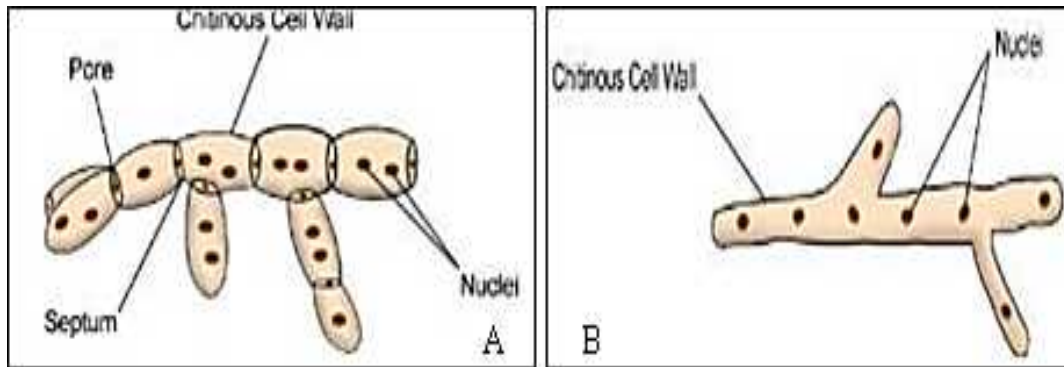


Figure 4. Les différentes structures des hyphes fongiques. (A) Hyphes septé ; (B) Hyphes cénocytaires (Source : Site 2)

4. Cycle de vie des champignons

Le cycle de vie des champignons débute lorsqu'une spore se dépose sur une surface lui offrant les conditions nécessaires à sa croissance. En fait, la germination se déclenche par la présence d'eau combinée ou non à certains facteurs très spécifiques comme l'intensité lumineuse, certaines températures ou types d'éléments nutritifs (Acgih, 1999).

La spore germera alors et donnera naissance à un premier filament non différencié, appelé hyphe, qui s'allongera pour former un ensemble appelé mycélium. Cet ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, constitue le thalle des champignons. En présence de conditions favorables à la sporulation, le mycélium donnera naissance à des structures plus spécialisées, qui produiront des spores asexuées (conidies) ou plus rarement des spores sexuées (Fig.5). Chaque champignon produit un très grand nombre de spores se présente très souvent sous un aspect poudreux et coloré à la surface de la moisissure (Acgih, 1999).

La taille, la forme et la couleur des spores de moisissures varient grandement d'une espèce à l'autre. Par contre, en microscopie, toutes les spores d'une même espèce sont de couleur, de dimension et de forme relativement constante ce qui, dans bien des cas, constitue un élément d'identification taxonomique (Acgih, 1999).

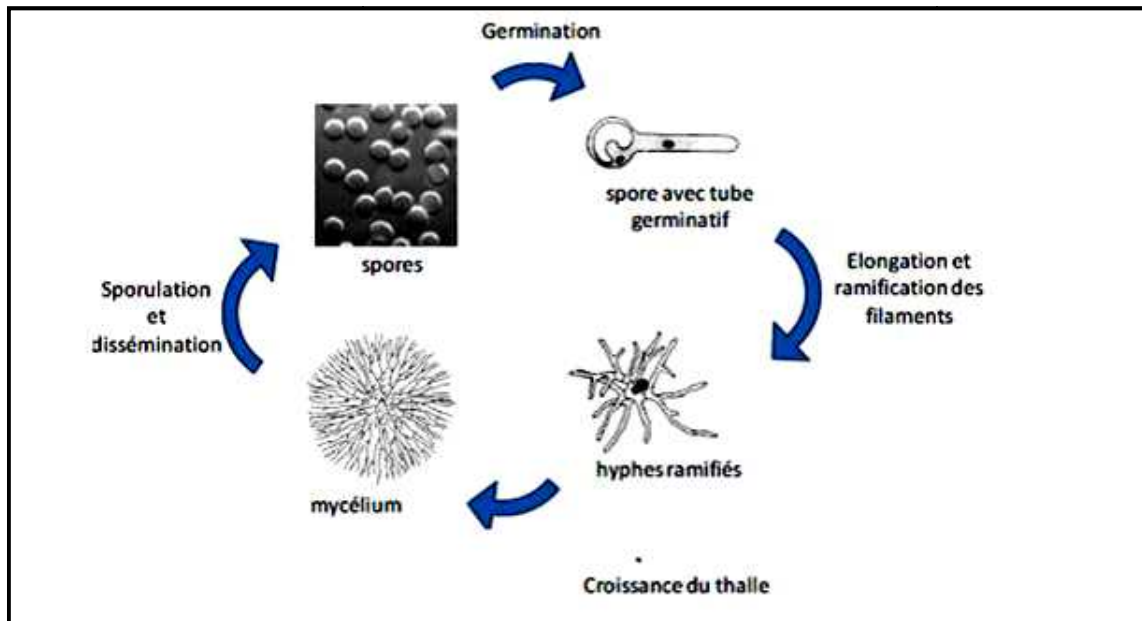


Figure 5. Cycle de vie des moisissures (Source : Site 3)

5. Reproduction des champignons

Le cycle sexué des champignons se déroule en trois étapes : plasmogamie, caryogamie et méiose (**Jennings et Lysek, 1996**). La plasmogamie correspond à la fusion cellulaire entre deux cellules haploïdes. La cellule résultante est appelée dicaryon car elle possède deux types de noyaux haploïdes (**Fig.6**). Les deux noyaux vont fusionner lors de la caryogamie puis la méiose va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes (**Carlile et Watkinson, 1994**).

On recense également des modes de reproduction différents de celui qui précède : certains organismes garderont un mode de vie haploïde, d'autres un mode de vie uniquement diploïde, tandis que certains organismes (Deutéromycètes) n'ont pas de capacité de reproduction sexuée (**Carlile et Watkinson, 1994**).

Les gloméromycètes ont quant à eux un mode de reproduction très mal compris même si le mode de reproduction asexuée soit généralement accepté chez les organismes de ce phylum (**Schüberet al.,2001 ; Redekker, 2002**). En effet, la diversité intraspécifique élevée pour ce phylum peut être expliquée par des phénomènes de recombinaison dans les hyphes et spores coenocytiques ou par réassortiment de noyaux différents (**Vandenkoornhuysset al.,2001 ; Sanders, 2004**).

Les spores peuvent être répandues dans le milieu de façon passive ou active par le champignon mais leur dispersion se fera toujours passivement, selon différents modes : une dispersion par le vent, par les animaux (notamment les insectes), mais également par la graine des plantes colonisées (Carlile et Watkinson, 1994). L'eau est aussi un vecteur important de dissémination des spores ; il est à noter que les zoospores (chez les organismes du phylum *Chytridiomycota*) ont la faculté de nager grâce à leur flagelle (Carlile et Watkinson, 1994).

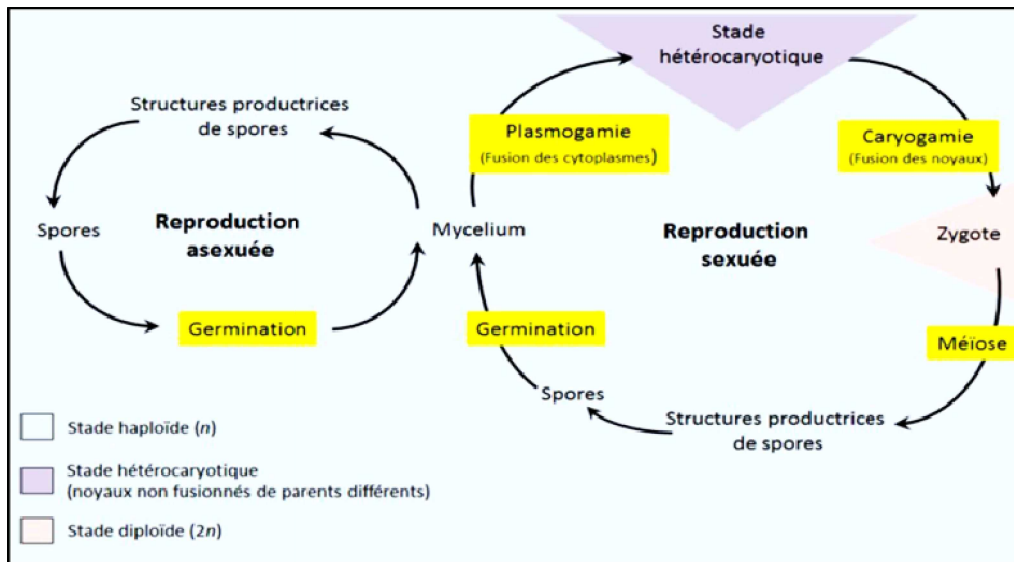


Figure 6. Modes de reproduction chez les champignons (Source : Site 4)

6. Conditions de croissance des champignons

6.1. Éléments nutritifs

Les nutriments requis pour la prolifération des moisissures sont des plus élémentaires et proviennent des matières organiques. Les enzymes décomposent le substrat pour former ces nutriments, qui sont alors absorbés à travers les parois des hyphes. Les nutriments dérivent de sucres simples, d'amidons, de petits peptides et de substances complexes à base de carbone, comme les acides aminés (Guild, 2004).

La digestion des grosses molécules doit commencer dans le milieu extérieur car seules les molécules de taille relativement petite peuvent franchir les parois et gagner le cytoplasme (Davet, 1997). Le carbone constitue l'élément le plus abondant dans la cellule fongique. Il représente environ 50% de la cellule (Riviere, 1975 ; Scriban, 1993). L'azote représente, quant à lui, le second élément chimique le plus important du matériel cellulaire (Scriban, 1993).

6.1.1. Source de carbone et d'énergie

Pratiquement tous les composés organiques peuvent être utilisés comme source de carbone et d'énergie par les moisissures. La plupart d'entre elles peuvent métaboliser le glucose et le saccharose avec quelques polysaccharides comme l'amidon et la cellulose (Boiron, 1996 ; Nicklin *et al.* 2000).

Le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le maltose, le saccharose, l'amidon et la cellulose représentent les sucres les plus utilisés par les moisissures comme source de carbone et d'énergie. Ces hydrates de carbone sont dégradés grâce à la glycolyse et le métabolisme aérobie (Boiron, 1996 ; Nicklin *et al.*,2000). Grâce à la glycolyse et au métabolisme aérobie, les moisissures assimilent les sucres facilement tel que le glucose le maltose, le saccharose et polymères tel que l'amidon (Nicklin *et al.*,1999).

6.1.2. Source d'azote

Des sources naturelles complexes sont souvent utilisées comme source azotée telle que : la caséine, les farines de poissons et de soja (Joyeau, 1982). La plupart des moisissures assimilent l'ammoniaque sous forme de sels (NH_4^+) dont la présence réprime l'utilisation d'autres sources azotées (nitrate, acides aminés, protéines). L'ammoniaque est transformée en acide glutamique, en glutamine ou en d'autres acides 6-aminés par transamination(Boiron, 1996). Alors que seules certaines espèces utilisent le nitrate, d'autres ne peuvent croître qu'en présence d'azote organique et aucune moisissure ne peut fixer l'azote atmosphérique (Devet, 1997).

6.2. Éléments minéraux

La présence des ions minéraux et métaux dans le milieu de culture est nécessaire pour la croissance et la reproduction de plusieurs espèces fongiques, il s'agit essentiellement de sulfate, de magnésium, de potassium, de sodium et de phosphore avec des concentrations plus au moins différentes selon l'espèce (Uchicobaet *al.*, 2001). Des traces d'éléments tels que le fer, le cuivre, le manganèse, le zinc et le molybdène, sont nécessaires à la plupart des moisissures pour la production des cytochromes, des pigments, des acides organiques, etc. (Boiron, 1996).

6.3. Facteurs physicochimiques

Les facteurs physicochimiques ont une influence importante sur le développement des moisissures ainsi que sur la germination, nous examinerons successivement quelques paramètres importants :

6.4. Température

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne, elle intervient également dans la sporulation et la germination des spores (**Bourgeois, 1989**). La plupart des moisissures sont mésophiles avec des optima de croissance de 25 à 35°C (**Botton et al., 1999 ; Julien, 2002**). Certaines espèces sont capables de se développer à des températures extrêmes, Les espèces thermotolérantes ou thermophiles peuvent croître à haute température jusqu'à 60°C tels que *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* et *Chaetomium*. D'autres sont des psychrophiles ou psychrotolérantes se développant à basses températures entre -5 et 10°C tels que *Helicostylum pulchrum*, *Chrysosporium pannorum* et *Cladosporium herbarum*, ces espèces peuvent survivre même à -60°C, on les rencontre dans des entrepôts frigorifiques (**Davet, 1996 ; Botton et al., 1999**).

6.5. pH

Le pH influe sur la croissance de moisissures soit indirectement en agissant sur la disponibilité des éléments nutritifs, soit directement par action sur la membrane cellulaire (**Boiron, 1996**).

La grande majorité des champignons filamenteux se développent avec un pH compris entre 4.5 et 8, bien que le pH optimum soit compris entre 5,5 et 7,5 (**Lecellier, 2013**). Certains champignons tels que *Fusarium culmorum*, *Trichoderma harzianum* et *Aspergillus oryzae* sont capables de croître dans une large gamme de pH avec une tendance à croître dans des milieux légèrement acide (**Urbanek et al. 1984 ; Delgado-Jarana et al., 2002**).

6.6. Activité en eau (Aw)

La plupart des moisissures ont un bon développement pour une activité d'eau comprise entre 0,85 et 0,99 (**Lecellier, 2013**). Les moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont généralement capables se développer à des Aw voisines de 0,7 ; elles peuvent donc se développer dans les aliments pauvres en eau comme les céréales au cours de stockage, les fruits secs et les produits dont l'activité hydrique a été réduite (**Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002**). Par comparaison, les *Fusarium* ne peuvent se développer qu'à des

Aw supérieures à 0,9. Il s'agit donc d'espèces se développant au champ, sur les plantes vivantes (Castegnaro, Pfohl-Leszkowicz, 2002).

6.7. Oxygène

L'oxygène est un facteur important pour le développement des moisissures. La plupart sont aérobies, les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats. D'autres espèces moins exigeantes sont micro-aérophiles peuvent se développer en profondeur comme *Fusariumoxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. D'autres champignons peuvent même supporter une anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (Bourgeois, 1989 ; Botton *et al.*, 1999).

6.8. Lumière

Les radiations du spectre visible (380 – 720) généralement a aucun effet sur la croissance végétative des champignons mais peuvent agir sur la sporulation. La plupart des moisissures ne nécessitent pas de lumière pour leur croissance, ni pour la germination de leurs spores (Botton *et al.*, 1999).

6.9. Humidité

La seule autre condition qui favorisant la croissance des moisissures est l'humidité, c'est le facteur qui détermine la prolifération des moisissures ou leur absence (Palaty et Shum, 2011). L'humidité a une grande influence sur le développement des moisissures non seulement sur la croissance mycélienne et la sporulation mais plus particulièrement sur la germination des spores (Bourgeois, 1989). Les moisissures à mycélium non cloisonné sont les plus sensibles à la dessiccation ; leur développement cesse lorsque le potentiel hydrique descend au-dessous de 4 MPa (Méga Pascal). Les moisissures à mycélium cloisonné supportent en moyenne jusqu'à 10 MPa. Cependant, les *Aspergillus* et les *Penicillium* peuvent en général se développer à des potentiels hydriques de l'ordre de -20 MPa (Davet, 1996).

7. Mode de vie des champignons

Les champignons sont des organismes hétérotrophes, ils sont répartis en trois catégories selon leur mode de vie ; les saprophytes, les parasites, et les symbiotiques.

7.1. Les saprophytes :

Les champignons saprophytes se nourrissent en dégradant les matières organiques mortes d'origine végétale ou animale, ils représentent la majorité des macromycètes (Senn-

Irletet al., 2012). Selon le substrat qu'ils décomposent, il existe plusieurs types de champignons saprophytes par exemple : humicoles (décomposant la matière organique du sol), fongicoles vivant sur d'autres champignons (**Moreau et al., 2002**).

7.2. Les parasites

Les champignons parasites se nourrissent à partir de la matière vivante animale ou végétale, environ de 20% des espèces des champignons connus sont capable de parasitisme. Selon le substrat parasité, on distingue les parasites bio-trophées survivant sur des organismes vivants et les parasites nécrotrophes survivant en saprophytes sur l'hôte parasité après sa mort (**Sicard et Lamoureux, 2006**).

7.3. Les symbiotiques

Les champignons symbiotiques établissent des associations à bénéfice réciproque avec d'autres organismes qui peuvent être soit des végétaux supérieurs (mycorhizes), des insectes, des algues ou des cyanobactéries appelées lichens (**Smith et Read, 1997**).

8. Métabolites secondaires des champignons

Des études se sont intéressées aux Composés Organiques Volatils (COV) produits sur des matériaux de construction ou sur des milieux de culture artificiellement contaminés par des espèces fongiques. Les COV détectés lors de ces études, appartiennent à différentes familles chimiques : alcools, cétones, éthers, esters, terpènes, acides etc. Pour de ces auteurs, la production des COV est dépendante du substrat et serait spécifique aux champignons (**Wilkins et al. 1999 ; Moularat et al., 2008**). Cependant, cette étude n'a été réalisée que sur trois espèces fongiques : *A. niger*, *A. versicolor* et *P. brevicompactum* et demande à être développée davantage afin de confirmer ou d'infirmer le fait que les COV peuvent être utilisés en tant que biomarqueurs des champignons.

Les mycotoxines quant à elles, sont des molécules spécifiques des champignons, parfois produites par une ou plusieurs espèces fongiques. (**Moularat et Robine 2006 ; Nielsen et al., 1998**).

9. Principaux genres des champignons telluriques

9.1. Le genre *Aspergillus*

Ce genre est souvent associé aux *Penicillium* et se distingue de ces derniers par l'aspect des conidiophores qui sont terminés par une tête renflée (**Champion, 1997**). *Aspergillus* signifie « aspersoir » à cause de la forme de ses têtes aspergillaires (**Galinas, 1995**) (**Fig.7**). Ce sont des moisissures à filaments cloisonnés hyalins, appartenant à la famille des *Aspergillaceae*, et à la classe des *Ascomycètes* (**Anonyme, 2011**). Les *Aspergillus* sont des contaminants très communs, ce genre comprend de 180 à 250 espèces selon les auteurs dont seules *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. terreus*, et *A. niger* sont considérées comme thermotolérantes (**Rebouxet al. 2010**). Quand les grains sont récoltés humides, insuffisamment séchés ou lorsqu'elles prennent de l'humidité pendant le stockage, les *Aspergillus* peuvent évoluer rapidement et se transforment de saprophytes en parasites et entraînent une baisse importante de la faculté germinative sur les semences (**Champion, 1997**).

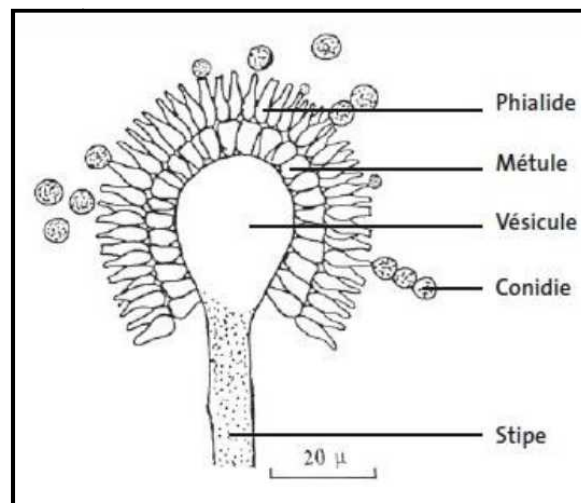


Figure 7. Schéma d'une tête Aspergillaire (Anonyme, 2012)

9.2. Le genre *Penicillium*

De tous les champignons, c'est probablement le genre *Penicillium* qui est le plus ubiquitaire. Il comporte plus de 200 espèces qui se rencontrent partout de l'équateur aux pôles (**Rebouxet al., 2010**). Ce genre se caractérise par l'aspect du conidiophore qui est divisé en articles (**Fig.8**) rappelant ainsi la forme d'un pinceau (**Champion, 1997**). A la récolte, les graines peuvent ne présenter aucun symptôme et se dégrader pendant la conservation

(Champion, 1997). Les spores asexuées ou bien les conidies ou conidiospores sont produites par bourgeonnement (LarpenetLaprent-Gouraud, 1990).

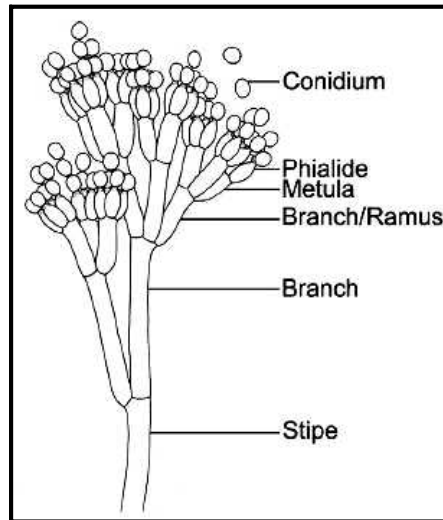


Figure 8. Schéma d'un pénicille (Visagieet al., 2014)

9.3. Le genre *Fusarium*

Selon Galinas (1995), le nom *Fusarium* vient de «*fusus*» qui signifie fuseau d'après la forme de ces macroconidies fusiforme et cloisonnées (Fig.9). Ce sont des champignons cosmopolites, on distingue près de 40 espèces largement répandues dans la nature et vivants en saprophytes.

Certains sont des phytopathogènes et beaucoup produisent des mycotoxines contaminants les denrées alimentaires et provoquant alors des maladies graves chez les herbivores (mycotoxicoses) (Chabasseet al., 2005). Ils réduisent le rendement et la qualité des céréales et compromettent la valeur boulangère du blé, elles ont besoin d'une humidité élevée pour croître (Abramsonet al., 2001).

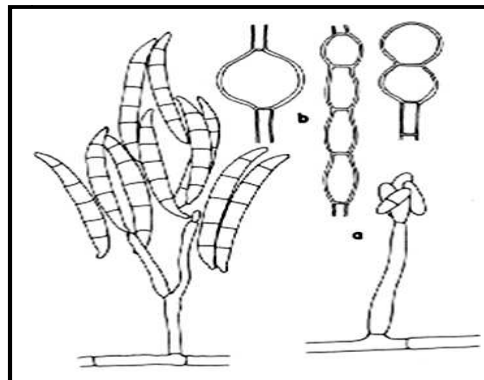


Figure 9. Schéma d'un *Fusarium*. (a) Microconidie; (b) Chlamidospores (Source : Site 2)

9.4. Les Mucorales

Cette sous famille regroupant les genres *Absidia*, *Mucor*, *Rhizomucor* et *Rhizopus* (Rebouxet *al.*, 2010). Les mucorales sont des champignons cosmopolites très réponsus, saprophytes du sol où ils se nourrissent à partir de végétaux, ils contaminent fréquemment les denrées alimentaires comme les céréales, les fruits et légumes, certaines espèces sont pathogènes de plantes (Fig.10), montre que le champignon émet généralement des stolons qui courent à la surface du support gélosé et adhèrent au substrat par de sorte de racines appelées rhizoïdes, le thalle est constitué de filaments siphonnés non cloisonné, à partir des stolons, se forment des filaments dressés appelés sporangiophores porteurs de sporanges où sont produites les spores (Chabasseet *al.*, 2002).

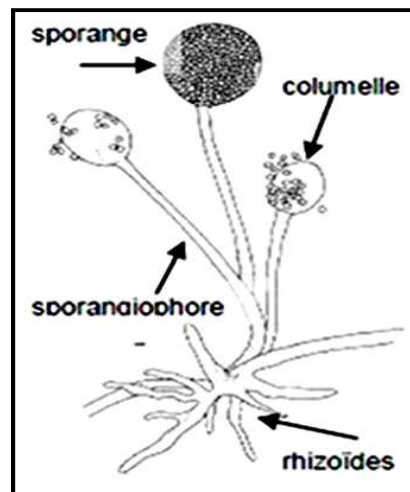


Figure 10. Appareil reproducteur des mucorales (Dufresne et St-Germain, 2013)

9.5. Le genre *Trichoderma* :

Le genre *Trichoderma* est caractérisé par une vitesse de croissance rapide et une sporulation abondante sur milieu de culture (Gams et Bisset, 1998). Il est facilement reconnaissable en culture grâce à la couleur généralement verte de ses spores (Dubos, 1986). Ce genre est caractérisé par des conidiophores fortement ramifiés selon une structure pyramidale et se terminant par une ou plusieurs phialides (Fig.11). Ces phialides peuvent être cylindriques ou subglobuleuses, regroupés en masse ou solitaires. Les conidies sont hyalines, ellipsoïdes et lisses chez la plupart des espèces, les conidies globuleuses sont rares. Certaines espèces peuvent produire des chlamydospores globuleuses, qui sont intercalaires ou terminales (Samuelset *al.*, 2006).

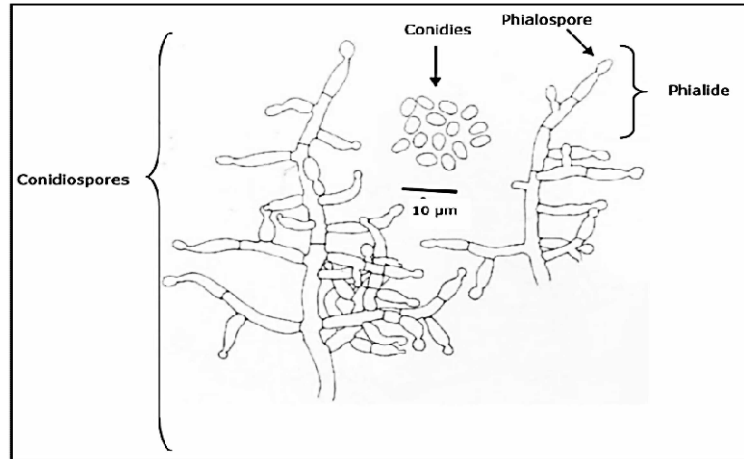


Figure 11. Caractéristiques microscopiques du genre *Trichoderma* (Kubicek *et al.*, 2003).

10. Effets des pesticides sur la biologie des sols

Les pesticides sont prioritairement utilisés pour détruire ou repousser les agents biotiques des cultures et récoltes et/ou pour détruire les adventices. Leur emploi superficiel sur les mauvaises herbes ou sur les cultures n'épargne pas le sol qui en reçoit une bonne part. Les organismes vivants des sols sont donc inévitablement en contact avec les pesticides. Ainsi, ces pesticides ou leurs produits de dégradation peuvent avoir une action directe ou indirecte sur les organismes vivants du sol (Columa, 1977 ; Calvet *et al.*, 2005).

Les pesticides peuvent être toxiques pour les microorganismes des sols. Dans ce cas, l'activité microbienne est ralentie et on assiste à une sélection des microorganismes résistants aux pesticides ou pouvant l'utiliser comme source de carbone. Cela se traduit par des réajustements microbiens pouvant être associés à des modifications de caractéristiques physiologiques de la microflore des sols et peut être aussi une diminution de la diversité des microorganismes (Columa, 1977 ; Barriuso *et al.*, 1996 ; Savadogo *et al.*, 2007).

Une étude d'impact de l'utilisation prolongée de pesticides dans un agrosystème cotonnier, menée par Hussain *et al.* (2001), a révélé que l'endosulfan, le profénofos + alphametrine et le méthamidophos diminuait la population bactérienne. La même observation a été faite par Maderet *et al.* (2002) sur un sol cultivé en pomme de terre traitée par du dinosèbe et du glufosinate concernant la population totale de champignons, le diméthoate entraînait une diminution de la population de champignons alors que l'endosulfan, le monocrotophos, le profénofos et le méthamidophos la stimulaient.

11. Lutte biologique à l'aide de microorganismes antagonistes

11.1. Définition de la lutte biologique

La lutte biologique est utilisation d'un organisme vivant en vue de limiter, arrêter ou bien inhiber le développement d'un autre organisme vivant sans avoir recourt aux pesticides, plusieurs être vivant, bactéries et champignons, ont fait l'objet d'étude ou ont été utilisées dans des applications de lutte biologique (**Emmert et Handelsman, 2003**). La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme (**Cook, 2014 ; Benbrouket al., 2008**).

11.2. Les microorganismes antagonistes

L'utilisation de microorganismes antagonistes en lutte biologique peut avoir des effets directs ou indirects sur les agents biotiques (**Nasraoui, 2006**).

Les agents de lutte biologique peuvent êtres de plusieurs types : des virus (*Cydia pomonella*, *Pandemisheparana*...), des bactéries (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*...) et des Champignons (*Metarhiziumanisopliae*, *Coniothyriumminitans*...). Les espèces du genre *Trichoderma* forment un important groupe d'antagonistes.

Les mécanismes employés par les *Trichoderma* pour contrôler les phytopathogènes des plantes sont : l'antibiose, le mycoparasitisme, la compétition et l'induction de la résistance systémique (**Chet, 1987 ; Schirmbacket al., 1994**).

a) Antibiose

Plus de 100 métabolites secondaires avec des activités antibiotiques, sont produits par les différentes souches du genre *Trichoderma* (**Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998**). La production des antibiotiques dépend des paramètres environnementaux tel le substrat colonisé, le pH et la température (**Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998 ; Vizcainoetal.,2005**). Ces antibiotiques, peuvent être classés en trois groupes : des composés volatiles, des composés solubles dans l'eau et les peptaiboles qui agissent avec la membrane plasmique (**Ghisalberti et Sivasithamparam, 1991**).

b) Mycoparasitisme

Les souches de *Trichoderma* reconnaissent le champignon pathogène par l'intermédiaire de molécules libérés par ce de dernier, certaines d'entre elles sont des

fragments peptidiques qui sont libérés par l'action des protéases sécrétées par *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004). Ces molécules peuvent se lier à un récepteur G couplés à une protéine ou à des récepteurs Gpr1 qui se trouvent sur la surface des hyphes de *Trichoderma*. En effet, cet attachement provoque une cascade de signalisation comprenant les protéines G et les protéines kinases activées par les mitogènes (MAPK), qui peut moduler les activités des facteurs de transcriptions (TFs) qui ne sont pas encore connues (Kubicek *et al.*, 2003).

Les facteurs TFs ainsi activés, augmentent l'expression constitutive de gènes de régulation qui codent pour la biosynthèse des métabolites secondaires et des enzymes de dégradation appelée CWDEs (1,6, glucanases, 1,3, glucanases, 1,3, glucanases...), capable d'hydrolyser la paroi cellulaire et libérer des oligomères (Kubicek *et al.* 2003). A ce stade le *Trichoderma* s'enroule autour du pathogène (Fig.12). L'attachement du *Trichoderma* est médiée par la liaison des glucides dans la paroi cellulaire de *Trichoderma* et les lectines du champignon (Inbar *et al.*, 1996). En même temps, le pathogène réagit en formant des métabolites secondaires et les ROS (reactiveoxygenspecies) qui élicitent une réponse au stress et à la désintoxication dans *Trichoderma* (Irina *et al.*, 2011).

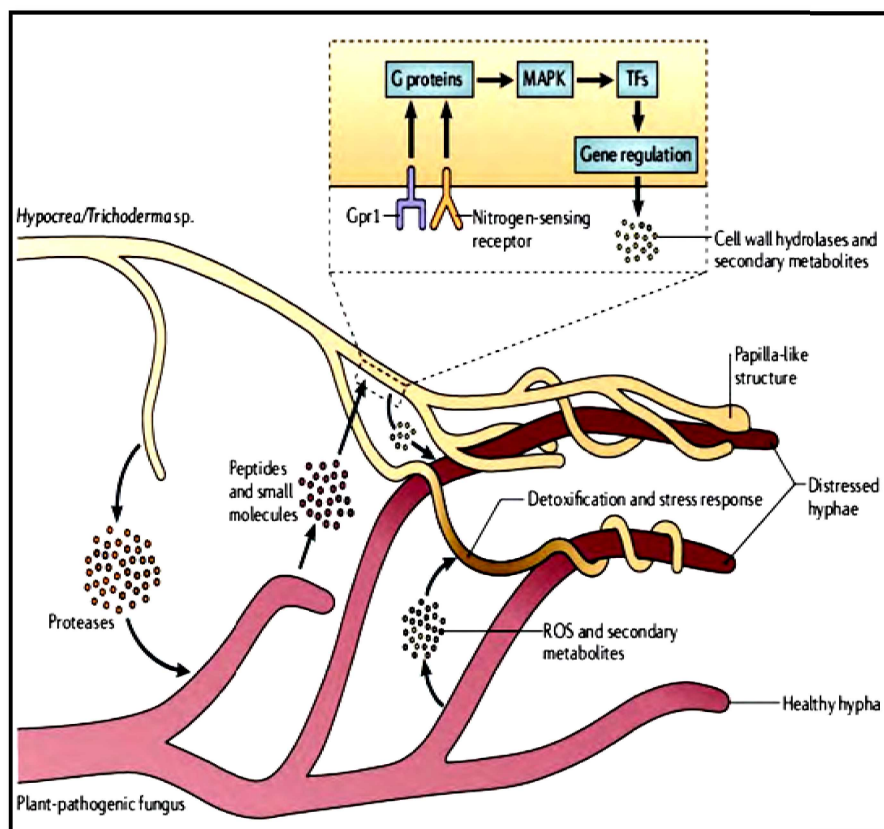


Figure 12. Mécanisme de mycoparasitisme exercé par les souches de *Trichoderma* (Irina et al., 2011)

c) Complétion

Les souches de *Trichoderma*, sont des biodégradeur et compétiteurs des agents pathogènes dans leurs phases saprophytiques surtout lorsque les nutriments forment le facteur limitant (Simon et Sivasithamparam, 1989 ; Wardle et al., 1993). 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 installé les *Trichoderma* établissent une zone d'interaction dans la partie cortex des racines est secrète des molécules tels que les sidérophores qui absorbent le fer et arrêtent la croissance du pathogène (Chet et al., 1997 ; Eisendle et al., 2004).

11.3. Induction de la résistance systémique

L'induction de la résistance systémique dans les plantes par la synthèse des substances chimiques par *Trichoderma* a été démontré dans les années 90s (Elad, 1996 ; Enkerli et al., 1999). En effet, Les hyphes de *Trichoderma* libèrent plusieurs composants qui déclenchent la résistance systémique chez la plante (Fig.13). Seuls les effets positifs, tels que la résistance aux stress abiotiques des plantes, l'amélioration de l'efficacité photosynthétique et la meilleure utilisation de l'azote, sont déclenchés.

Ces composants sont de plusieurs types ; les péptaiboles et le cerato-platanin Sm1 (EPL1 chez certaines espèces) induisent la résistance chez les plantes, aboutissant à la synthèse de l'hydroperoxydelyase, la peroxydase et la phénylalanine ammoniacque lyase (qui induit la lignification), le Xylanase Eix élicite lui-même les défenses de plantes. D'autre part, le 1-Aminocyclopropane-1-acide carboxylique (AAC) désaminase inhibe la formation d'éthylène par la plante, ce qui conduit l'amélioration de la croissance des racines ; un nitrile sécrété aussi de manière constitutive contribue à la formation de l'acide indole-3 auxine (Irina et al., 2001).

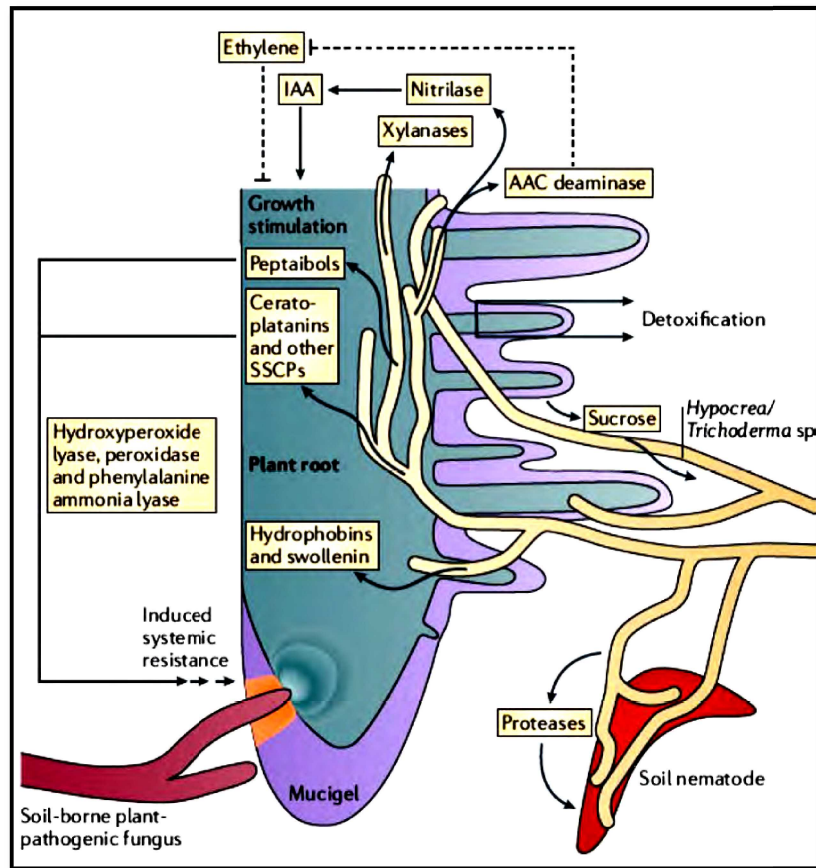


Figure 13. Les mécanismes d'induction de la résistance systémique par les souches de *Trichoderma* (Irina *et al.*, 2001).

PARTIE PRATIQUE

MATERIEL ET METHODES

Ce travail porte sur l'identification des champignons présents dans quelques sols agricoles du Nord-Est Algérien. La partie pratique de ce mémoire est réalisée au niveau du laboratoire de Recherche INRAA-Unité de Recherche Constantine.

1. Méthode d'échantillonnage

Les échantillons du sol sont prélevés à partir de (02) wilayas du Nord-Est algérien. Les échantillons des sols sont prélevés à une profondeur de 20 cm au niveau de la rhizosphère des cultures, dans des sachets propres à l'aide de spatules, à partir de sites agricoles de la région de Mila - Tadjnanet (03 échantillons) et d'Oum El Bouaghi - Ain El Fakroun (03 échantillons). (**Fig.14 ; Fig.15 ; Tab.4**). Les échantillons sont transportés prudemment, pour éviter toute contamination dans des sachets en papier bien propres bien fermé, au niveau du laboratoire de l'INRAA-URC à El Khroub.

Tableau 4. Echantillons de sol

N° de l'échantillon	Wilaya	Culture
E.01	Mila	Blé
E.02	O.E.B.	Blé
E.03	Mila	Olivier
E.04	Mila	Pomme de terre
E.05	Mila	Pois chiche



Figure 14. Prélèvement de l'échantillon du sol

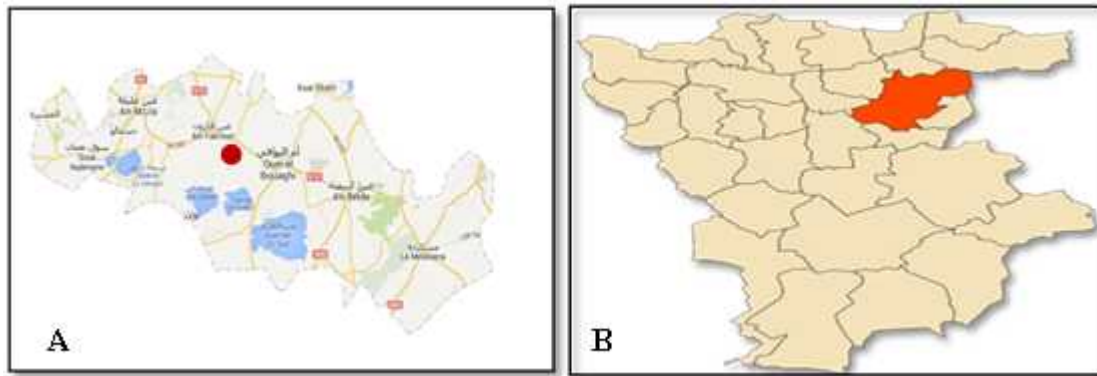


Figure 15. Zones d'échantillonnage. (A) O.E.B. ; (B) Mila

2. Technique d'isolement des champignons

L'isolement des mycètes est réalisé selon la méthode de suspension - dilutions décrite par **Kiddir (2018)**. La préparation des dilutions consiste tout d'abord, à préparer la solution mère et réaliser par la suite des dilutions.

2.1. Préparation des solutions (solution mère et dilutions)

Après l'écartement des gros débris (racines pierres ...etc.) qui se trouvent dans le sol 10 gramme de chaque sol est transféré dans 90 ml d'eau distillée stérile contenue dans un erlenmeyer. Le mélange est ensuite mis en agitation pendant 30 min pour mettre en suspension les spores et le mycélium qui y sont attachés (**Fig.16**). La suspension obtenue correspond à la solution mère.

Afin de diminuer de la charge microbienne et l'obtention de colonies bien séparées, une série de dilutions est réalisée (**Rappily, 1968**), comme suit :

1ml de la dilution 10^{-1} est prélevé par une micropipette et ajouté dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, donnant ainsi la dilution 10^{-2} , cette dernière est agitée à l'aide d'un Vortex avant d'en prélever 1ml que l'on ajoute à 9ml d'eau distillée stérile on obtient ainsi la dilution de même pour obtenir la dilution 10^{-4} (**Fig.17**).



Figure 16. Préparation de dilution. (A) Pesée du sol pour la solution mère ; (B) Préparation des dilutions jusqu'à 10^{-4}

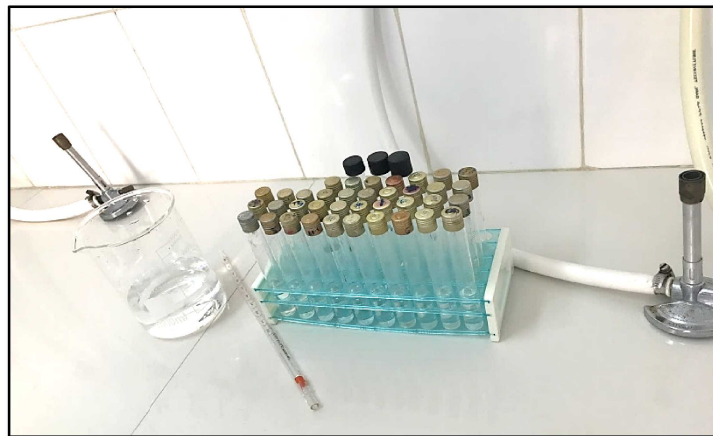


Figure 17. Tubes à essai contenant les dilutions (de 10^{-1} à 10^{-4}).

2.2. Ensemencement sur milieu solide

À l'aide d'une micropipette de 1000 μl , 1 ml de chaque dilution est prélevé puis ensemencé sur milieu Potato Dextrose Agar - PDA avec 2 répétitions, les boîtes de Pétri sont homogénéisées par agitation manuelle circulaire sur la paillasse et incubées par la suite dans une étuve à 25°C pendant 7 jours.

2.3. Dénombrement des colonies et Purification

Après 7 jours d'incubation plusieurs colonies de différents aspect apparaissent dans la même boîte de Pétri. Les colonies sont dénombrées et caractérisées d'une manière préliminaire pour réaliser les purifications (**Figs.18 ;19**). L'obtention de colonies pures est réalisée en effectuant une série de repiquages successifs.

La purification se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu de culture solide PDA. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 7 jours à 25°C.

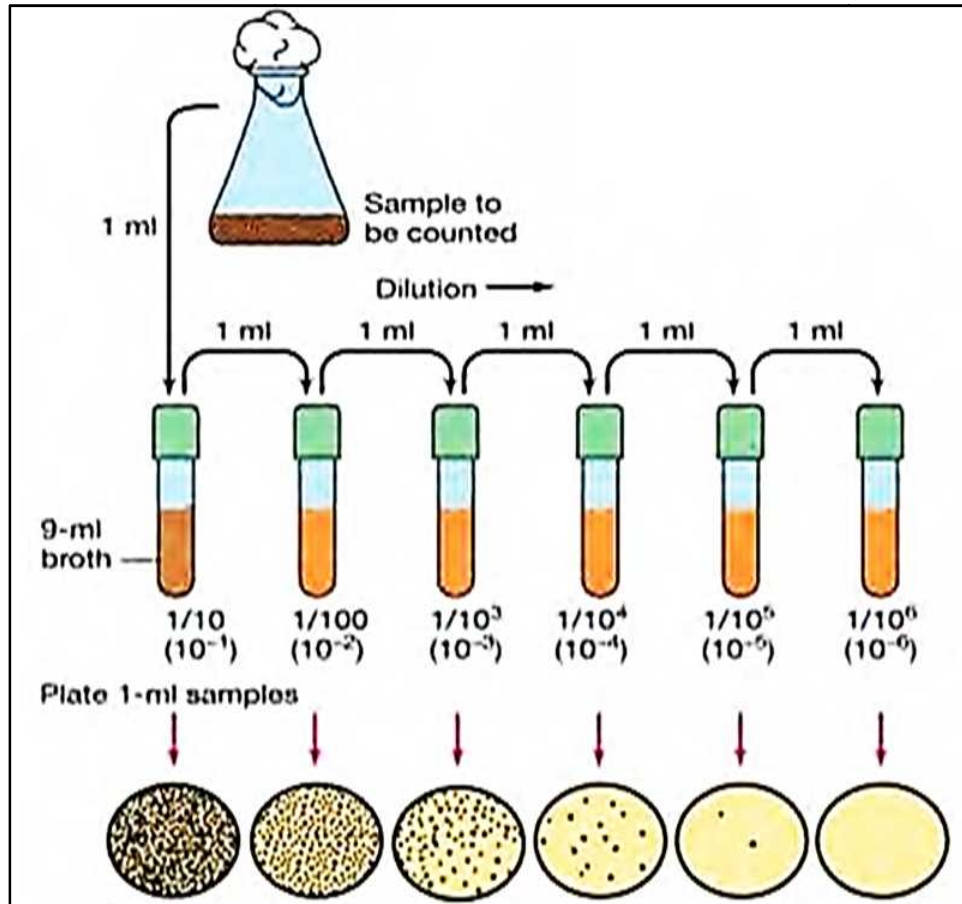


Figure 18. Méthode de suspension dilutions.

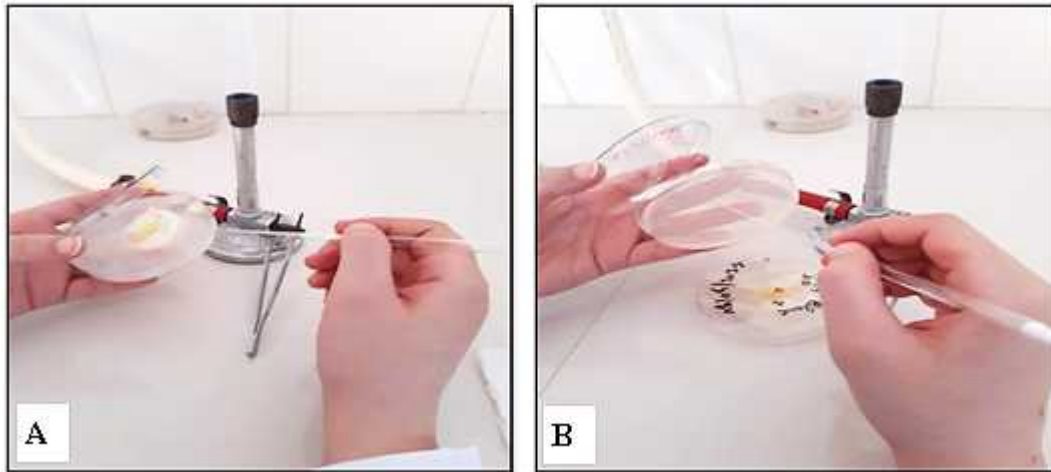


Figure 19. Technique de purification. (A) Prélèvement des isolats ; (B) Ensemencement dans une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu PDA.

3. Identification des champignons

3.1. Identification macroscopique

D'après **Dufresne (2014)**, l'examen macroscopique est basé sur l'observation des critères suivant : la couleur des colonies, la texture, la topographie et la vitesse de croissance (diamètre de colonie au 7^{ème} jour). Ces observations se font à l'œil nu et à la loupe binoculaire. L'odeur du champignon peut être un élément d'identification très important aussi, mais compte tenu du risque potentiel d'inhalation des spores et autres, il est strictement interdit de procéder à un examen olfactif des cultures.

3.2. Identification microscopique

L'examen microscopique consiste tout d'abord à préparer la lame. Dans cette étude la technique du ruban adhésif est utilisée en appliquant le côté adhésif directement sur la colonie, il est par la suite étalé sur une lame propre contenant une goutte de bleu de méthylène (**Fig.20**). L'observation au microscope se fait à l'objectif le plus faible ($G \times 10$) jusqu'au le plus fort ($G \times 100$). Ce type d'identification repose essentiellement sur l'étude morphologique de mycélium (Absence ou présence de cloisons, couleur, taille,...) et des spores (forme, l'origine, taille, mode de groupement,...).

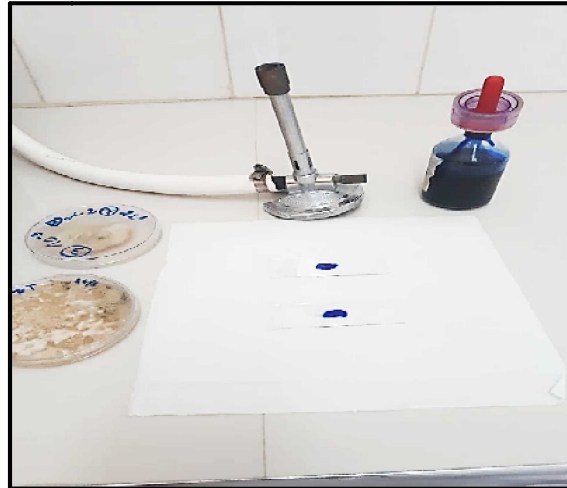


Figure 20. Préparation des lames pour l'observation microscopique

4. Test d'antagonisme *in vitro*

L'activité antagoniste *in vitro* du *Trichoderma sp.* Vis-à-vis de l'agent pathogène « *Fusarium oxysporum f sp.ciceris* » du pois chiche (appartenant à la mycète de l'INRAA-URC) est étudiée selon la méthode de confrontation directe. Le choix de l'agent pathogène est basé sur l'origine de l'isolat de *Trichoderma sp.* Isolé à partir de l'échantillon de sol issu de la rhizosphère d'une culture de pois chiche.

4.1. Méthode de confrontation directe

Appelée encore « technique des cultures opposées » cette technique consiste à placer dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA, deux explants gélosés (6 mm de diamètre), l'une portant le *Trichoderma sp.* (Antagonisme) et l'autre *Fusarium sp.* (L'agent pathogène) (Caron, 2002).

Les deux explants sont placés suivant un axe diamétral à 5 cm et à équidistance du centre de la boîte (Figs.21 ; 22) ; les repiquages sont effectués en même temps (Benhamou et Chet, 1996). L'incubation est réalisée à 25°C pendant 7 jours avec une observation et mesures quotidiennes.

4.2. Mesures de l'inhibition

La technique utilisée est celle indiquée par Rapilly (1968) qui consiste à mesurer la croissance des colonies de pathogènes. Les taux d'inhibition de la croissance mycélienne

exercés par les antagonistes testés sont calculés selon la formule décrite par **Whips (1997)** et **Hmouniet al. (1996)**.

$$I (\%) = (1 - D_n / D_o) * 100$$

I (%) = représente inhibition moyenne de la croissance mycélienne.

D_n = est le diamètre moyen du champignon pathogène en présence du *Trichoderma*.

D_o = est le diamètre moyen du champignon pathogène en absence du *Trichoderma* (Témion).

- Les moyennes de la vitesse de la croissance mycélienne du pathogène et de l'antagoniste sont calculées par la formule suivante décrite par **Benzohraet al. (2011)** :

$$V (\text{mm/jour}) = (L_n + L_{n+1}) / n$$

V = Moyenne de croissance mycélienne

L_n + L_{n+1} = sont les croissances mycéliennes le jour n, n-1, n-2...

N = Nombre de jours.

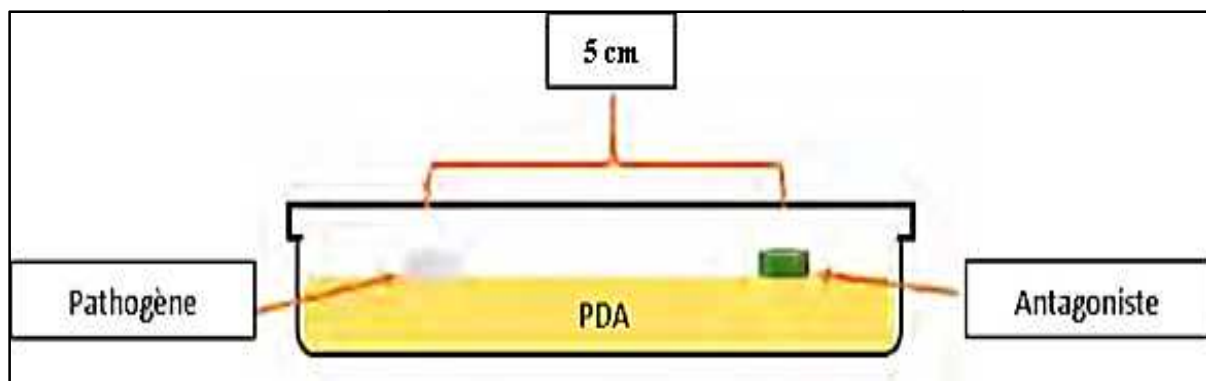


Figure 21. Technique de confrontation directe



Figure 22. Réalisation des confrontations directes au laboratoire. (A) Prélèvement de

l'explant de *Trichoderma* sp. ; (B) Prélèvement de l'explant de *Fusarium* sp. ; (C) Mise en confrontation des deux champignons en boîte de Pétri sur milieux PDA.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

Afin réaliser une étude sur la diversité des genres de champignons présents dans des échantillons de sol agricoles, prélevés dans différentes régions de l'Est algérien « Mila et O.E.B. ». L'analyse au laboratoire de l'INRAA-URC a révélé l'existence d'une diversité importante des champignons telluriques.

1.2. Nombre de colonies pour tous les échantillons

En tout 790 colonies fongiques colonies toutes dilutions confondues sont obtenues à partir des cinq échantillons prélevés des sols agricoles en utilisant la méthode des dilutions d'échantillons récoltés de différentes régions de la région Est Mila - Tadjnanet, O.E.B. - Ain El Fakroun(Fig.23).

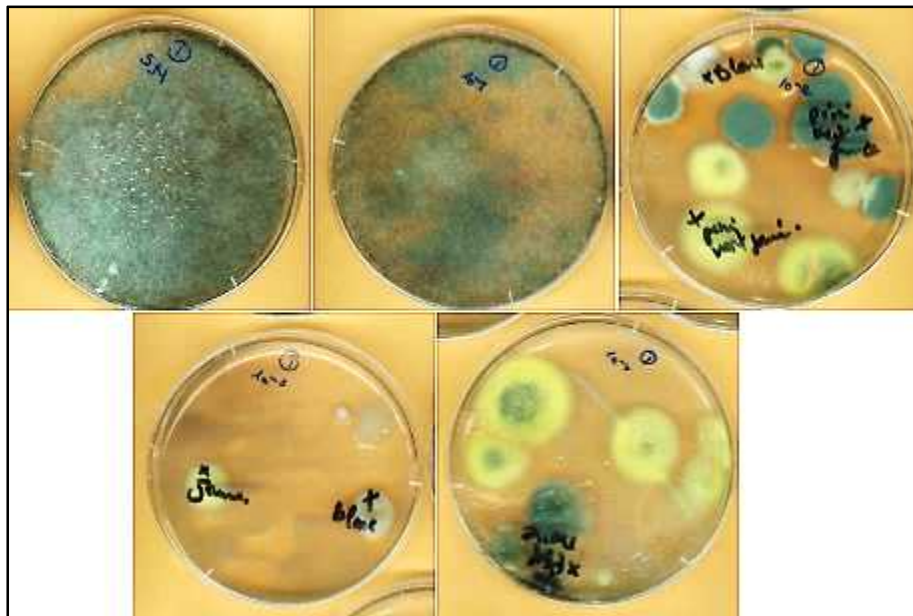


Figure 23. Exemple des colonies obtenues à partir des différentes dilutions (Solution mère, 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4}).

1.3. Nombre de colonies par échantillon

Le nombre de colonies obtenu en fonction des différents échantillons étudiés est réparti comme suit (Fig.24) : E.04 possède le plus grand nombre de colonies suivi d'E.01 (223 colonies). L'E.03 a révélé le plus faible nombre de colonies.

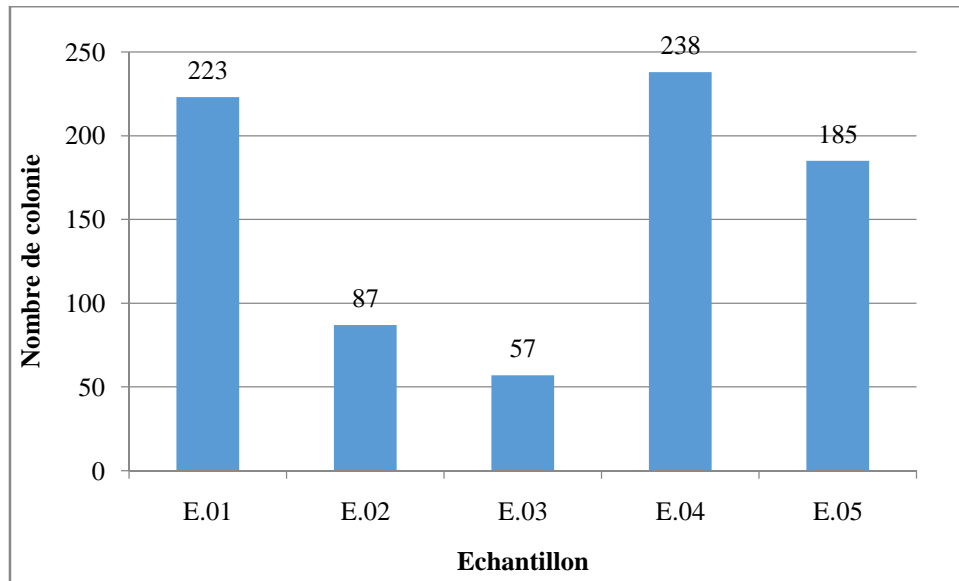


Figure 24. Nombre de colonies obtenues par échantillon

1.4. Nombre de colonies obtenues par échantillon en fonction des dilutions

L'isolement des champignons du sol à partir des dilutions décimales a permis l'obtention d'un nombre élevé des colonies au niveau de la solution mère suivi par la D1 (10^{-1}). Néanmoins, l'E.04 a révélé des nombres de colonies élevés aux niveaux des dilutions D3 (10^{-3}) et D5 (10^{-4}). Le plus grands nombre de colonies est noté chez l'E.05 au niveau de la solution mère(Fig.25).

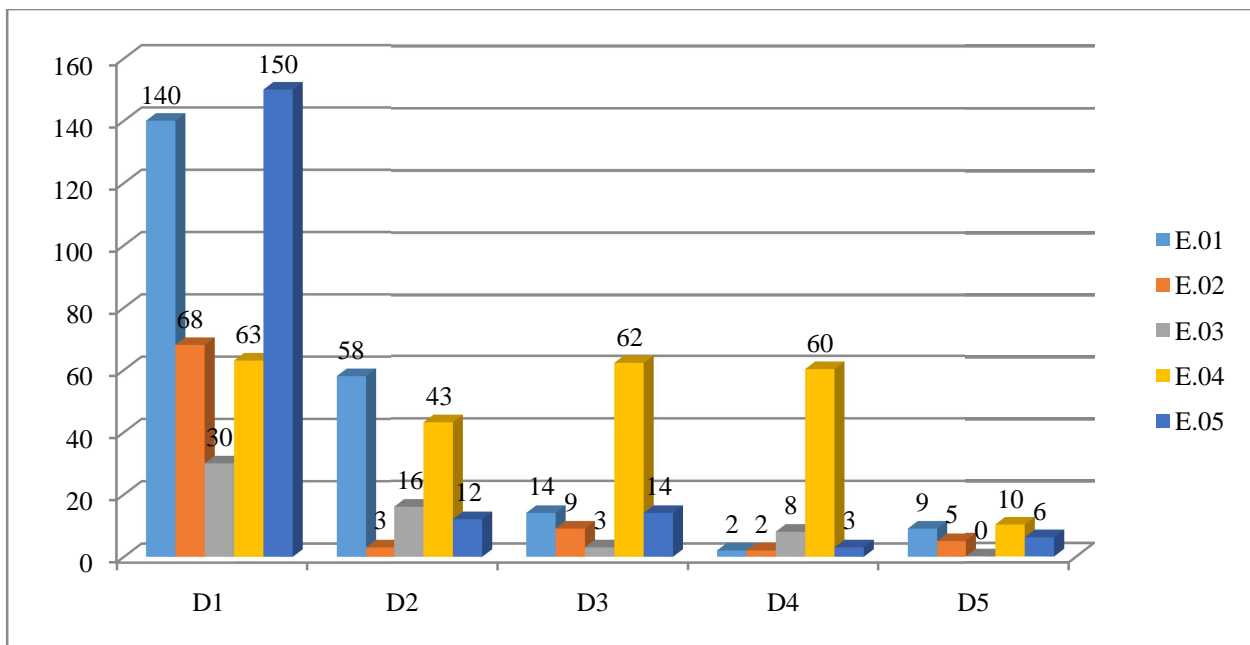


Figure 25. Nombre de colonies obtenues par échantillon en fonction des dilutions.

D1 : SM ; D2 : 10^{-1} ; D3 : 10^{-2} ; D4 : 10^{-3} ; D5 : 10^{-4}

1.5. Genre fongiques identifiés

Une biodiversité importante est observée après avoir effectué une identification macroscopique et microscopique des champignons obtenus par la méthode des dilutions, ce qui a permis de répertorier 8 genres de champignons filamenteux. Les genres identifiés sont : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Gliocladium*.

Le genre le plus dominant est le *Penicillium*, il est présent au niveau de tous des échantillons avec 488 colonies toutes dilutions confondues, suivi du genre *Aspergillus* qui compte 163 colonies (Figs.26 ; 27). Le genre *Trichoderma* est classé en 3^{ème} position avec 44 colonies.

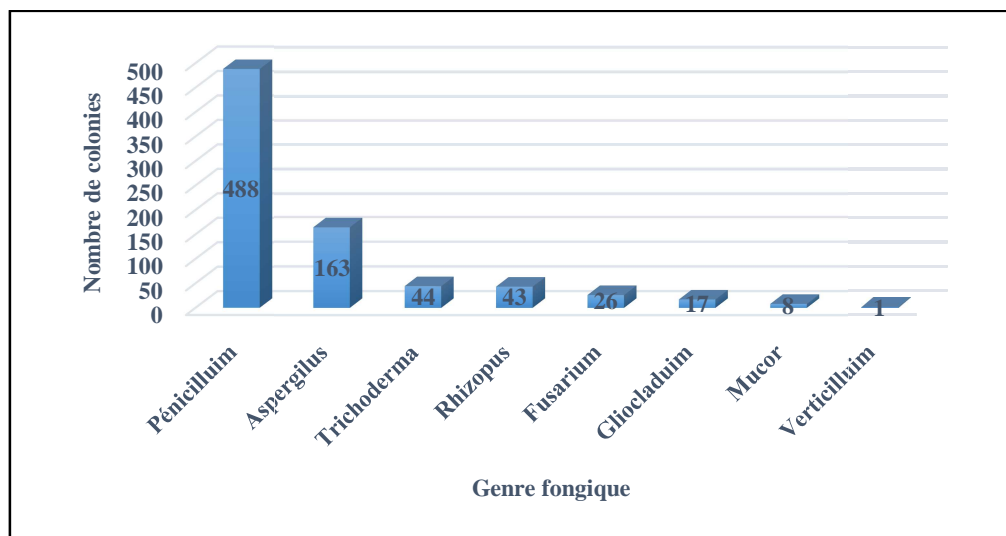


Figure 26. Nombre de colonies identifiées par genre

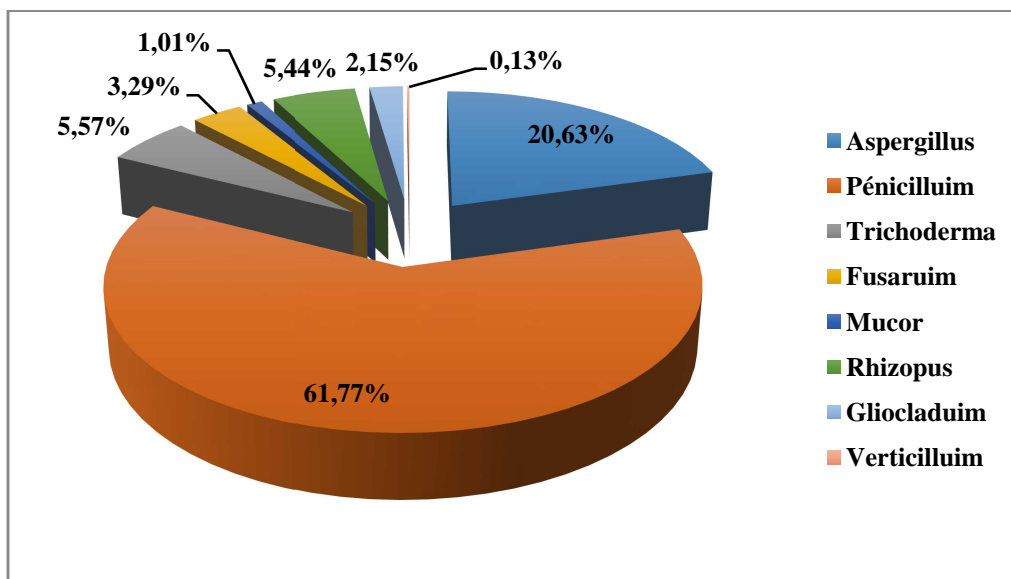


Figure 27. Représentation en segments des pourcentages totaux des genres identifiés au niveau de tous les échantillons étudiés.

1.6. Genre fongique identifiés par échantillon

L'analyse mycologique a révélé une différence de la diversité fongique entre les échantillons de sols étudiés (**Fig.28**). E.05 est l'échantillon, provenant de la région de Mila précisément de la rhizosphère de légumineuses, qui a révélé le plus grand nombre de genres en comparaison avec les autres échantillons il comprend 06 genres fongiques : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Verticillium* et le *Rhizopus* avec une prédominance du genre *Penicillium* avec 108 colonies, les caractéristiques morphologiques et microscopiques sont mentionnées au niveau du tableau 5.

L'E.03 contient 05 genres de mycètes : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium* et *Trichoderma* avec aussi une dominance du genre *Penicillium* (23 colonies). Les échantillons E.01, E.02, et E.04 révèlent 3 à 4 genres, l'E.01 se différencie par la présence de *Gliocladium* (11 colonies).

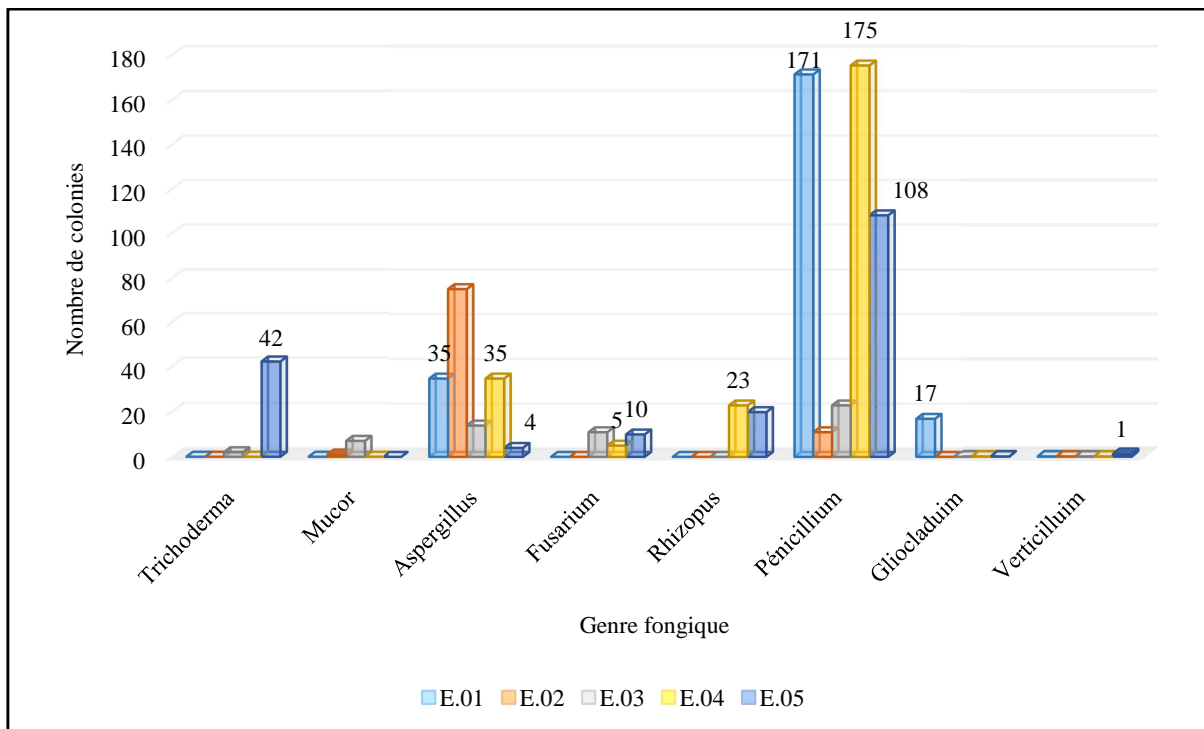


Figure 28. Nombre de colonies identifiées par genre au niveau de chaque échantillon.

Tableau 5. Les caractéristiques morphologiques des genres étudiées.

Genre	Caractéristiques macroscopiques	Caractéristiques microscopiques
<i>Trichoderma</i>	Des colonies blanches, vertes, jaunes de coussins de filaments sporulant.	Les hyphes sont septes avec des conidiospores ramifiés Les conidies unicellulaires sont de couleur verte. (Fig.31-2)
<i>Fusarium</i>	Cotonneuse à laineuse ; blanchâtre puis rosées ; violettes ou jaune Revers incolore à jaune ; puis rouge foncé	La présence de macro conidies fusiformes et cloisonnés. Micro conidies uni ou pluricellulaires piriformes fusiformes, cylindriques, ou ovoïdes isolés solitaires ou groupées, disposées ou verticale, ou plus rarement en chainettes (Fig.30-2)
<i>Mucor</i>	Surface cotonneuse, blanc beige à brun Révers incolore.	Mycélium large non septé Sporanges globuleux Sporocystes globuleux Spores ovoïdes, lisses ou rugueuses (Fig.31-1)
<i>Rhizopus</i>	Colonie à croissance rapide et très grossière	Sporanges sombres contenant des spores de couleur pale à foncée (Fig.30-4)
<i>Penicillium</i>	Colonies poudreuses et blanc puis bleu vert généralement vertes Revers incolore	Filament mycéliens septes, porte des conidiospores. Des spores unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, grisâtres ou verdâtres (Fig.29)
<i>Aspergillus</i>	Poudreuses à granuleuse blanc puis vert, jaune, noir Revers incolore, jaune, rouge.	Mycélium septé et ramifié conidiospores non cloisonnés Le conidiospore non cloisonné terminé par une vésicule gonflée, portant des phialides en forme de bouteille Les spores produites en longues chaînes au bout des phialides, sont toujours unicellulaires, globuleuses ou elliptiques (Fig.30-1)
<i>Gliocladium</i>	Thalle rose pâle à saumon, devenant blanc en vieillissant. Revers incolore	Conidiospores dressés, lisses, phialides très variables plus ou moins effilées. Conidies unicellulaires, hyalines, lisses, de forme variable (elliptiques, réniformes, ou pyriforme), elles restent agglomérées les unes aux autres et forment des masses mucilagineuses (Fig.31-3)
<i>Verticillium</i>	Thalle noir ou blanc	Conidiospores disposés en verticilles autour de l'axe principal de l'hyphe. Une phialide se trouve à l'extrémité de chacune de ces branches ; Les conidies sont formées une par une à l'extrémité des phialides (Fig.30-4)

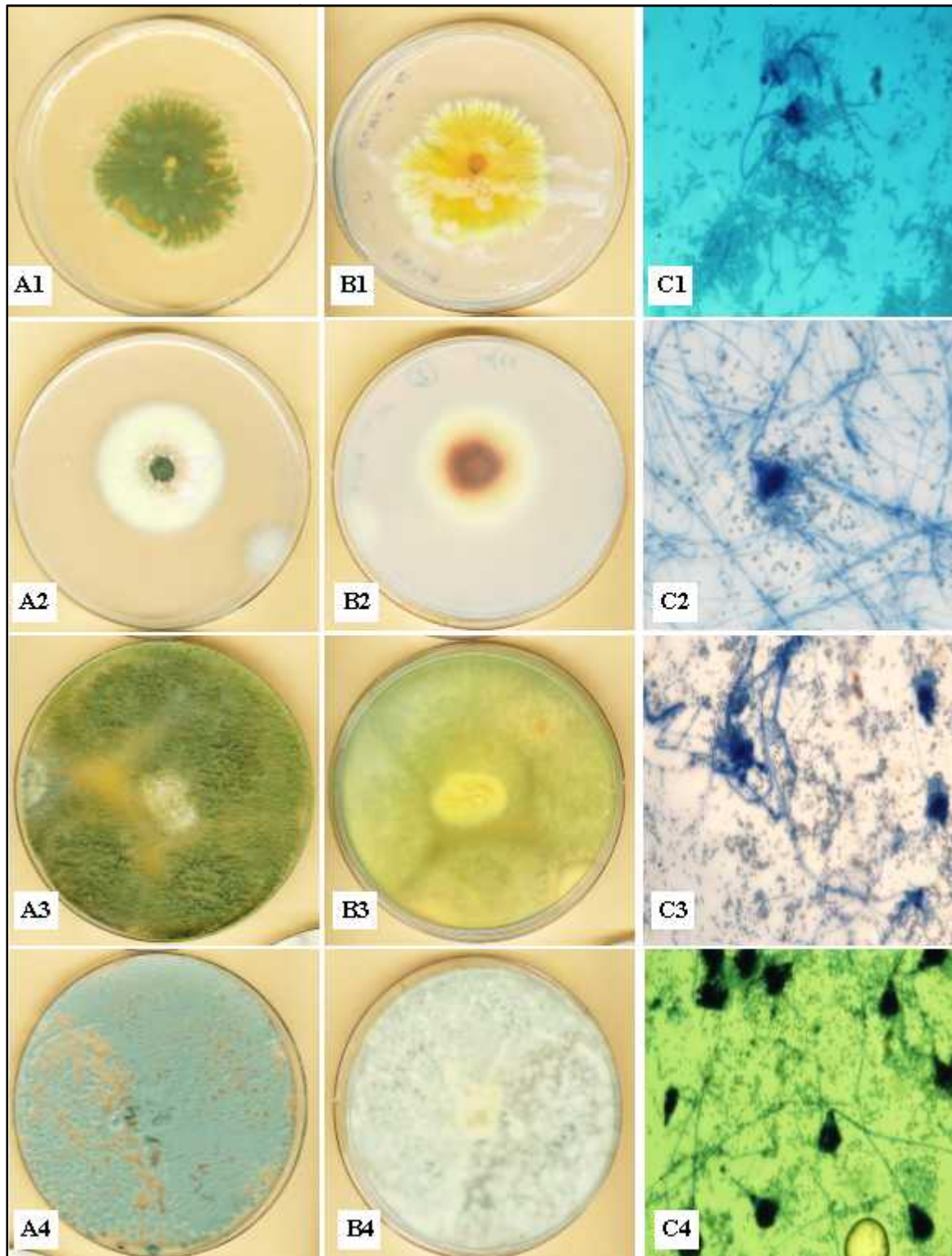


Figure 29. Caractérisation des isolats du genre *Penicillium*(A) recto de la culture ; (B) verso de la culture ; (C) observation microscopique. (1,2,3 et 4 sont les différentes formes de *Penicillium* obtenues)

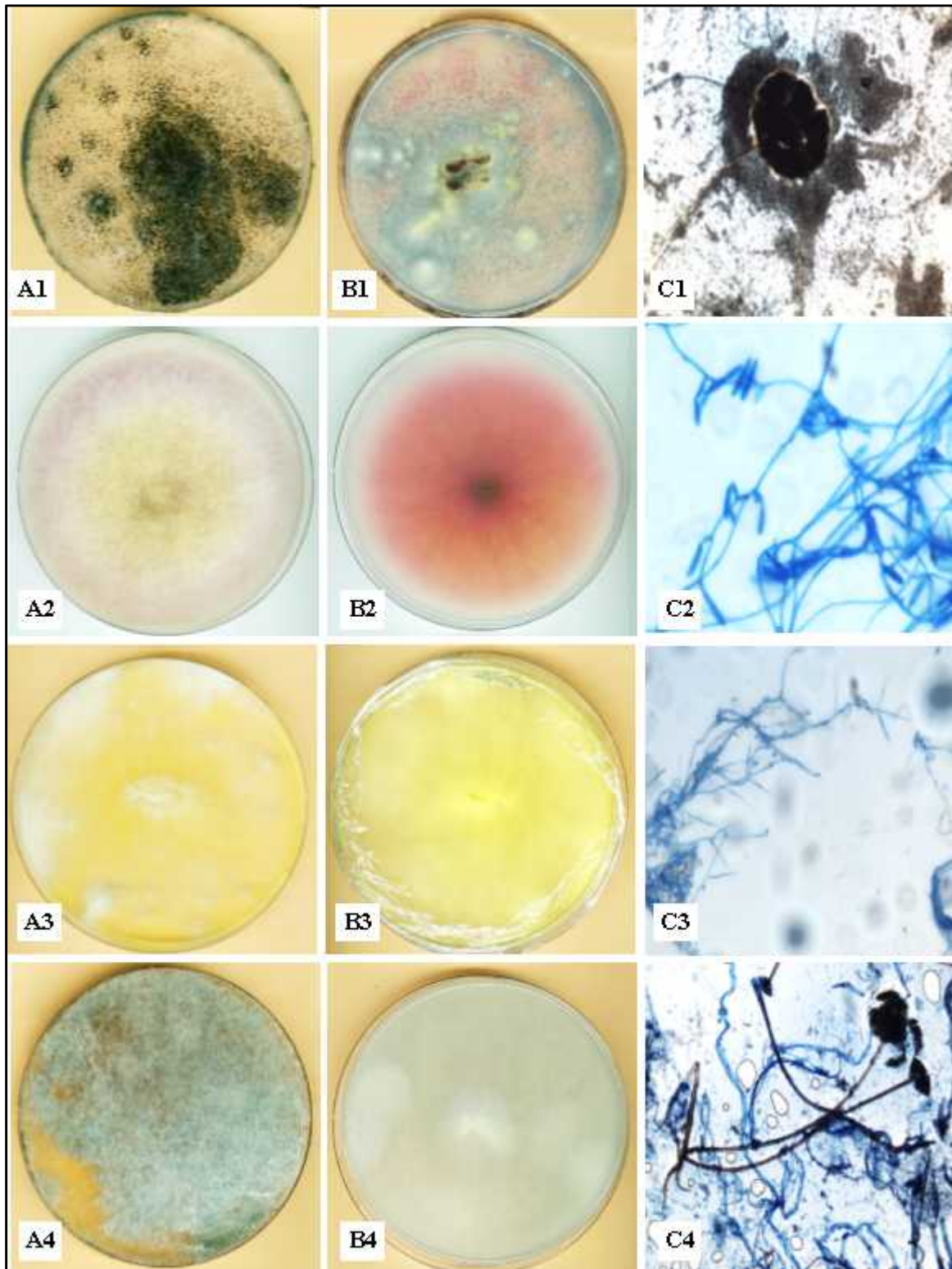


Figure 30. Caractérisation des isolats (A) recto de la culture ; (B) verso de la culture ; (C) observation microscopique. (1) *Aspergillus*; (2) *Fusarium*; (3) *Verticillium*; (4) *Rhizopus*.

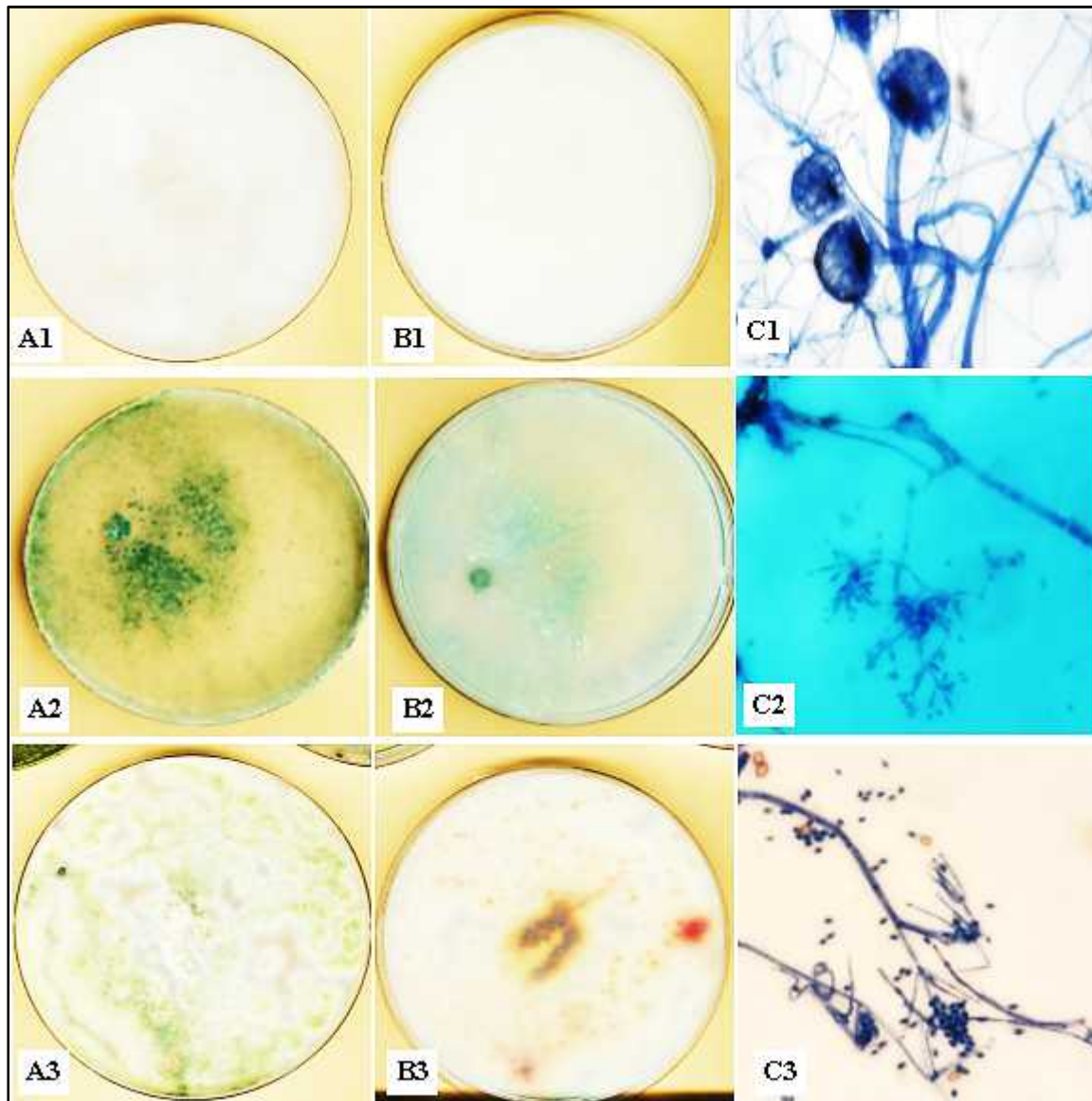


Figure 31. Caractérisation des isolats (A) recto de la culture ; (B) verso de la culture ; (C) observation microscopique. (1)*Mucor*; (2) *Trichoderma*; (3) *Gliocladium*

1.7. Test de confrontation direct

Les résultats de la confrontation directe, entre le *Fusarium oxysporum* sp. *ciceris* et *Trichoderma* sp. Isolé à partir du E.05, montrent que la croissance de mycélienne des témoins est plus rapide en confrontations (pathogènes – antagoniste) soit une moyenne de 5 mm/jour pour le témoin est 1,82 mm/jour concernant le *Fusarium* en confrontation. D'autre part, la différence entre les moyennes de vitesse de croissance mycélienne du *Trichoderma* sp. au niveau du témoin ou en confrontation est pratiquement la même soit 2 mm/jour (Fig.32). Le taux d'inhibition de l'antagoniste vis-à-vis du pathogène est en augmentation constante durant les 5 premiers jours d'incubation soit du 68% au 5^{ème} jour (Figs.33 ;34). Le taux d'inhibition a baissé légèrement les deux derniers jours (65 au 7^{ème} jour).

Ces résultats montrent que l'isolat de *Trichoderma* sp. Possède un potentiel antagoniste intéressant contre le pathogène testé *in vitro*.

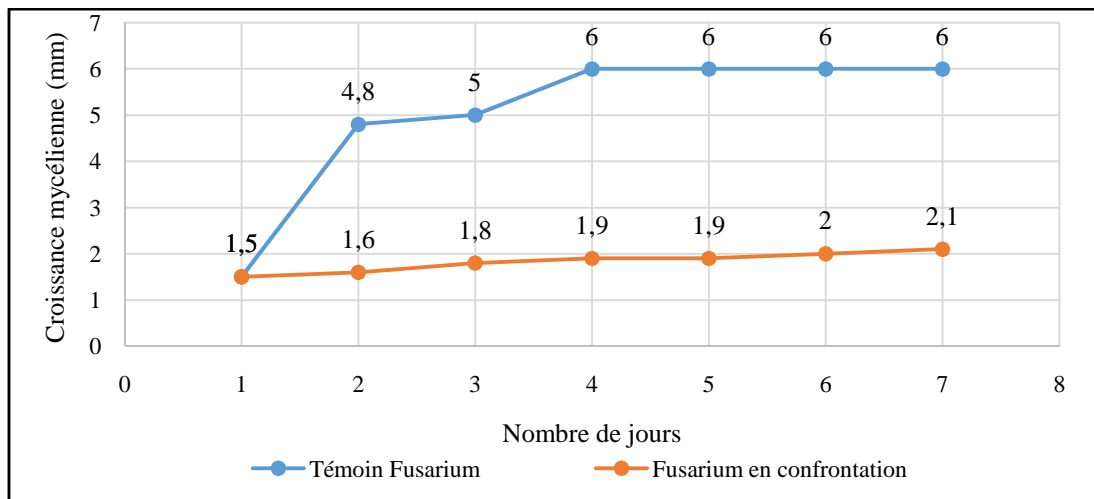


Figure 32. Croissance mycélienne du *Fusarium* sp. : Différence entre le Témoin et la confrontation

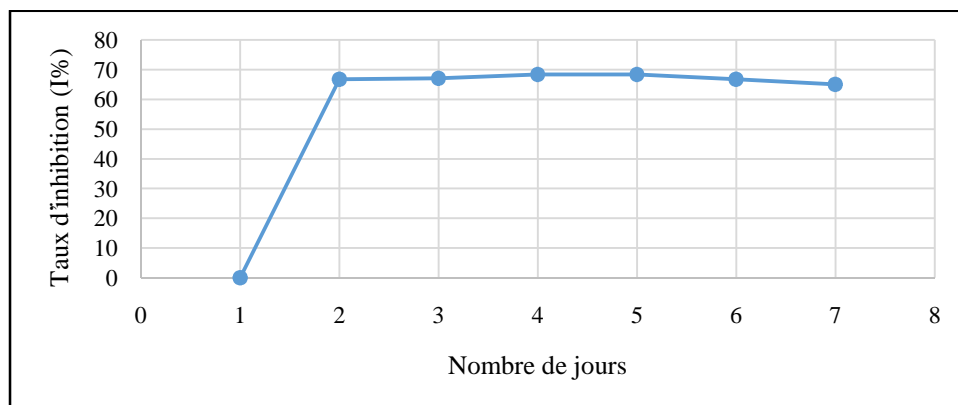


Figure 33. Taux d'inhibition de l'antagoniste vis-à-vis du pathogène

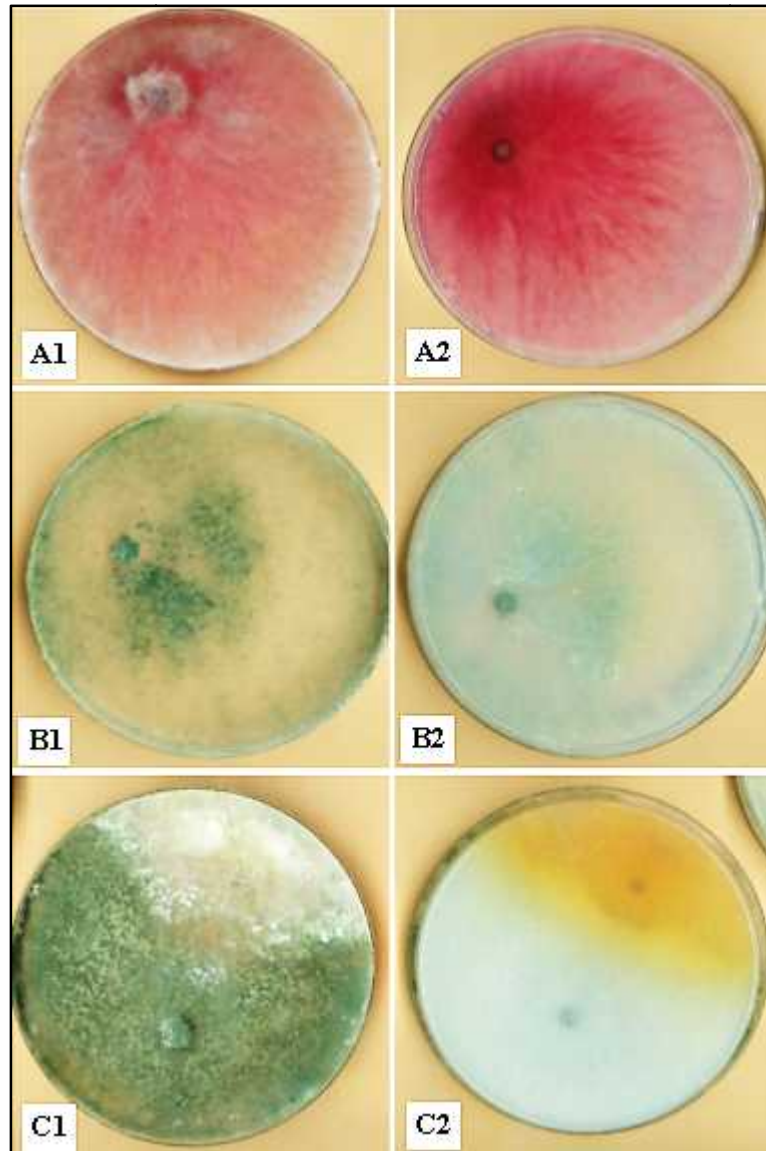


Figure 34. Lutte biologique *in vitro*. (A) *Fusarium sp.* ; (B) *Trichoderma sp.* ; (C) Confrontation directe. (1) Recto de la boîte ; (2) Verso de la boîte

2. Discussion

En vue de mieux connaître la diversité fongique des sols Algériens. Des échantillons de sols agricoles provenant de 2 wilayas du Nord Est algérien ont été prélevés à moins de 30 cm de profondeur dans laquelle se concentre l'essentiel de l'activité biologique (**Ekelund et al., 2001**).

L'isolement des souches sporulantes nécessite l'utilisation de la technique suspension-dilution pour obtenir le maximum de mycètes (**Chesters et Thornton, 1956 ; Johansson, 2001**).

Les caractéristique macroscopique et microscopique sont la base de l'identification des plusieurs espèces fongiques (**Peterson, 2006**).

La réalisation des étapes d'analyses de l'échantillon de sol permet d'obtenue 8 genres de champignons filamenteux, Le classement du genre obtenu par ordre de prévalence est : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mucor*, *Verticillium*, *Rhizopus*, *Gliocladium*.

Les populations microbiennes variées selon la région d'échantillonnage, les facteurs qui influencent cette diversité sont : les matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (**Ruark et Zarnoch, 1992 ; Madigan et al., 1997 ; Subler et Kirsch, 1998 ; Smith et al., 2000**).

Le genre le plus dominant sur l'ensemble des échantillons étudiés est *Aspergillus* avec 62,74% suivie par le genre *Penicillium* avec 24,89%.

Il est nécessaire de connaître le comportement des agents antagonistes et leur interaction avec le pathogène avant la mise en œuvre d'une stratégie de lutte biologique contre les champignons pathogènes à l'aide des produits biologique.

En se basant sur les résultats des confrontations du *Trichoderma* avec le *Fusarium*, il existe un potentiel antagoniste important du *Trichoderma* isolé. Nos résultats sont conformes à ceux obtenus par **Albouvette et al. (1983)**, **Dubot (1985)** et **Davet (1996)** qui ont montré que la croissance de *Trichoderma* est plus rapide que celle du pathogène. De ce fait, elle colonise le milieu et assimile les éléments nutritifs, c'est phénomène est appelé compétition. Ces résultats peuvent être aussi expliquée par le mécanisme d'antibiose, qui est due à la sécrétion de substances agissant comme étant des antibiotiques et qui inhibent aussi la croissance du pathogène.

CONCLUSION

CONCLUSION

Le présent travail consiste à inventorier les champignons telluriques présents dans cinq sols agricoles de l'Est algérien Mila (Tadjenant) et Oum El Bouaghui (Ain Fakroun). Le sol est considéré comme l'un des écosystèmes biologiques les plus diversifiés et les champignons font partie à cette biodiversité.

L'isolement a été réalisé selon la méthode suspension-dilution qui permet d'isoler un large spectre de mycètes d'un point de vue qualitatif et quantitatif.

L'étude relative aux caractères macroscopiques et microscopiques des souches isolées a permis d'identifier 11 genres qui « *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Verticillium* et *Gliocladium* », dont les genres les plus dominants sont le *Penicillium* et l'*Aspergillus*. Ces résultats ont montré qu'il existe une grande diversité d'espèces de champignons telluriques notamment des souches antagonistes dans le sol de la région étudiée.

Par ailleurs on peut conclure que la répartition de la microflore fongique dépend d'un ensemble de facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques, leur présence dans l'atmosphère et la présence de matière organique.

Le test d'antagoniste *in vitro* entre les isolats fongiques « *Trichoderma sp.* et *Fusarium sp.* » a révélé un résultat intéressant par la méthode confrontation direct. L'isolat de *Trichoderma* a un effet inhibiteur significatif (68%).

Une étude plus approfondie et plus élargie pour les régions Est serait intéressante pour la détermination de la biodiversité des espèces fongiques. Ainsi que l'étude des interactions plantes-champignons au niveau de la rhizosphère, ce qui permettra d'identifier les souches d'intérêt pour les cultures. Il serait intéressant de réaliser une identification moléculaire des isolats de *Trichoderma* obtenues et d'étudier leurs compositions en agents inhibiteurs (métabolites secondaires et autre).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Abramson D., Demianyk C. J., Fields P. G., Jayas D. S., Mills J. T., Muir W.E., Timlik B., White N. D.G. (2001).** Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grains entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. Ed. Centre de recherche sur les cereals. 58 p.
2. **ACGIH C. (1999).** Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. In *American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Cincinnati, OH.*
3. **Ahmad I. et Baker R.(1987).** Composition saprophytic ability and Cellulolytic activity of rhizosphère competent mutants of *Trichoderma harzianum* *Phytopathology*, vol.77.P:358-362.
4. **Alexander M. (1991).**Introduction to soil microbiology, (edn) Willey, New York.
5. **Anonyme (2012).** Aspergillus flavus et autres moisissures productrices d'aflatoxines, ANSES, 3p.
6. **Bardgett R.D. et Griffiths B.S. (1997).**Ecology and Biology of soil Protozoa, Nematodes, and Microarthropods, In: Van Elsas J, D, Trevors J. T. Wellington E, M, M, (eds) Modern soil microbiology, Marcel Dekker, INC, New York, 129-163.
7. **Barriuso E., Calvet R., Schiavon M. et Soulas G. (1996).** Les pesticides et les polluants *Bioanalytical Chemistry*, 395, 1225-1242.
8. **Benbrouk C. M. (2008).** Pest management at the crossroads, Consumers Union, Yonkers. 272p.
9. **Benhamou N. et Chet. (1996).** Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology*; 86 :405-416.
10. **Blackwell, M., R. Vilgalys et Taylor J.W. (1998).** Fungi, Eumycota. In *The Tree of Life*, D.R. Maddison et W.P. Maddison editor, University of Arizona. <http://tolweb.org/tree?group=Fungi&contgroup=Eukaryotes>.
11. **Bodet (2006).** Le programme FertiagriBio : Ses apports aux agriculteurs Editeur Armand Colin, Paris, P : 174-196. by nitrogen fertilizer. *Am. Enol. Viticult.* 51:329-339.
12. **Boiron P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. p:13-19-69-79.

13. **Botton B. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris.P: 12-426 43-56. Agent of soil-borne plant pathogenicfungi.
14. **Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. et Veau P. (1999).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. P : 12-426.
15. **Bourgeois C.M., Mescle J.F. etZucca J. (1989).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. pp : 216-244.
16. **Calvet R. (2000).** Le sol propriétés et Fondtion, constitution et structure phénomènes aux interfaces, Tome1.Edition France Agricole,Paris(France). Pp :83-90.
17. **Calvet R. (2003).** Le sol propriétés et fonctions, TI.ED France agricole, Paris, 456p.
18. **Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit C., Charnay M.-P. et Coquet Y. (2005).** Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales. *Editions France Agricole*, 637 p.
19. **Carlile M.J. et Watkinson (1994).**S.C. The Fungi. (Academic Press eds).
20. **Caron J. (2002).**Predictors of psychological distress and quality of life in disadvantaged socio-economic populations of Montreal,*Journal of Urban Health* ,79,4,S60-S61.
21. **Castegnaro M. etPfohl-Leszkowicz A. (2002).** Les mycotoxines: contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La sécurité alimentaire du consommateur*, Lavoisier, Tec&Doc.
22. **Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimon B., & Penn P.(2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, 157 p.
23. **Champion R. (1997).** Identifier les champignons transmis par les semences. Ed.EditionsQuae, France, 398 p.
24. **Chesters C.G.C. et Thornton R. H. (1956).**A comparison of techniques for isolating Soil fungi.*Transactions of the Brithsh Mycological society* 39 (3) :301-313.
25. **Chet I. (1987).**Trichoderma: Application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soil-borne plant pathogenic fungi. In: *Innovative Approaches to Plant Disease control* .P:137-160.
26. **Chet I. (1997).**Innovative approaches to plant disease contol, Wiley, New York. P: 137-160. Control. pp:137-160.
27. **Columa(1977).** Les herbicides et le sol. ACTA, 143 p.

28. **Cook R .J. (2014).** Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *ANNU, Rev, Phytopathol* 31, 53-80.
29. **Davet R. (1997).** La Communauté Fongique : Son organisation et rôle dans l'écosystème. Marcel Dekker, Inc., New York.
30. **Davet P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétal, Edition INDR A. Paris p63-81.
31. **Dommergues Y. et Mangenot F. (1970).** écologie microbienne du sol, Masson et Cie, Paris, pp :9-72.
32. **Dubos, B. (1986).** L'utilisation des Trichoderma comme agent de lutte biologique à l'égard de deux parasites aériens : *Chondrostereum purpureum* (Pers. Ex Fr.) Pouzar (Plomb des arbres fruitiers) et *Botrytis cinerea* Pers. (Pourriture grise de la vigne). P 35-49. In : L'emploi d'ennemis naturels dans la production des cultures. Versailles, 10 janvier 1985. Ed. INRA (les colloques de l'INRA, n°34.
33. **Duchaufour P. (1994).** pédologie : Sol, Végétation, Environnement. Masson Editeur 120, Boulevard saint Germain 72380 Paris cedex 06. E., Taylor & Francis. London. Editions Quae, France, 398 p.
34. **Eisendle R. (2004).** Biosynthesis and uptake of siderophores is controlled by the Pac C-mediated ambient-pH regulatory system in *Aspergillus nidulans*," *Eukaryotic cell*. Vol. 3. pp: 561-563.
35. **Elad Y. (1996).** Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* of *Botrytis cinerea* incited diseases. *Eur J plant Pathol* 102:719-732.
36. **Emmert E.A.B. et Handelsman J. (2003).** Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS. Microbiol. Lett.* 171p.
37. **Ekelund F. (2001).** Distribution with depth of protozoa, bacteria and fungi in soil profiles from three Danish forest sites. *Soil Biology and Biochemistry* 33(4-5): 475-481.
38. **Enkerli J. (1999).** Yield loss, incidence and inoculum density associated with vascular wilt of lentil. *Phytopathol. Medit* 35. pp : 24-32.
39. **FAO. (2011).** La biodiversité et biotes du sol, 2011.
40. **Gams W. et Bisset J. (1998).** Morphology and identification of Trichoderma. Pp : 1-33. *Trichoderma and Gliocladium* Vol. 1. Edited by Kubicek C. P., and Harman, G.E., Taylor & Francis. London.
41. **Gelinas P. (1995).** Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.

42. **Ghisalberti E.L. et Sivasithamparam K. (1998).**Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Biochem J*. 23:1011-1020.
43. **Girard M.-C schvartz C et jabiol B. (2011).** Etude des sols , Description , cartographie , utilisation Dunod éd.,Paris.
44. **Gobat M. (2003).** Le sol vivant , France ,568p.
45. **Guild S. et MacDonald M. (2004).** Prévention des moisissures et récupération des collections : lignes directrices pour les collections du patrimoine.
46. **Harman G.E.C.R. (2004).** *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts, *Nature Review Microbiology*. Vol. 2. pp:43-56
47. **Hussain A., Rafique Asi M., Iqbal Z. et Chaudhry J. A. (2001).** Impact of heavy repeated longterm pesticides applications on soil properties in a cotton agroecosystem. In: "Impact of longterm pesticides usage on soil properties using radiotracer techniques". Proceeding of final research coordination meeting. Organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear.
48. **Inbar L.A. (1996).** Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotium rolfsii* made its role in biological control," *Soil Biol Biochem*. Vol. 28. P: 757- 763. incited diseases. *Eur J Plant Pathol* 102: 719-732.
49. **Irina S. (2011).** *Trichoderma*: the genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*. Volume 9.
50. **Jacques Guiberteam, Patrick Joly, Jacqueline Nicot, Jean Marc Olivier, (Champignons).** *Encyclopaedia Universalis [en ligne], consulté le 22 mai 2021.* URL : janvier 1985. Ed. INRA (les colloques de l'INRA, n° 34).
51. **Jennings D.H. et Lysek G.(1996).** Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. (Bios Scientific publishers eds).
52. **Jerome P. (2004).** *Microbiologie*, Ed Paris., 891pages.
53. **Joyeux A. (1982).** Les préparations industrielles d'enzymes. p : 22-46. **Julien R. (2002).** Les moisissures parlons-en. *Objectif prevention*. 25(4): 7-8 p.
54. **Kendrick B.(1999).** The fifth kingdom. 2nd édition. Mycologue Publications. <http://www.mycolog.com/fifthtoc.html>.
55. **Kilbertus G. (1980).** Activité biologique du sol, *Revue bois et foret des tropique* N°190, laboratoire de botanique et microbiologie de Nancy I.
56. **Kubicek C.P.(2003).** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp.: a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biol.*, 38 (3): 310-319.
57. **Larpent J-P. et Larpent-Gouraud M.(1990).** Mémento technique de microbiologie :

- Lavoisier, Paris, 417p.
58. **Lecellier A. (2013)**. Détection, caractérisation et identification des moisissures par spectroscopie vibrationnelle infrarouge et Raman (Doctoral dissertation, Reims). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, 157p.
59. **Lumière (2000)**. Lumière B., Guide sur le comportement Des polluants Dans les sol Et Nappes .
60. **Madigan M.T. (1997)**. BrockBiology of Microorganisms.8th Edition,Prentice Hall International,Inc.,New york.
61. **Mathias de Kouassi(2001)**. « La lutte biologique : une alternative viable à l'utilisation des pesticides? », *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*, Volume 2 Numéro 2 | octobre 2001, mis en ligne le 01 octobre 2001, consulté le 27 juin 2021. URL : <http://journals.openedition.org/vertigo/4101> ; DOI :<https://doi.org/10.4000/vertigo.4101>
62. **Mider P., Peng S. etFließbach A. (2002)**. Effets des produits phytosanitaires sur les microorganismes du sol. VBB-Bulletin, 6 : 6-7.
63. **Moreau P. A., Daillant O., Corriol G., Gueidan C. etCourtecuisse R. (2002)**.Renecofor -Inventaire des champignons supérieurs et des lichens sur 12 placettes du réseau et dans un site atelier de l'INRA/GIP ECOFOR –Résultats d'un projet pilote (1996-1998). Office National des Forêts, Fontainebleau, France, 142 p.
64. **Moularat S., Robine E., Ramalho O. et Oturan M. (2008)**. Detection of fungal development inclosed spaces through the determination of specific chemical targets. *Chemosphere* 72, 224-232.
65. **Munees Ahmad et Mulugetakibret. (2013)**. Mechanismes and applications of plant growth promoting rhizobacteria :Current perspective , journal of king saud university-science, january volume 26.
66. **Mustin M.(1987)**.Le compost, Gestion De la matière organique Editions François Dubus, Paris.
67. **NasraouiBouzide (2006)**. Les champignons parasites des plantes cultivées .chapitre 3et 4.P :320-447.
68. **Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. et Killington R. (2000)**. L'essentiel en microbiologie..Edition Berti. pp : 210-216.

69. **Nielsen K. F., Mogensen J. M., Johansen M., Larsen T. O., Frisvad, J. C (2009).** Review of secondary metabolites and mycotoxines for the *Aspergillus Niger*. *Anal bioanalchem*; 395:1225-1242.
70. **Noumeur S.(2008).** Biodégradation du 2,4-dichlorophénol par le microbiote tellurique de la région de Hamla (Batna), Th doctorat : Biologie université Mentouriconstantine,
71. **Ousalah A. (2003).** Recherche des activités microbiennes antagonistes des populations fusariennes (cas de la microflore bactérienne et actinomycetale thermophile antagoniste de *Fusarium oxysporum f. sp. albedinis*). These de MAGISTERE en phytopathologie. Université " SAAD DAHLEB" de Blida. 157 p.
72. **Palaty C. et Shum M. (2011).** *Effets de l'exposition aux moisissures en milieu intérieur sur la santé*. Centre de collaboration nationale en santé environnementale
73. **Peterson S.W. (2006).** Multilocus sequence analysis of *Penicillium* and European *Penicillium* species, *Rev. Iberoam Micol.*, 23(3), 134-8.
74. **Pruvost G., Les dossiers de Micro & Macro – Les champignons.** Du sol et de litière [en ligne], chez le père magazine, 4 mars 2018, 16 mars 2018. Consulté le 22 mai 2021, disponible sur : <https://chezleperemagazine.com/blog/micro-macro-champignons-du-sol-et-de-la-litiere/>
75. **Reboux G., Bellanger A., Roussel S., Grenouillet F. et Million L.(2010)-** Pollution *Revue française d'allergologie* 50 : 611–620.
76. **Rivière J. (1975).** Les applications industrielles de la microbiologie. p : 31-195. Collection sciences agronomiques. Masson et Cie (éd.).
77. **ROGET P. GARCIA J. L. (2001).** Introduction à la Microbiologie Du sol. Marseille : université de provence, 193p.
78. **Ruark G.H. & Zarnoch S.J. (1992).** Soil carbon, nitrogen and fine root biomass sampling in a pine stand. *Soil Sc. Soc. Am.J.* 56 :1945-1950.
79. **Samuels G. J., Chaverri P., Faar D. F. et Mc Cray E. B. (2006).** *Trichoderma* : systematics, the sexual state, and ecology phytopathology; 96:195-206.
80. **Sanders I.R. (2004).** Intraspecific genetic variation in arbuscular mycorrhizal fungi and its consequences for molecular biology, ecology, and development of inoculum. *Canadian Journal of Botany.* 82: 1057-1062.
81. **Savadogo P. W., Traoré O., Topan M., Tapsoba K. H., Sedogo P. M. et Bonzi-Coulibaly L.Y. (2007).** Variation de la teneur en résidus de pesticides dans les sols de la

- zone cotonnière du Burkina Faso. Journal African des sciences de l'environnement, 1,2007 : 29-39p.
82. **Schirmbock M. (1994).** Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptide antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. Appl. Environ. Microbiol. **60**:4,364- 4,370 p.
83. **Schü er A., Schwarzott D., Walker C. (2001).** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. Mycological Research. **105**: 1413-1421.
84. **Scriban R. (1993).** Biotechnologie. p:32-690. 4^{ème} édition. Technique de documentation- Lavoisier (éd.).
85. **Senn-Irlet B., Egli S., Boujon C., Kuchler H., Küffer N., Neukom H-P., Roth J-J.(2012).** Protéger et favoriser les champignons. Notice pour le praticien (49), Birmensdorf, Suisse, 12p.
86. **Sicard M., Lamoureux Y. (2006).** Connaître, cueillir et cuisiner les champignons sauvages du Québec. Ed. Fides, Québec, 365 p.
87. **Simon A., Sivasithamparam K. (1989).** Pathogen Suppression: A Case Study In Biological Suppression of *Gaumannomyces Graminis* Var. *Triticum* in Soil Biol Biochem **21**:333-337.
88. **Smith H J. (2000).** Soil loss modeling in the Lesotho Highlands water project catchment areas. South African Geographical Journal **82**(2):64-69.
89. **Smith S. E., Read D. J. (1997).** Mycorrhizal symbiosis. Academic Press, Cambridge, 605 p.
90. **Subler S. & Kirsh K.S. (1998).** Spring dynamic of soil carbon, nitrogen and microbial activity in earthworm middens in no-till corn field. Bio. Fert. Soils. **26**:243-249.
91. **Theodorakopoulos N. (2013).** Analyse de la biodiversité bactérienne d'un sol contaminé de la zone d'exclusion de Tchernobyl et caractérisation de l'interaction engagée par une souche de *Microbacterium* avec l'uranium. Th doctorat. Microbiologie : université d'Aix-Marseille.
92. **Uchikoba T., Mase T., Arima K., Yonezawa H. et Kaneda M. (2001).** Isolation and characterization of a trypsin-like protease from *Trichoderma viride*. Biol. Chem. **382**, pp: 1509-1513.
93. **Urbanek H. et Yirdaw G. (1984).** Hydrolytic ability of acid protease of *Fusarium culmorum* and its possible role in phytopathogenesis. Acta Microbiol. Pol. **33** (2): 131.

94. **Vandenkoornhuyse P. et Leyval C. (2001).** Bonnin I. High genetic diversity in AM fungi: evidence for recombination events. *Heredity*. 87: 243-253.
95. **Vzaini J.A. (2005).** Screening of antimicrobial activities in *Trichoderma* isolate representing three *Trichoderma* sections. *Mycol. Res.* 109:1397-1406.
96. **Wardle D.A., (1993).** Interspecific competitive interactions between pairs of fungal species in natural substrates. *Oecologia* **94**: 165-172.
97. **Savado P.W., Traosé O., Topan M., Tabsoba K.H., Sdogo P.M., Bouzi-Coulibaly L.Y. (2007).** Variation de la teneur en résidus de pesticides dans les sols de la zone cotonnière du Burkina Faso. *Journal Africain des Sciences de l'environnement*, 1,2007: 29-39.

Sites web :

Site 1 : [www. Forum. Mikroskopique. Com.](http://www.Forum.Mikroskopique.Com)

Site 2 : [www. Agronomie. Info.](http://www.Agronomie.Info)

Site 3 : [www. Aspergillus.man. ac. UK.](http://www.Aspergillus.man.ac.UK)

Site 4 : [www. Supagro. Fr.](http://www.Supagro.Fr)

ANNEXE

1. Matériel utilisé pour l'analyse du sol

Etuve ; Boîtes de Pétri ; Balance électrique ; Agitateur ; pH-mètre ; Becher ; Conductivité électrique ; Pipettes pasteur ; Papier filtre ; Eau distillée ; Chlorure de sodium à 2% ; barreaux magnétiques ; micropipettes 1000 µl.

2. Préparation de milieu de culture utilisé

Les milieux nutritifs qui permettent le développement des champignons sont divers pour obtenir des colonies distinctes les une des autre nous avons utilisé le milieu pomme de terre d'extrorse agar (PDA) chloramphénicol (0,25 g/l) pour inhiber toute prolifération bactérienne (**Botton *et al.*, 1990**).

Composition du PDA :

- Pomme de terre.....200g
- Glucose..... 20g
- Agar.....20g
- L'eau distille.....1l

Résumé

Le présent travail consiste à inventorier les champignons telluriques présents dans les sols agricoles de l'Est algérien. L'échantillonnage est réalisé sur des sols agricoles prélevés de wilaya du Nord Est Algérien (Milla, Oum El Bouaghi).

L'isolement a été réalisé selon la méthode suspension-dilution sur le milieu de culture PDA. Les résultats obtenus après l'étude macroscopique et microscopique révèlent la présence de 8 genres fongiques « *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Verticillium* et *Gliocladium* » dont les genres les plus fréquents sont *Penicillium* 61,77% et *Aspergillus* 20,63% .

Les résultats de la confrontation directe révèle un effet inhibiteur intéressant du *Trichoderma* vis-à-vis du *Fusarium* (68%).

Les mots clés : Sol agricole ; Champignon tellurique ; Biodiversité ; Lutte biologique

يتمثل هذا العمل في اجراء تقييم لفطريات الموجودة في عدة ترب زراعية في شرق الجزائر عينات التربة من ولايات شمال شرق الجزائر (ميلة,) .

تم إجراء العزل بطريقة التعليق-التخفيف في الوسط المغذي حيث كشفت نتائج الدراسة المظهرية و المجهرية عن وجود 8 اجناس فطرية و هي

« *Penicillium* , *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Fusarium*, *verticillium*, *Gliocladium* »

الاجناس الاكثر تواجد هي

Penicillium 61,77% *Aspergillus* 20,63%

أظهر اختبار الـ *Trichoderma* sp. لها تأثير مثبت على الفطريات الممرضة *Fusarium* sp. 68%

الكلمات المفتاحية: فطريات التربة, التنوع البيولوجي, المقاومة البيولوجية, تربة فلاحية.

Abstract

This work consists of an inventory of telluric fungi present in agricultural soils in Eastern Algeria. The sampling is carried out on agricultural soils collected from two wilaya of North East Algeria (Milla, Oum el bouaghi).

Isolation was performed using the suspension-dilution method on the PDA culture medium.

The results from the macroscopic and microscopic study reveal the presence of 8 fungal genera « *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Gliocladium* ». Most common genera are *Penicillium* with 61,77% and *Aspergillus* with 20,63%. The antagonist test showed that the strain *Trichoderma* sp. It has an inhibitory effect on pathogenic fungi *Fusarium* sp.

Key words: Agricultural soil; Biodiversity; soil fungi; Biological control

Contribution à l'étude des champignons telluriques et recherche des genres d'intérêt

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme Master en science biologique

Spécialité : Microbiologie

Option : mycologie et biotechnologie des mycètes.

Résumé :

Le présent travail consiste à inventorier les champignons telluriques présents dans les sols agricoles de l'Est algérien. L'échantillonnage est réalisé sur des sols agricoles prélevés de wilaya du Nord Est Algérien (Milla, Oum ElBouaghi).

L'isolement a été réalisé selon la méthode suspension-dilution sur le milieu de culture PDA. Les résultats obtenus après l'étude macroscopique et microscopique révèlent la présence de 8 genres fongiques « *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Verticillium* et *Gliocladium* » dont les genres les plus fréquents sont *Penicillium* 61,77% et *Aspergillus* 20,63% .

Les résultats de la confrontation directe révèle un effet inhibiteur intéressant du *Trichoderma* vis-à-vis du *Fusarium* (68%).

Les mots clés : Sol agricole ; Champignon tellurique ; Biodiversité ; Lutte biologique

Laboratoire de recherche : Laboratoire microbiologie / INRAA-Constantine

Jury d'évaluation :

Président de jury : Dr. ABDELAZIZ ouided (MCB UFM Constantine)

Rapporteur : Dr. HARRAT Wahiba (MRB - INRAA Constantine)

Examineur : Dr. BAAZIZ Necira (MCB - UFM Constantine)

Co-rapporteur : Dr. Ouffroukh Ammar (MRB - Directeur - INRAA Constantine)