

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



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

N° d'ordre.....

N° de série.....

Mémoire

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

**Isolement et caractérisation morphologique des
champignons du genre *Trichoderma* à partir de
différents écosystèmes algériens**

Présenté par :

- LAIEB Soumia
- HAMMOUDI Nour el houda

Devant le jury :

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

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Remerciements

- ❖ Il est primordial de remercier « ALLAH » le Tout-Puissant de tout ce qu'il nous apporte dans la vie et de nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.
- ❖ Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur, Mme BELLIL Inès, pour son savoir-faire, ses conseils, sa compétence, sa patience, son enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail.
- ❖ Nos respects et notre reconnaissance vont au Monsieur BOUANAKA Hamza pour ses conseils, sa compétence, sa patience et son aide pour réaliser ce travail.
- ❖ Nos respects et notre reconnaissance vont au Monsieur KHELIFI Douadi pour avoir accepté de présider ce jury ainsi que sa disponibilité, qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde considération
- ❖ Nous tenons à remercier BECHKRI Sakina d'avoir accepté d'examiner ce mémoire, mais également pour sa précieuse aide ainsi que sa disponibilité à notre égard.
- ❖ Un grand merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, qu'ils trouvent ici l'expression de toute ma gratitude en particulier.

Dédicaces



Dédicaces

Laieb soumia



Je dédie ce travail à

L'esprit de ma mère qui m'a toujours encouragé, que dieu bénisse ton âme.

A mon père et toute ma famille

A l'esprit de mon petit frère Abd elwadoud

A mes sœurs Amina et Meriem

A mes frères Saber et Abdenour

Merci pour votre amour, votre affection, vos encouragements,

Vos sacrifices... que Dieu vous garde.

A mes Amies

Houda .Sonia. Ikram .Ghada .Djoumana

A mon encadreur Mme Bellil Inès

**À toute personne qui m'aime. À toute personne que j'aime. À tous ceux qui
cherchent le savoir.**





Hammoudi Nour el houda



Je dédie ce travail à

L'esprit de mon père qui m'a toujours encouragé, que dieu bénisse ton âme.

A ma chère mère qui m'a donné toujours l'amour et le soutien.

A mon grand frère Khaled

A ma grande sœur Samia

A mes chères sœurs Chahinez, Riheb Hanan, Nerdjes, Souheila

Merci pour votre amour, votre affection, vos encouragements,

Vos sacrifices... que Dieu vous garde.

A mes chères Amies

Soumia. Sonia. Ikram .Ghada .Djoumana

A mon encadreur Mme Bellil Inès

**À toute personne qui m'aime. À toute personne que j'aime. À tous ceux qui
cherchent le savoir.**



Liste des figures

Figure	Pages
Figure 1. Les 5 sections systématiques de <i>Trichoderma sp.</i>	09
Figure 2. Aspect morphologique d'un conidiospore de <i>Trichoderma</i>	14
Figure 3. Quelques mécanismes impliqués dans le bio-contrôle	15
Figure 4. Localisation géographique des régions de collecte (29 wilaya)	23
Figure 5. Méthode de suspension dilution.....	27
Figure 6. Répartition des isolats du genre <i>Trichoderma</i> en fonction de la wilaya.....	36
Figure 7. Répartition des isolats du genre <i>Trichoderma</i> en fonction du type de sol.....	37
Figure 8. Répartition des isolats du genre <i>Trichoderma</i> en fonction de la croissance du champignon.....	41
Figure 9. Répartition des isolats du genre <i>Trichoderma</i> en fonction de la texture du champignon	42
Figure 10. Répartition des isolats du genre <i>Trichoderma</i> en fonction de la couleur du champignon.....	43

Liste des tableaux

Tableau -----	Pages
Tableau 1. Origine et type de sol des échantillons	24
Tableau 2 : les isolats du <i>Trichoderma</i> obtenus	29
Tableau 3 : Identification macroscopique des isolats du genre <i>Trichoderma</i> obtenus.....	30.
Tableau 4 : Répartition des isolats de <i>Trichoderma sp</i> selon les caractéristiques macroscopiques.....	38

Sommaire

Sommaire

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

Première partie : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre1 : la biodiversité

1. Définition	03
2. Importance de la biodiversité	04
3. Les niveaux de la biodiversité	05

Chapitre 2 : le genre *Trichoderma*

1-Taxonomie	08
1-1 Histoire de genre	08
1-2 Classification	10
2-Ecologie	10
2-1 Présences et distribution	10
2-2 Survie dans le sol	11
3-Morphologie	12
3-1 Sporulation	12
3-2 Germination	13
3-3 Aspect macro et microscopique	13

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

1-Pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i>	15
2-Mécanisme d'action de <i>Trichoderma</i>	17
2-1 Interaction <i>Trichoderma</i> – agent pathogène	17

2-1-1 Antibiose	17
2-1-2 Compétition	17
2-1-3 Mycoparasitisme	18
2-2 Interaction <i>Trichoderma</i> – plante	18
2-2-1 Induction de la résistance chez la plante hôte	18
2-2-2 stimulations de la croissance de la plante	19
2-3 Interaction <i>Trichoderma</i> -plante hôte-agent pathogène	20
3-Production des métabolites intéressent	20
3-1 Production des enzymes	20
3-2 Production des substances bioactives	21
4-biosynthèse des acides aminés	21
5-Utilisation du genre <i>Trichoderma</i> en biotechnologie	22
3-1 Utilisation dans le domaine agroalimentaire	22
3-2 Utilisation dans le domaine de l'industrie de textile et du papier	22
3-3 Utilisation dans le domaine médical	22

Deuxième partie : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 4 : MATERIEL ET METHODES

1-Présentation de la région d'étude	23
2-Les milieux d'isolement	26
3-Echantillonnage du Sol	27
4-Isolement de <i>Trichoderma spp</i>	27
5-Méthode de purification.....	28
6-Méthodes de conservation	28
6-1. Conservation de courte durée	28
6-2. Conservation de longue durée	28
7-Identification macroscopique des isolats	28

Chapitre 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

1. présentation des isolats du genre <i>Trichoderma</i>	29
2. Identification macroscopique des isolats	30
3. Analyse des résultats	36
3.1. Répartition des isolats en fonction de la région	36
3.2. Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> en fonction du type de sol	37
3.3. Répartition des isolats de <i>Trichoderma sp</i> en fonction des caractéristiques macroscopiques (espèces)	38
3.4. Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> en fonction de la croissance du champignon	41
3.5. Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> en fonction de la texture du champignon	42
3.6. Répartition des isolats de <i>Trichoderma</i> en fonction de la couleur du champignon.....	43
Conclusion	44
Références bibliographiques	45

1-Partie théorique

Introduction

Introduction

La biodiversité est une vaste notion qui fait référence à la variété des organismes vivants quelle que soit leur milieu d'origine et prend en compte les diversités intra spécifique, interspécifique et fonctionnelle. Il s'agit d'analyser, à différentes échelles, les relations entre les changements d'origine naturelle ou anthropique de l'environnement et les variations des diversités et d'en comprendre les déterminants écologiques. Il s'agit aussi d'analyser les problèmes de conservation d'espèces rares ou menacées et de proposer des solutions (Wilson et Peter, 1988).

La biodiversité a un rôle essentiel dans la fonction des écosystèmes sur lesquels l'humanité dépend pour des services d'approvisionnement (nourriture, eau, chauffage, fibres), de régulation (production d'oxygène, purification de l'eau et de l'air, régulation du climat, contrôle de l'érosion, pollinisation) et des services socioculturels (bien-être lié à la nature, aux activités récréatives et artistiques, à la spiritualité, etc.).

Les *Trichoderma* spp, sont des champignons cosmopolites, caractérisés par leur croissance rapide, leur capacité d'utiliser divers substrats et leur résistance à des agents chimiques nocifs (Klein et Eveleigh, 1998). Ils présentent une grande aptitude à survivre dans des conditions plus ou moins difficiles grâce à leur abondance dans le sol due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes (Mohamed-Benkada., 2006), leur capacité à dégrader de nombreux métabolites ou substrat organiques et leur résistance aux autres microorganismes.

Trichoderma est considéré comme l'agent antagoniste le plus exploité en agriculture, où plusieurs souches présentent l'aptitude à parasiter une large gamme de champignons phytopathogènes. En effet, l'efficacité écologique de *Trichoderma* est due à la combinaison de ses divers mécanismes d'action à savoir ; l'antibiose, la sécrétion des enzymes hydrolytiques, la compétition pour l'espace et les nutriments, ainsi que leur capacité à stimuler la croissance végétale après une colonisation racinaire rapide (Alabouvette., et al1983).

Dans ce contexte, la présente étude est réalisée dont l'objectif principal est d'isoler et identifier morphologiquement des souches de *Trichoderma* à partir de différents écosystèmes algériens en vue d'apprécier leur diversité.

Le présent travail est structuré en trois parties. Les données bibliographiques sont présentées dans la première partie de ce mémoire, avec une présentation générale de la biodiversité suivie par une présentation du genre *Trichoderma*. La deuxième partie décrit le matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisées dans notre étude. Les étapes suivies dans l'exploitation de nos résultats ainsi que leur discussion sont présentées dans la troisième partie. Une conclusion générale et des perspectives sont enfin données.

Chapitre 1 : la biodiversité

1. Définition et importance de la biodiversité

1.1. Définition

Le terme « biodiversité », contraction de « biology al diversity », est proposé en 1988 par Wilson (Wilson et Peter, 1988). Il fait référence à la variété des organismes vivants quelle que soit leur milieu d'origine et prend en compte les diversités intra spécifique, interspécifique et fonctionnelle. Il s'agit d'analyser, à différentes échelles, les relations entre les changements d'origine naturelle ou anthropique de l'environnement et les variations des diversités et d'en comprendre les déterminants écologiques. Il s'agit aussi d'analyser les problèmes de conservation d'espèces rares ou menacées et de proposer des solutions, autrement dit, la biodiversité désigne la diversité ou la variété du monde vivant, c'est-à-dire la variété des espèces, de leurs caractères génétiques et de leurs milieux de vie, appelés aussi habitats ou écosystèmes.

Le terme « biodiversité » est entré dans le langage courant à l'occasion du Sommet de la Terre, à Rio de Janeiro, en 1992. Il désigne autant la variété au sein de chaque espèce (diversité génétique) que la variabilité en espèces d'une région (diversité spécifique) et la variabilité des écosystèmes (diversité écosystémique).

La biodiversité a un rôle essentiel dans la fonction des écosystèmes sur lesquels l'humanité dépend pour des services d'approvisionnement (nourriture, eau, chauffage, fibres), de régulation (production d'oxygène, purification de l'eau et de l'air, régulation du climat, contrôle de l'érosion, pollinisation) et des services socioculturels (bien-être lié à la nature, aux activités récréatives et artistiques, à la spiritualité, etc.).

Chapitre 1 : la biodiversité

1.2. Importance de la biodiversité

La biodiversité a une importance qui se manifeste tout d'abord dans la conservation et la restauration des milieux pour le maintien et l'utilisation durable, et ceci, doit être essentiellement intégré à tous les niveaux de l'économie.

En effet, une grande variété d'espèces et d'habitats sont nécessaires pour purifier l'air, assurer la décomposition de la matière organique, régulariser l'écoulement des eaux et équilibrer l'ensemble des cycles de la nature.

De plus, la biodiversité permet aux espèces et aux écosystèmes de maintenir leurs fonctions et de survivre lorsque surviennent des changements dans l'environnement. Il peut s'agir de nouveaux prédateurs, de parasites ou de maladies évoluant rapidement, d'espèces envahissantes compétitives, de conditions climatiques extrêmes, de désastres naturels ou de perturbations humaines.

2. Les niveaux de biodiversité

La biodiversité est une vaste notion qui désigne le vivant sous toutes ses formes, mais la biodiversité en trois niveaux différents, mais toujours interdépendants.

2.1. La diversité génétique

La diversité génétique correspond à la variété des gènes, mais aussi à celle des allèles, et même à celle des structures chromosomiques.

L'étude peut ainsi porter sur la diversité des allèles au sein d'une population d'individus (ex. la couleur des yeux) ou bien pour toute l'espèce. Les recherches peuvent aussi se concentrer sur la diversité des gènes au sein d'une communauté écologique par comparaison entre les espèces, ou encore sur une plus grande échelle comme un biome.

Le niveau étudié dépend des objectifs de l'étude. Mais les résultats sont toujours exceptionnellement foisonnants. Par contre cette diversité est difficile à étudier, car elle demande beaucoup de temps et des analyses en laboratoire ayant un coût élevé

Chapitre 1 : la biodiversité

La diversité génétique est la « matière première » qui permet l'évolution des espèces et donc leur adaptation. Plus une population ou une espèce est diversifiée sur le plan des gènes, plus elle a de chance que certains de ses membres arrivent à s'adapter aux modifications survenant dans l'environnement. Au contraire, moins la diversité est grande, plus la population s'uniformise, les individus deviennent de plus en plus semblables les uns aux autres et il devient peu probable que l'un d'entre eux ait les capacités de s'ajuster à des conditions de vie différentes.

La diversité génétique est la diversité des gènes au sein d'une seule et même espèce. Elle est aussi appelée « diversité intra spécifique ».

2.2. La diversité spécifique (la diversité des espèces)

Les espèces sont des unités d'étude clairement définies et bien connues. Il est donc facile de suivre le nombre d'espèces dans un milieu et d'établir une « **richesse** » de ce milieu. La richesse dépendra du nombre d'espèces identifiées et de la surface sur laquelle l'étude se portera. Il est alors possible de faire des comparaisons entre les richesses spécifiques de 2 milieux ou d'un même milieu, mais à deux moments différents. Ces études permettent d'avoir une idée de l'état de santé d'un écosystème. En effet chaque espèce peut être considérée comme jouant un rôle, et l'apparition ou la disparation de l'une d'entre elles a un impact sur le système dans son ensemble.

Ainsi l'étude de la biodiversité peut porter sur :

- Le rythme d'extinction ou d'apparition des espèces.
- L'influence des activités humaines sur la diversité spécifique.
- La distribution des espèces en fonction de leur taxon (importance des insectes dans un milieu par exemple).
- La distribution géographique des espèces.

Chapitre 1 : la biodiversité

2.3 la diversité écosystémique

La biodiversité écosystémique caractérise la diversité globale des biocénoses et des biotopes.

L'étude de cette diversité porte sur la fonction que remplit chaque espèce dans l'écosystème, sur l'importance de son rôle. Elle s'intéresse aussi aux interactions entre les espèces, à leur répartition et donc à la dynamique de la communauté.

Le but est de connaître les impacts que chaque espèce exerce sur les autres et sur son environnement, mais aussi ceux que ces espèces et cet environnement exercent sur elle. On peut ainsi déterminer les paliers du réseau trophique ou les rôles des guildes (espèces qui ont les mêmes fonctions dans une communauté par exemple la photosynthèse). Dans tous les cas, un lien peut être établi avec la diversité spécifique, à savoir son rôle et l'importance de sa richesse pour le fonctionnement et la survie de l'écosystème.

Cependant, l'étude de la diversité écosystémique se heurte à deux grandes difficultés :

- le terme "d'écosystème" lui-même qui désigne tous les niveaux supérieurs à l'espèce, de la plus petite communauté à la plus grande des associations ;
- la délimitation des frontières de l'écosystème (facile pour une mare, beaucoup plus complexe pour une forêt ouverte).

Enfin, elle demande des mesures nombreuses sur une période assez longue. Elle est donc, par rapport à la diversité spécifique et génétique, la plus complexe et la moins bien connue.

Les trois niveaux d'étude de la biodiversité sont largement interdépendants. Il n'existe pas de frontière nette entre, par exemple, la richesse de la diversité spécifique et la diversité écosystémique.

Chapitre 2 : le genre trichoderma

Chapitre 2 : le genre *Trichoderma*

1. Taxonomie

Les *Trichoderma* spp, sont des champignons cosmopolites, caractérisés par leur croissance rapide, leur capacité d'utiliser divers substrats et leur résistance à des agents chimiques nocifs (Klein et Eveleigh, 1998).

1.1. Historique du genre

-En 1794, le genre *Trichoderma* a été pour la première fois décrit par personne comme étant «une poudre farineuse enfermée dans une couverture chevelue ». De cette observation a certainement découlé le genre : trikos, en grec, signifiant cheveu.

-En 1939, Bisby a démontré que ce fût un genre monotypique et que la seule espèce le constituant fût *T.viride*.

-En 1963, Gutter et Monbasher ont montré la variabilité du genre *Trichoderma* en fonction des conditions environnementales.

-En 1969, Rifai a opté pour une classification basée sur le concept d'espèce agrégé : "une entité qui peut être définie comme des agrégations d'espèce morphologiquement très similaires et très difficilement séparables". (Rifai., 1969).

-Bisset a effectué des réarrangements et ont abouti au regroupement des espèces dans cinq sections : *Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypoceanum*, *longibrachiatum* et *Saturnisporum* (Leuchtmann., 1996) (figure 1).

Les champignons du genre *Trichoderma* appartiennent à la classe des hyphomycetes et sont souvent classés comme anamorphes de la famille des hypocreaceae de la division des ascomycetes d'après une classification donnée dans de nombreux ouvrages (Esposito et al. ,1998).

Les hyphomycetes sont des champignons à filaments mycéliens stériles (agonomycétales) ou produisant leurs spores directement sur des hyphes ou sur des conidiophores simples ou agrégées. Les conodiophores sont des filaments différenciés portant les spores ou ici les conidies permettant la multiplication asexuée du champignon.

Chapitre 2 : le genre *Trichoderma*

Dans la sous-famille des Hyalosporoideae, à laquelle appartient le genre *Trichoderma*, les spores sont globuleuses, unicellulaires et non différenciées. Le genre *Trichoderma* est caractérisé par ses conidiophores très ramifiés, ses phialides courtes, en forme de quille, droite ou incurvée, souvent très groupées.

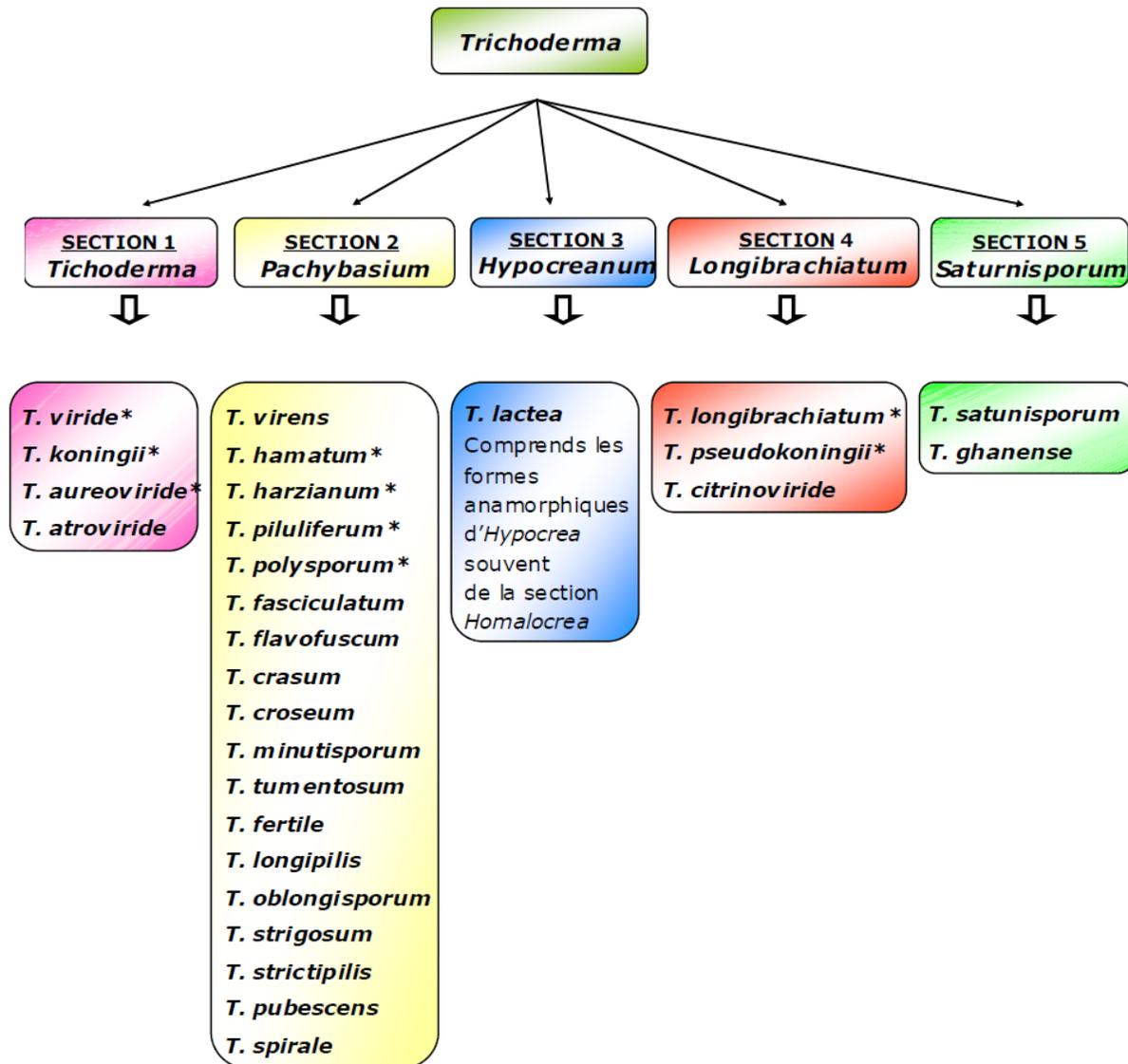


Figure 1 : Les 5 sections systématiques de *Trichoderma* sp. et quelques-unes des espèces y appartenant, selon Bisset (1991 a et b).

* Les espèces agrégées de Rifai (1969)

Chapitre 2 : le genre *Trichoderma*

1.2. Classification

La taxonomie moderne de champignons a aboli l'embranchement des Deuteromycotina, auquel appartenait le genre *Trichoderma*. La position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp.* se présente comme suit (Bisset., 2004) :

- Embranchement	<i>Amastigomycota et /ou Emycètes</i>
- Sous embranchement	<i>Ascomycotina</i>
- Classe	<i>Sordariomycètes</i>
- Ordre	<i>Hypocréales</i>
- Famille	<i>Hypocraceae</i>
-Genre	<i>Trichoderma</i>

2. Ecologie des champignons du genre *Trichoderma*

Les *Trichoderma sp* constituent les éléments prédominants de la microflore des sols de divers écosystèmes (forêts, champs agricoles, prairies, marécages, déserts, lacs salés...) (Danielson et Davey, 1973 ; Roiger et al. 1991 ; Smith, 1995 ; cellulose des végétaux (Klein et Eveleigh, 1998).

2.1. Présence et distribution

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est un champignon ubiquitaire dans l'environnement (Samuels ,1996) il est surtout retrouvé dans les sols forestiers. C'est un contaminant fréquent dans les cultures industrielles de champignons. Il est rarement isolé de végétaux ou peu décrit comme

Chapitre 2 : le genre *Trichoderma*

endophyte bien qu'il soit retrouvé à la surface des racines de certaines plantes (papavizas,1985).

Le genre *Trichoderma* est remarquable pour sa croissance rapide et sa capacité à utiliser différents substrats. Un des substrats de choix du ce genre est le bois, ce qui pose notamment des problèmes de détérioration de constructions et donc entraîne des désagréments et des pertes économiques importantes.

Il est cependant possible de le retrouver chez l'homme et surtout chez les immunodéprimés ainsi que dans les zones de stockage de papiers, ce qu'il pose le problème de la conservation des manuscrits (Roquebert, 1996).

Dans la mer, le *Trichoderma* est un marin facultatif, car des études de la microfonge des côtes de brésil en 1996 ont montré que parmi les souches isolées, 6,4% appartenaient au genre *Trichoderma* et ce genre arrivait en 4^{ème} position par ordre d'importance (de Moura Sarquis et Cunha de Oliveira, 1996).

Les conditions de températures et de sols sont à l'origine de la prédominance de telle ou telle espèce dans un milieu donné (papavizas, 1985).

Le développement de certaines espèces de *Trichoderma* dépend également du pH de sol, mais aussi de sa composition en sels, de la présence ou non de dioxyde de carbone ou de bicarbonates ainsi que la nature et la proportion des microorganismes présents.

2.2. Survie dans le sol

Le genre *Trichoderma* présente une grande aptitude à survivre dans des conditions plus ou moins difficiles grâce à :

- ❖ L'abondance dans le sol due à sa capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes (Mohamed-Benkada., 2006).
- ❖ La capacité à dégrader de nombreux métabolites ou substrat organiques.
- ❖ La résistance aux autres microorganismes.

Chapitre 2 : le genre Trichoderma

2.3. Croissances *in vitro* du genre *Trichoderma*

Le développement du genre *Trichoderma* nécessite l'utilisation de deux sources : une source de carbone qui peut avoir différentes origines : les monosaccharides, polysaccharides, les complexes polysaccharides, les bases puriques et pyrimidiques, les acides aminés ainsi que les acides gras à longues chaînes. Une source d'azote qui peut être amenée dans le milieu par des acides aminés, de l'urée, des nitrates et éventuellement de nitrite.

Il est aussi nécessaire de ne pas négliger l'impact que peut avoir le dioxyde de carbone et le pH du milieu. En effet, la croissance des champignons du genre *Trichoderma* devient très rapide lorsque l'on atteint un taux de CO₂ supérieur à 10 % et un milieu alcalin, ce qui explique la relative abondance de ce genre dans des habitats humides et légèrement alcalins.

D'après certaines études, l'effet de CO₂ est plus prononcé à des valeurs de pH élevés, ce phénomène serait dû aux bicarbonates (plutôt qu'au CO₂ lui-même). De ce fait certains chercheurs émettent que les bicarbonates auraient un effet plus important sur la croissance que le dioxyde de carbone (Papavizas, 1985).

3. Morphologie du genre *Trichoderma*

La majorité des espèces de *Trichoderma* sont morphologiquement très semblables et difficiles à distinguer et elles ont été confondues pendant de nombreuses années à l'espèce *T. viride*. Les méthodes moléculaires, basées sur les polymorphismes des séquences de l'ADN et les amplifications par PCR, se sont montrées très utiles dans la caractérisation des isolats de ce genre, tant dans des études d'identification (Hjeljord et Tronsmo, 1998) que dans l'élaboration de classifications phylogénétiques (Kullnig-Gradinger et al. 2002).

3.1. Sporulation

Les champignons *Trichoderma* sont sensibles à la lumière et sporulent sur différents types de substrats. Ce développement s'effectue en cercles concentriques avec une alternance d'anneaux qui correspondent aux phases diurnes et nocturnes. Des recherches ont montré

Chapitre 2 : le genre Trichoderma

que l'exposition pendant 20 à 30 secondes à une lumière d'intensité 85 à 90 lux était suffisante pour induire une sporulation.

Dans le phénomène de sporulation du genre *Trichoderma*, un point souvent oublié, c'est la production de clamydospores qui sont des spores de résistance, durables, le plus souvent à paroi épaisse, terminale (rare) ou intercalaire, différenciée par transformation de

Cellules ou d'articles de mycélium. Cette formation de clamydospore peut être faite sur différents types de milieux : liquide ou solide, sur des extraits de sol stérile ou non et sur des débris de plantes.

3.2. Germination

De nombreuses recherches ont montré que la germination des conidies était dépendante d'une source externe de nutriment. La réponse des conidies aux nutriments dépend de la concentration en protons et ainsi germent mieux dans des milieux acides que neutres (Papavizas, 1985).

3.3. Aspect macroscopique et microscopique

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* sp est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides.

Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16e et le 20e jour un feutrage épais se superpose à la culture.

Chapitre 2 : le genre *Trichoderma*

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septées, ramifié à parois lisses. Les conidiosporés (Figure 2) ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001, Kubicek et al. 2003).

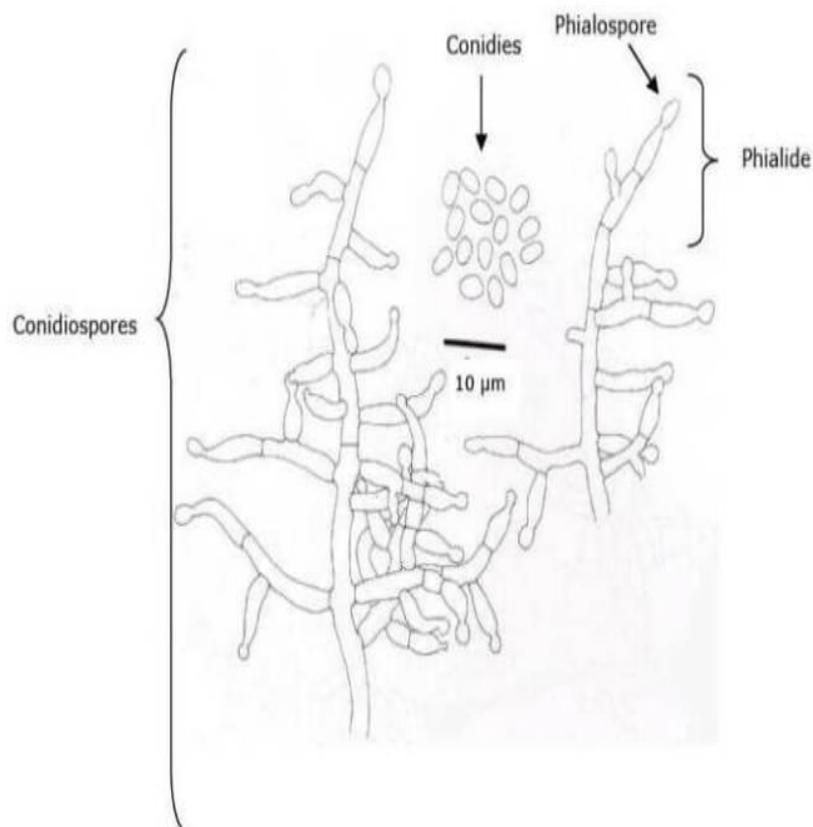


Figure 2 : Aspect morphologique d'un conidiospore de *Trichoderma longibrachiatum* (Samuels et al. 1994).

Chapitre 2 : le genre Trichoderma

Le genre *Trichoderma* renferme des espèces les plus utilisées en tant qu'agents de lutte biologique contre les phytopathogènes et comme source d'enzymes et de métabolites secondaires d'intérêts biotechnologiques (Kubicek et Penttilä, 1998 ; Sivasithamparam et Ghisalberti, 1998).

Chapitre 3 : Trichoderma en biotechnologie

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

1. Pouvoir d'antagonisme du genre *Trichoderma*

La lutte biologique exploite les mécanismes de régulation naturelle des populations. Cette régulation est le résultat d'une balance entre potentiels biotiques des organismes vivants et la résistance opposée à leur développement par leur environnement (Lepoivre et Semal, 1988 ; Corbaz, 1990). La National Academy of Science des États-Unis d'Amérique donne une définition plus large : « toute action mettant en jeu des organismes en modifiant l'hôte y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer, par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite » (Corbaz, 1990).

La lutte biologique contre les maladies des plantes est la conséquence des interactions entre la plante, les agents pathogènes et les agents de lutte biologique (Vinale et *al.*, 2008) (figure 3).

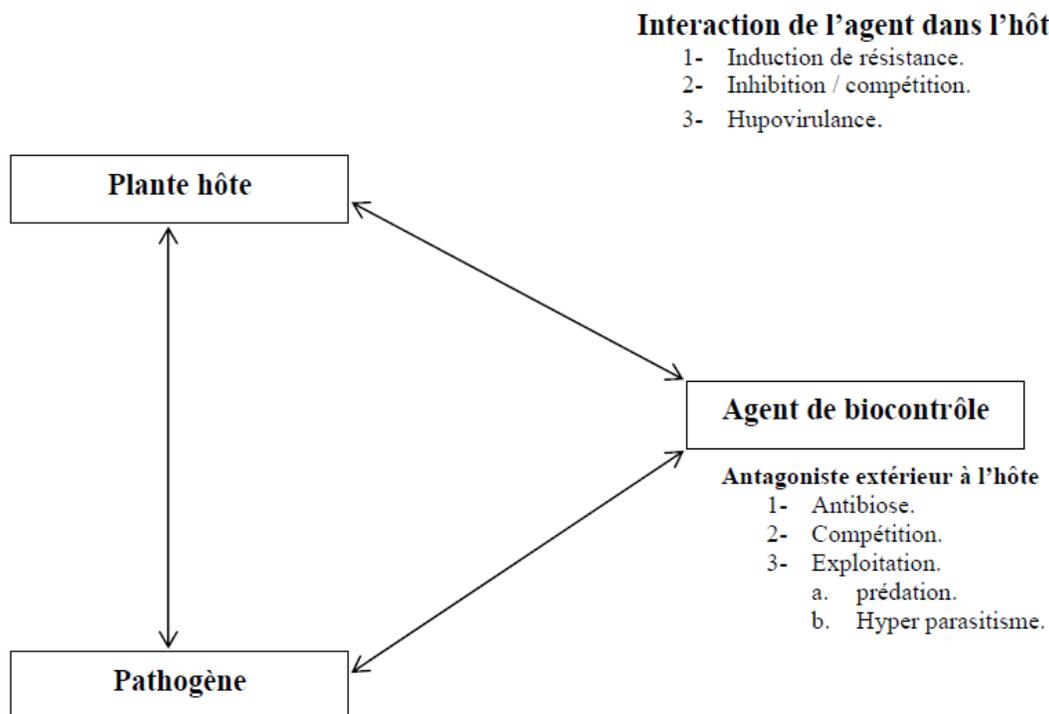


Figure 3 : Quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle. Comment les agents de biocontrôle opèrent ils ? (Toua, 1996).

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

Les *Trichoderma* sont sans conteste l'agent de lutte biologique fongique le plus étudié au niveau des mécanismes d'action (Jijakli, 2003).

Des recherches récentes ont prouvé que les *Trichoderma* sont des opportunistes qui vivent en association bénéfique avec des plantes autant qu'ils sont des parasites pour quelques champignons.

En résulte que, les *trichoderma* sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, ils peuvent établir une colonisation robuste et durable au niveau des surfaces racinaires et pénètrent jusqu'à l'épiderme ce qui :

- ✓ Influence la croissance racinaire (Harman *et al.* 2004).
- ✓ Augmente la productivité, l'assimilation et l'utilisation des nutriments.
- ✓ Améliore la production au champ et augmenter la résistance au stress abiotique vis-à-vis de la maladie (Culter *et al.* 1986), aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols.

Les sols inoculés protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Harman, 2000). En effet, ce champignon secret de multiples enzymes, antibiotiques, hormones qui sont utiles pour la croissance des plantes et leur confèrent une protection contre les pathogènes.

Les enzymes qui dégradent les parois cellulaires fongiques sécrétées par *Trichoderma* spp telles que les chitinases et les β glucanases sont considérées comme étant les déterminants majeurs de l'activité antagoniste (Elad *et al.* 1982 ; Lorito, 1998).

Selon ces données, l'efficacité de la lutte biologique des souches de *Trichoderma* spp. serait associée à la production des antibiotiques non volatiles ou avec d'autres mécanismes autre que le mycoparasitisme (Lorito, 1998). Weindling et Emerson (1936) ont démontré que *Trichoderma* est capable de sécréter une substance extracellulaire, appelée « Gliotoxine », capable de dégrader les pathogènes. Par contre, beaucoup de travaux ont

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

montré l'implication importante des enzymes chitinolytiques dans le mycoparasitisme, l'antagonisme et la lutte biologique.

La présence de *Trichoderma* dans le sol joue à la fois un rôle préventif et curatif (Harman *et al.* 2004)

2. Mode d'action de *Trichoderma*

Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade la pectinase et d'autres enzymes qui sont essentiels pour les phytopathogènes (Lindsey *et al.* 1967 ; Yedida *et al.* 2001). Plusieurs mécanismes ont été mis en évidence : la compétition, le mycoparasitisme, l'antibiose, l'induction de la résistance chez la plante et la stimulation de sa croissance. Ces mécanismes peuvent intervenir seuls, en association ou séquentiellement (Jijakli, 2003).

La lutte biologique contre les maladies des plantes est la conséquence des interactions entre la plante, les agents pathogènes et les agents de lutte biologique (Vinale *et al.*, 2008).

2.1. Interaction *Trichoderma*- agent pathogène

2.1.1. Antibiose

L'antibiose repose sur la production par un antagoniste, de substances métaboliques ayant un effet toxique sur un agent pathogène (antibiotique). C'est un mode d'action utilisé par les souches de *Trichoderma* qui sont capables de produire un très grand nombre de métabolites secondaires, dont certains jouent un rôle dans l'antagonisme (Jijakli, 2003) pour inhiber la croissance des champignons phytopathogènes. Le champignon *Trichoderma* exerce une action fongistatique à distance (antibiotiques volatils) atteignant surtout les jeunes hyphes (Corbaz, 1990).

2.1.2. Compétition

La compétition se manifeste par l'aptitude des souches de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu que les agents phytopathogènes. Une compétition est pour le carbone, l'azote et autres facteur de croissance en même temps que la compétition pour l'espace et les sites spécifiques d'infection. (Vinale, *et al.*, 2008). Elles utilisent ce mode d'action.

Chapitre 3 : Trichoderma en biotechnologie

Avant l'apparition des agents pathogènes ce qui permet de limiter leurs apparitions grâce à la colonisation de la surface racinaire et à la compétition trophique. Lorsque *Trichoderma* colonise le milieu, il établit une zone d'interaction dans la rhizosphère des plantes et sécrète des molécules telles que les sidérophores qui absorbent le fer et inhibent la croissance du champignon phytopathogène (Leghlimi, 2013).

2.1.3. Mycoparasitisme

Le processus de mycoparasitisme est complexe, il se compose de plusieurs étapes notamment la reconnaissance de l'hôte par l'agent antagoniste grâce à des molécules peptidiques, la pénétration, l'attaque et la mort de l'hôte (Vinale et al. 2008).

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

2.2. Interaction *Trichoderma*-plante

En plus de l'effet sur les agents pathogènes, certaines espèces de *Trichoderma* peuvent coloniser la surface des racines et causer des changements considérables dans le métabolisme de la plante (Harman et al. 2004). Plusieurs études ont montré que certaines souches de *Trichoderma* induisent la résistance chez la plante et stimulent sa croissance.

2.2.1. Induction de la résistance chez la plante hôte

Certaines espèces de *Trichoderma* peuvent induire la résistance de la plante contre les agents pathogènes. *T. harzianum* induit la résistance systémique contre l'oïdium (Elad et al, 1999), les infections par *B. cinerea* (De Meyer et al. 1998), et la pourriture racinaire du coton (Howell et al. 1999).

Le travail de Bigirimana et al. (1997) est probablement le premier à avoir démontré ce concept, ils ont démontré que le traitement du sol par *T. harzianum*T-39 rend les feuilles

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

du haricot résistantes à *B. cinerea* et *Colletotrichum lindemuthianum*(Sacc. & magnus) Briosi et Cavara (Harman et al., 2004).

De Mayer et al. (1998) ont montré aussi que le traitement du sol par *T. harzianum*T-39 a conduit à la réduction des symptômes de la pourriture causée par *B. cinerea* sur tomate, laitue, poivron, haricot et tabac. Ceci est dû à l'induction d'une résistance systémique par *T. harzianum*T-39.

Durant l'interaction de *Trichoderma* avec la plante, différentes classes de métabolites peuvent agir comme des éliciteurs, ou des inducteurs de la résistance. Ces molécules comprennent : des protéines à activité enzymatique comme le xylanase, des produits qui induisent la réaction de défense dans la plante et des composés à faible poids moléculaire libérés par les parois cellulaires du champignon ou de la plante par l'activité enzymatique de *Trichoderma* (Harman et al., 2004 ; Woo et al., 2006).

Djonović et al. (2006) ont identifié une petite protéine élicitrice sécrétée par *T. virens*, et ils ont démontré son implication dans l'activation des mécanismes de la défense, et l'induction de la résistance systémique chez la plante.

2.2.2. Stimulation de la croissance de la plante

Parmi les champignons qui stimulent la croissance des plantes, *Trichoderma* est probablement le plus connu (Harman et al. 2004 ; Harman, 2006). *Trichoderma* peut solubiliser le phosphore et plusieurs micronutriments, améliorer l'assimilation de l'azote par la plante, et favoriser le développement et la formation du chevelu racinaire (Altomare et al., 1999 ; Harman, 2006).

Cutler et al. (1986) et (1989) ont rapporté l'isolement, l'identification et l'activité biologique des métabolites secondaires produits par *T. koningii* (koninginin A) et *T. harzianum* (6-pentyl- α -pyrone) qui agissent comme des régulateurs de croissance de la plante.

Trichoderma spp. aussi produisent des acides organiques notamment les acides gluconiques, citriques ou fumariques, réduisent le pH du sol, et permettent la solubilisation des phosphates, des micronutriments et les cations minéraux comme le fer, le manganèse

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

et le magnésium, nécessaires pour le métabolisme de la plante (Benitez et al, 2004 ; Harman et al, 2004).

2.3. Interaction *Trichoderma*-plante hôte-agent pathogène

L'étude de l'interaction *Trichoderma*-plante hôte pathogène a reçu moins d'attention, vu sa complexité et la difficulté de la reproduire *in vitro*. Des travaux récents ont étudié les aspects morphologiques et moléculaires impliqués dans cette interaction en utilisant de nouvelles méthodes (Vinale et al, 2008).

Marra et al. (2006) ont étudié les interactions de *Trichoderma* avec la plante et différents agents pathogènes fongiques, ils ont utilisé une approche protéomique pour analyser les différentes protéines produites. Les résultats indiquent que la présence de l'antagoniste modifie quantitativement et qualitativement la réponse de la plante à l'attaque du pathogène. Dans certains cas, le champignon antagoniste réduit la production de certaines protéines de défense, mais provoque l'accumulation d'autres. Ces observations suggèrent que la réponse de la plante à un agent de lutte biologique spécifique dépend des trois facteurs combinés.

3. Production des métabolites intéressants

La mise en évidence de la production de métabolites secondaires par les *Trichoderma sp.* a été rapportée pour la première fois par Weidling (1934), concernant un antifongique (Papavizas, 1985). Depuis, les études successives ont démontré que ces micromycètes étaient virtuoses dans la biosynthèse de métabolites secondaires (Vizscaino et al. 2005), processus régi par des interactions biochimiques extrêmement complexes et parfaitement coordonnées (Vining, 1990).

La littérature ne cite que les métabolites importants de *Trichoderma sp.* sont principalement des enzymes et des molécules bioactives.

3.1. Production des enzymes

La production des enzymes est variable d'une souche à l'autre principalement les xylanases ou les cellulases (Sandgren et al, 2005), exploités dans divers domaines biotechnologiques (Kubicek et al, 2003).

Chapitre 3 : *Trichoderma* en biotechnologie

Les enzymes chitinolytiques de *Trichoderma* spp. sont sécrétées de manière extracellulaire pour dégrader les substrats à base de chitine (exemple : le mycélium des champignons). Certaines de ces enzymes ont un rôle nutritionnel et peuvent être impliquées dans la lutte biologique (Muthumeenakshi et al., 1994 ; Speranzini et al., 1995 in Lorito, 1998).

3.2. Productions des substances bioactives

- ❖ Métabolites volatils : 6-pentylapyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes (Vizcaino et al, 2005).
- ❖ Métabolites non volatils diffusibles : polyacétates (antifongiques, antibiotiques), trichotécènes (variété de toxines actives sur microorganismes et mammifères) notamment les trichodermines.
- ❖ Métabolites polypeptidiques ciclosporines immunosuppresseurs anti-inflammatoires; et les peptaïbols, qui sont généralement assimilés à des mycotoxines peptidiques (Landreau., 2001).

4. Biosynthèse des acides aminés

Les champignons sont capables de synthétiser les 20 AA usuels des deux séries L et D, en plus d'autres particuliers, en partant de l'ammoniaque environnante provenant soit de la dégradation enzymatique de composés azotés organiques ou inorganiques ou bien suite à la fixation bactérienne de l'azote atmosphérique. Le rythme de croissance élevé des *Trichoderma* sp. leur permet d'assimiler rapidement l'ammoniaque. La biosynthèse des AA est initiée par la production de glutamate (E), rare et précieuse dans la nature, car il est la trame de synthèse du reste des AA et se trouve de ce fait à des concentrations élevées dans les cellules vivantes (Ahmed et al., 1995 ; Voet ., 1998).

Chapitre 3 : Trichoderma en biotechnologie

5. Utilisation du genre *Trichoderma* en biotechnologie

5.1. Utilisation dans le domaine agroalimentaire

L'utilisation du genre *Trichoderma* dans ce domaine est basée sur la production de beaucoup d'enzymes extracellulaires utilisés dans le commerce tels que la cellulase et d'autres enzymes de dégradation des complexes polysaccharidiques. Par exemple l'espèce *Trichoderma reesei* est l'organisme le plus performant dans la production de cellulases (Roquebert, 1996). Les cellulases sont utilisées, par exemple, dans l'alimentation pour les oiseaux, permettant ainsi d'accroître la digestion des hémicelluloses de l'orge et d'autres céréales (Botton B. et al, 1990).

5.2. Utilisation dans le domaine de l'industrie de textile et du papier

Selon le même principe, les cellulases sont utilisées lors du processus de prélavage des tissus pour leur donner plus facilement la couleur blanche (Botton B. et al, 1990). L'espèce *Trichoderma reesei* a aussi la capacité de blanchir le papier, ce qui pourrait être une alternative aux méthodes traditionnelles utilisant le chlore (Samuels G.J.,1996).

5.3. Utilisation dans le domaine médical

Des métabolites polypeptidiques ont été extraits de l'espèce *Trichoderma polysporum*, c'est le cas des cyclosporines utilisées pour leur potentiel immunosuppresseur et anti-inflammatoire, mais aussi des peptaïbols ayant une activité antibiotique principalement (Botton B. et al, 1990).

2-Partie expérimentale

Chapitre 4 : matériel et méthodes

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

1. Présentation de la région d'étude

Les échantillons sont prélevés à partir des sols non cultivés des différents écosystèmes algériens (Foret, montagne, oued, sebkha, sable saharien, sable de plage, sol aride...) dans presque toutes les régions d'Algérie. (Figure 4, Tableau 1).

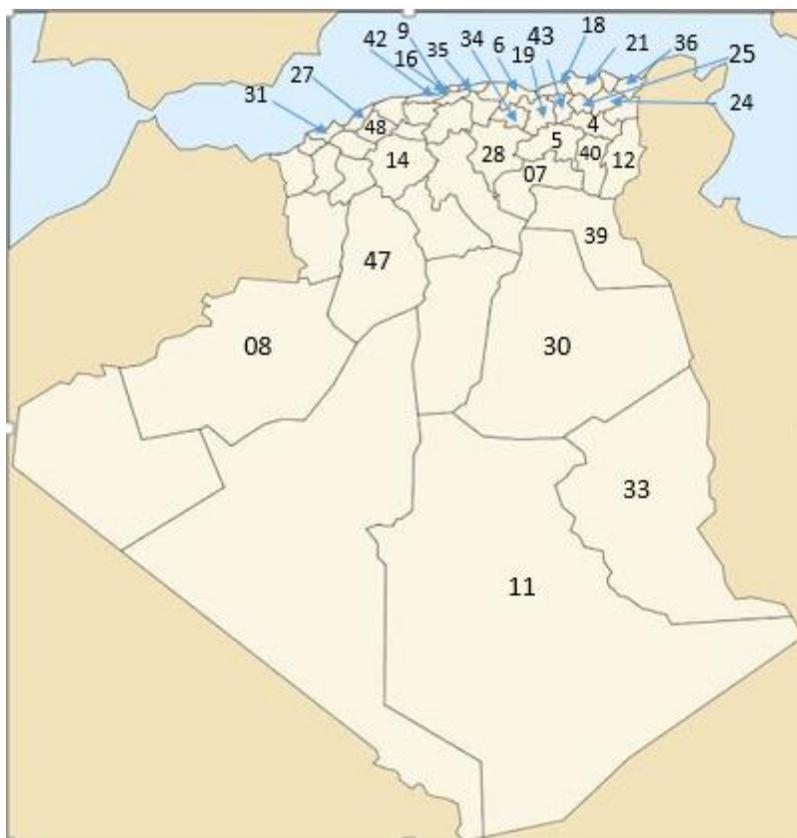


Figure 4 : localisation géographique des régions de collecte (29 wilaya)

2. Échantillonnage du Sol

Les prélèvements de sol sont réalisés à l'aide d'une tarière tout en écartant la couche supérieure (Buhot, 1973 ; Mihail et Alcoren, 1987 ; Saadoune et Momani, 1997). Les sols prélevés (Tableau 1) sont ensuite recueillis dans des sacs en plastique stériles soigneusement fermés puis ramenés au laboratoire où ils subiront différents traitements :

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

séchage à l'air ambiant ou à l'étuve à la température de 37°C, élimination des gros débris et cailloux, tamisage et homogénéisation. Les analyses mycologiques sont effectuées dans les 24h qui suivent l'échantillonnage (Mathieu et Pieltain, 2003 ; Rodriguez-Zarazoga et al. 2005).

Tableau 1 : origine et type de sol des échantillons

N°	Commune et région	Wilaya	Type de sol
01	Chelghoum	Mila	Forestier
02	Belasel	Mostaganem	Aride
03	Serf bnisaleh	Guelma	Montagneux
04	El hadjira	Ouargla	Oued
05	Arbi ben mhidi	Om bouaghi	Montagneux
06	Oued souf	Oued souf	Aride
07	Rouiba	Alger	Montagneux
08	Elharouch –bouhadja	Skikda	Oued
09	Elkala	Taref	Ordinaire
10	Boukadir	Chlef	Aride
11	Tleghma	Mila	Forestier
12	Etaya	Sétif	Forestier
13	bouarfa	Blida	Aride
14	Mansora	Bordj bouariridj	Aride
15	Tiaret	Tiaret	Montagneux
16	Collo	Skikda	Montagneux
17	Boumerdesse	Boumerdès	Montagneux
18	Bir el arch	Mila	Aride
19	Djebasdjmila	Sétif	Montagneux
20	Bouchloul	Bouira	Aride
21	Elksar	Bedjaïa	Montagneux
22	Elmansoura	Bordj bouariridj	Aride
23	Elkhefdji	Ouargla	Sable saharien
24	Acheacha	Mostaganem	

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

25	Elkhroube	Constantine	Montagneux
26	Mersset	Tebessa	Aride
27	Bouira	Bouira	Montagneux
28	El marssa	Oran	Aride
29	cheria	Tbessa	Aride
30	Ain tin	Mila	Forestier
31	Tedjna	Chlef	Aride
32	Still	Oued souf	Aride
33	El harrouch	Skikda	Montagneux
34	Ain zada	Bordj bouaririj	Aride
35	Bouchlouf	Guelma	Montagneux
36	Chelghoum	Mila	Aride
37	Sidi Abdelaziz	Jijel	Sable de plage
38	Hamma	Sétif	Montagneux
39	Ain Arnet	Sétif	Aride
40	Ouled Rahmoun	Constantine	Forestier
41	Sétif	Sétif	Aride
42	Colo tamalous	Skikda	aride
43	Mziraa	Biskra	Sable
44	Omridris	Illizi	Aride
45	Ourgla	Ouargla	Aride
46	Bekaria	Tbessa	Aride
47	Touggourt	Ouagla	Sable
48	Hassibenabdallah	Ouargla	Aride
49	Jamaa	Oued souf	Sable
50	Ain saleh	Tamanrasset	Sable
51	Ain guezzam	Tamanrasset	Sable
52	Tamanrasset	Tamanrasset	Sable
53	El hammamet	Tébessa	Bord d'un ravin sec

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

54	Lemniaa	Ghardaïa	Aride
55	/	Jijel	Aride
56	El ramka ami moussa	Ghilizane	Forestier
57	/	Bachar	Sable
58	Bir el ater	Tbessa	Aride
59	El ghar	Illizi	Sable
60	Msila	Msila	/
61	Setif	Sétif	Aride
62	/	Bachar	Sable
63	Ain aminas	Ilizi	/
64	Bir el ater	Tébessa	Aride
65	El kantra	biskra	Aride
66	Ain yagout	Batna	Aride
67	Sidi khouiled	Ouargla	Sable
68	Al heria	Constantine	Aride
69	Biskra	Biskra	Sable
70	Batna	Batna	Sabkha
71	Erouisset	Ouargla	Sable
72	Ezrek	Om bouaghi	Montagneux
73	Ain baida	Ouargla	Sable

3. Les milieux d'isolement

Pour l'isolement des mycètes du sol, le milieu Potato Dextrose Agar (PDA), a été choisi. Ce milieu est connu comme étant un milieu standard pour le développement des champignons. Milieu PDA (Ronald et Atlas, 1997) : pH 5.6 ± 0.2 . Les quantités des composants (g/L) : Pomme de terre 200, D-Glucose 20, Agar 20.

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

4. Isolement de *Trichoderma spp*

L'isolement des mycètes à partir du sol, est réalisé selon la méthode de suspension dilution « Dilution plates » (Davet, 1996 ; Davet and Rouxel, 1997) sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA).

1 g d'échantillon de sol sont mis en suspension dans 9 mL d'eau distillée stérile. Le mélange est agité pendant 3 minutes afin d'homogénéiser la solution qui sert à préparer des dilutions décimales par l'ajout successif de 1 mL de la solution à 9 mL d'eau distillée stérile jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-6} (Figure 5), ensuite, un volume de 0.1 mL de chaque dilution est déposé dans une boîte de pétrie contenant le milieu de culture PDA.

Les boîtes sont homogénéisées, par agitation manuelle de manière circulaire, sur un plan horizontal. Elles sont par la suite incubées à 25-30°C pendant sept jours (Botton et al. 1990).

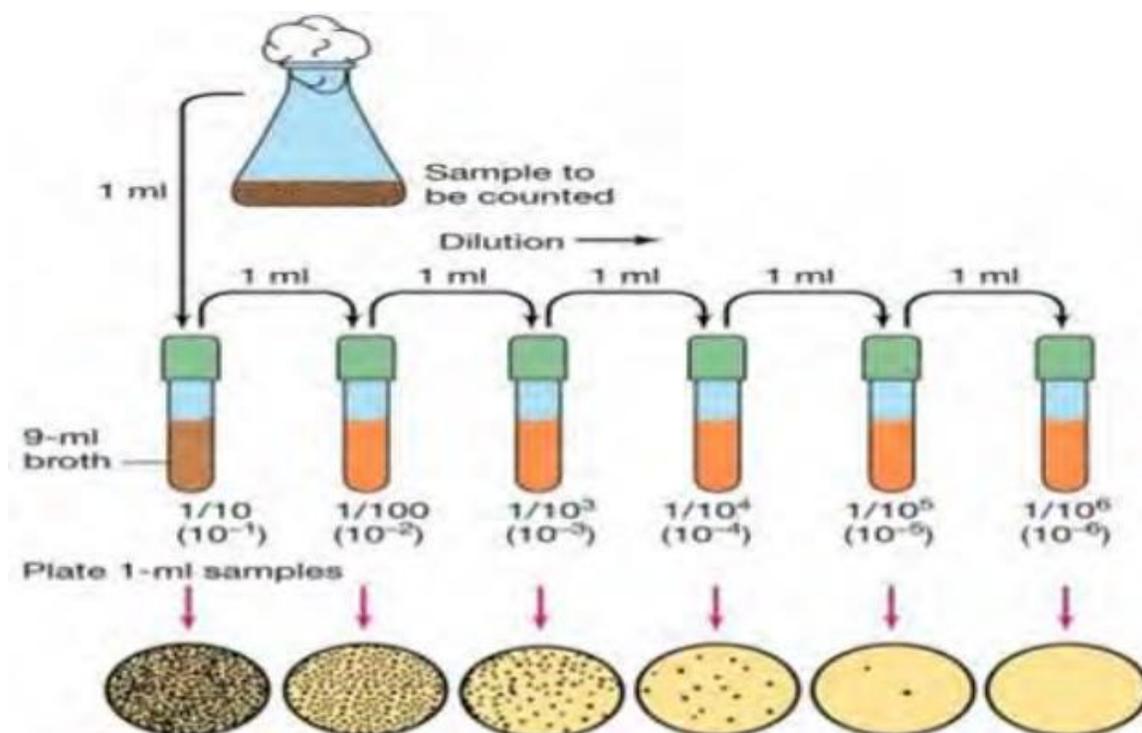


Figure 5 : Méthode de suspension dilution.

Chapitre 4 : Matériel et méthodes

5. Méthode de purification

La purification a concerné principalement les colonies dont les caractères cultureux sont différents. Il s'agit donc de prélever quelques spores ou une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et de l'ensemencer de manière aseptique dans des boîtes de Petri contenant le milieu PDA. Un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en un seul point au centre de la boîte (Botton et *al.*, 1990).

6. Méthodes de conservation

Plusieurs méthodes de conservation des isolats ont été employées, elles sont regroupées en deux types :

6.1. Conservation de courte durée

- Les souches issues de purification sur boîtes de Petri sont conservées à une température ambiante du laboratoire pendant une période allant de deux à quatre semaines.
- Les souches purifiées ont été cultivées pendant une semaine sur gélose inclinée (PDA) et conservées à - 4°C pendant une période allant jusqu'à six mois.

6.2. Conservation de longue durée

- Les souches obtenues d'isolements ont été mises dans des tubes eppendorf contenant de l'eau glycérolée à 20% à -80°C pour une conservation de plusieurs années.

7. Identification macroscopique des isolats

L'identification des isolats est réalisée en tenant compte de leurs caractères macroscopiques sur le milieu PDA. L'examen macroscopique des souches isolées permet de déterminer les caractères cultureux suivants : croissance du champignon, développement du champignon, diamètre de la colonie, texture, couleur du thalle, couleur du revers et l'odeur (Lecellier, 2013).

Chapitre 5 : résultats et discussion

Chapitre 5 : Résultats et discussion

1. Présentation des isolats du genre *Trichoderma*

Les résultats des isolats des différents échantillons du sol analysés sont représentés dans le tableau suivant :

Parmi les 73 échantillons du sol analysés, nous avons obtenu 21 isolats appartenant au genre *Trichoderma*.

Tableau 2 : les isolats du *Trichoderma* obtenus

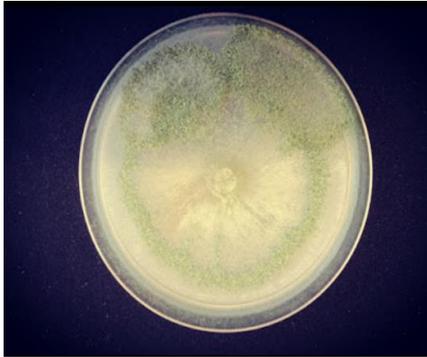
T	N°	Commune	Wilaya	Type de sol
T33	13	Bouarfa	Blida	Aride
T34	16	Collo	Skikda	Région montagneuse
T54	20	Bouchloul	Bouira	Aride
T36	22	Elmansoura	Bordj bouariridj	Aride
T37	23	Elkhefdji	Ouargla	Sable saharien
T38	31	Tedjna	Chlef	Aride
T39	38	Hamma	Sétif	Région montagneuse
T40	42	Collo tamalous	Skikda	Aride
T41	53	El hammamet	Tébessa	Bord d'un ravin sec
T42	55	Jijel	Jijel	Aride
T43	58	Bir el ater	Tébessa	Aride
T44	61	Sétif	Sétif	Aride
T45	65	El kantra	Biskra	Aride
T46	66	Ain yagout	Batna	Aride
T47	67	Sidi khouiled	Ouargla	Sable
T48	68	Al heria	Constantine	Aride
T49	69	Biskra	Biskra	Sable
T50	70	Batna	Batna	Aride
T51	71	Erouisset	Ouargla	Sable
T52	72	Ezrek	Oum el Bouaghi	Région montagneuse
T53	73	Ain baida	Ouargla	Sable

Chapitre 5 : Résultats et discussion

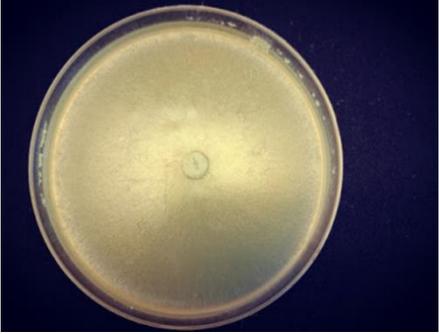
2. Identification macroscopique des isolats

Les isolats fongiques caractérisés sont consignés dans le tableau 3.

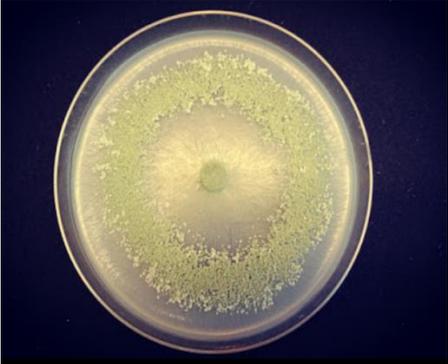
Tableau 3 : Identification macroscopique des isolats du genre *Trichoderma* obtenus

N°	T	Photo	Croissance	Aspect
13	T33		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur blanche au départ avec un cercle vert
16	T34		Colonie à croissance rapide	Floconneuse Couleur verte avec des taches blanches et bordure blanche
20	T54		Colonie à croissance un peu plus lente	Floconneuse Couleur verte

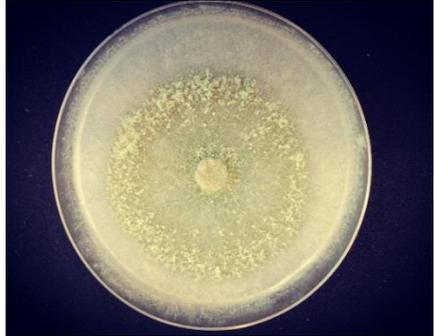
Chapitre 5 : Résultats et discussion

22	T36		Colonie à croissance très lente	Gélatineuse Couleur crème
23	T37		Colonie à croissance très lente	Compactée en touffes Couleur verte avec des taches blanches
31	T38		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc

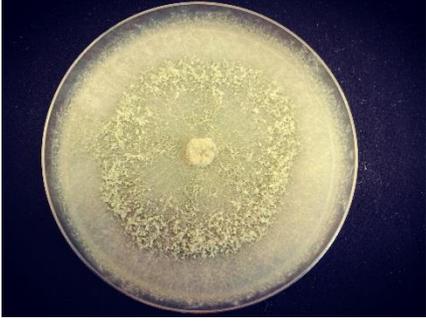
Chapitre 5 : Résultats et discussion

38	T39		Colonie à croissance très lente	Gélatineuse Couleur transparente
42	T40		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Un anneau blanc entouré par un cercle vert
53	T41		Colonie à croissance très lente	Gélatineuse Couleur verte claire avec des taches blanches
55	T42		Colonie à croissance rapide	Floconneuse Couleur verte aves une bordure blanche

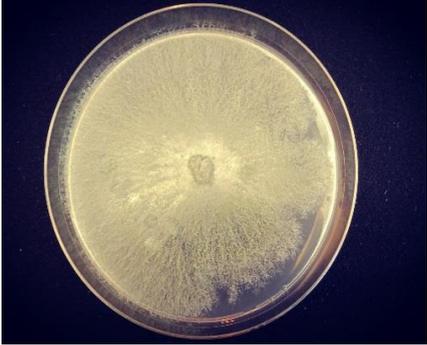
Chapitre 5 : Résultats et discussion

58	T43		Colonie à croissance rapide	Floconneuse Couleur verte avec un centre blanc
61	T44		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc
65	T45		Colonie à croissance rapide	Floconneuse Couleur verte avec un centre blanc
66	T46		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc

Chapitre 5 : Résultats et discussion

67	T47		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc
68	T48		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte
69	T49		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc
70	T50		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc

Chapitre 5 : Résultats et discussion

71	T51		Colonie à croissance rapide	Floconneuse Couleur verte avec des taches jaunes
72	T52		Colonie à croissance un peu plus lente	Compactée en touffes Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc
73	T53		Colonie à croissance très lente	Floconneuse Couleur verte claire

Chapitre 5 : Résultats et discussion

3. Analyse des résultats

3.1. Répartition des isolats en fonction de la région

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* présents dans les sols de différents écosystèmes en fonction de la région est représentée dans la figure 6

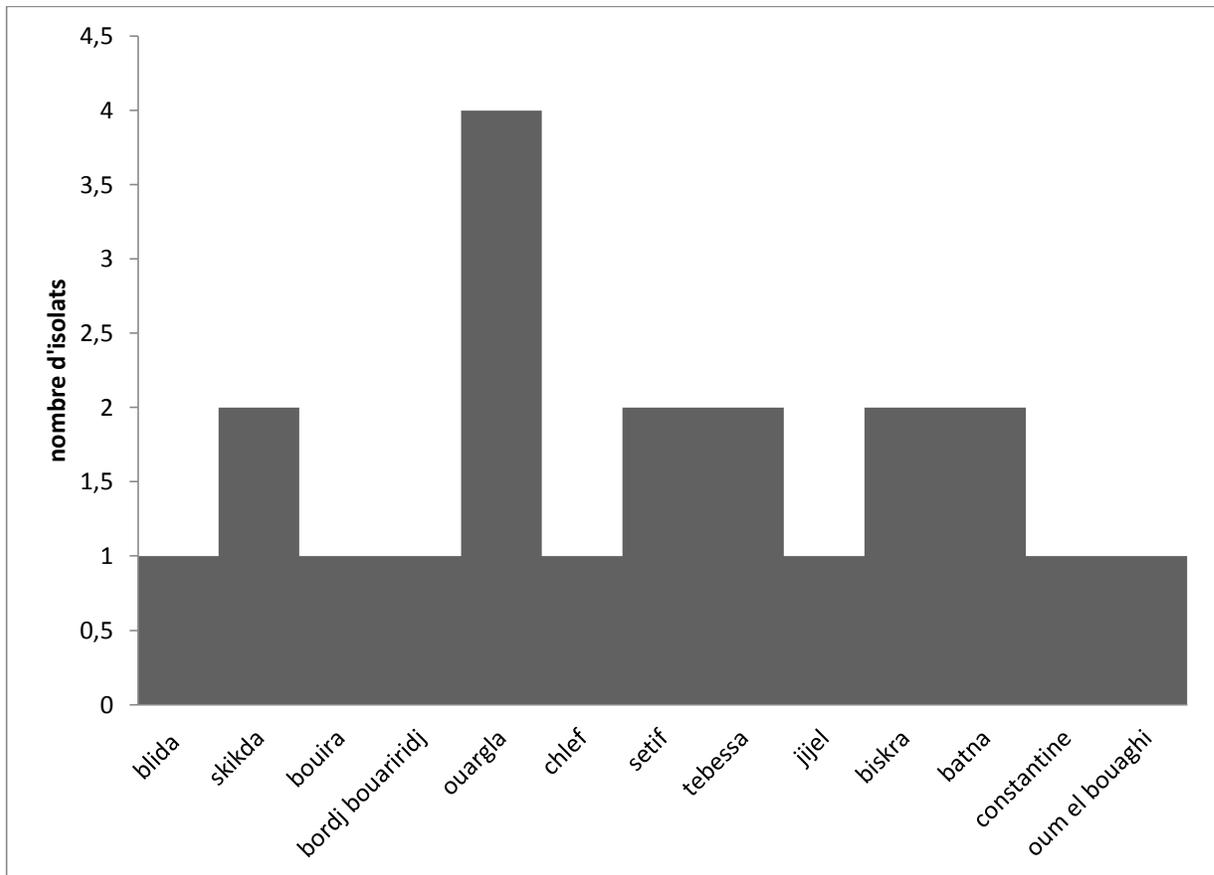


Figure 6 : Répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la wilaya

Parmi les 73 échantillons de sol analysés uniquement 21 isolats du genre *Trichoderma* ont été trouvés provenant de 13 wilayas. Nous remarquons que la wilaya de Ouargla occupe la première position où se trouvent des échantillons de sol contenant le genre *Trihoderma*, suivie par les wilayas de Skikda, Sétif, Tebessa, Biskra et Batna qui renferment le même nombre d'isolats (2) dans le sol, le reste des wilayas est presque dépourvu des souches de *Trichderma* où nous enregistrons 1 seul isolat uniquement.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

3.2. Répartition des isolats de *Trichoderma* en fonction du type de sol

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction du type de sol est représentée dans la figure 7

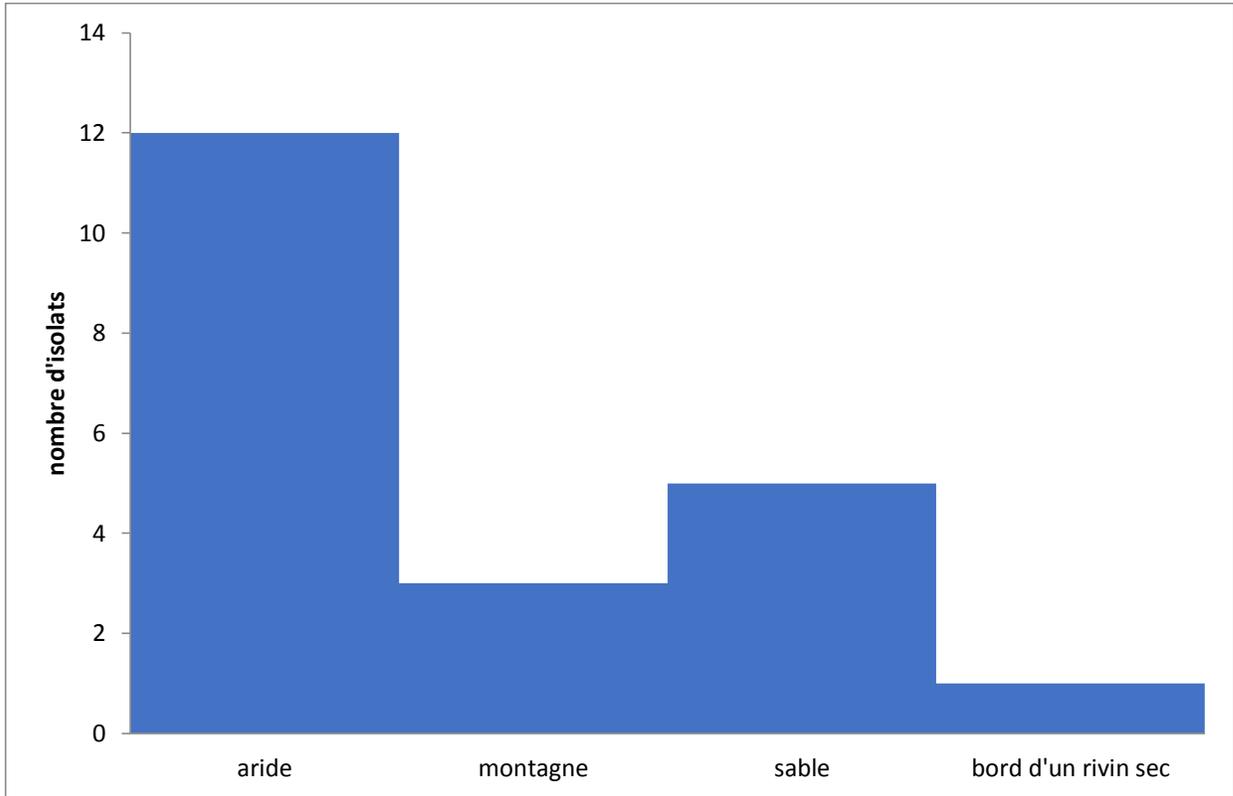


Figure 7 : Répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction du type de sol.

La répartition des isolats selon le type de sol indique que *Trichoderma sp* se trouve essentiellement dans le sol aride (12 isolats) par rapport aux autres échantillons analysés. Par ailleurs ce genre est moins abondant dans le sol sableux, montagneux et le sol au bord du ravin sec avec 3 isolats, 2 isolats et 1 isolat, respectivement.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

3.3. Répartition des isolats de *Trichoderma sp* en fonction des caractéristiques macroscopiques

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* présents dans les sols de différents écosystèmes en fonction de leurs caractéristiques macroscopiques est représentée dans le tableau 4

Tableau 4 : Répartition des isolats de *Trichoderma sp* selon les caractéristiques macroscopiques.

N°	Caractéristiques macroscopiques	Nombre d'isolats
1	<ul style="list-style-type: none">- Colonie à croissance un peu plus lente- Compactés en touffes- Couleur blanche au départ avec un cercle vert	1
2	<ul style="list-style-type: none">- Colonie à croissance rapide- Floconneuse- Couleur verte avec des taches blanches et bordure blanche	1
3	<ul style="list-style-type: none">- Colonie à croissance un peu plus lente-Floconneuse-Couleur verte	1
4	<ul style="list-style-type: none">- Colonie à croissance très lente- Gélatineuse- Couleur crème	1
5	<ul style="list-style-type: none">- Colonie à croissance très lente-Compactés en touffes	1

Chapitre 5 : Résultats et discussion

	-Couleur verte avec des taches blanches	
6	- Colonie à croissance un peu plus lente -Compactés en touffes -Couleur verte avec un centre blanc	1
7	- Colonie à croissance très lente - Gélatineuse - Couleur transparente	1
8	- Colonie à croissance un peu plus lente -Compactés en touffes -Un anneau blanc entouré par un cercle vert	1
9	- Colonie à croissance très lente - Gélatineuse - Couleur verte claire avec des taches blanches	1
10	- Colonie à croissance rapide - Floconneuse - Couleur verte avec une bordure blanche	1
11	Colonie à croissance rapide -Floconneuse -Couleur verte avec un centre blanc	2
12	-Colonie à croissance un peu plus lente -Compactés en touffes	6

Chapitre 5 : Résultats et discussion

	-Couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc	
13	-Colonie à croissance un peu plus lente -Compactés en touffes -Couleur verte	1
14	-Colonie à croissance rapide -Floconneuse -Couleur verte avec des taches jaunes	1
15	-Colonie à croissance très lente -Floconneuse -Couleur verte claire	1

Dans cette étude, un total de 21 isolats de *Trichoderma* sp ont été isolés à partir des différents échantillons. Ces 21 isolats sont divisés en 15 groupes selon leurs caractéristiques macroscopiques (tableau : 4). Une grande diversité génétique est observée dans ces isolats où 15 groupes sont morphologiquement différents et nous pouvons dire que probablement ces isolats représentent 15 espèces différentes du genre *Trichoderma*. Nous remarquons également que 13 isolats présentent des caractéristiques macroscopiques spécifiques et ne ressemblent pas aux autres isolats tandis que le groupe 12 est le plus dominant, renfermant 6 isolats similaires, suivi par le groupe 11 qui renferme 2 isolats (tableau 4). Par ailleurs, le reste des groupes sont peu fréquents. Ces résultats montrent une diversité importante des espèces de *Trichoderma* dans les différentes régions en Algérie, avec une abondance des souches appartenant au 12e groupe.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

3.4. Répartition des isolats de *Trichoderma* en fonction de la croissance du champignon

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la croissance du champignon est représentée dans la figure 8.

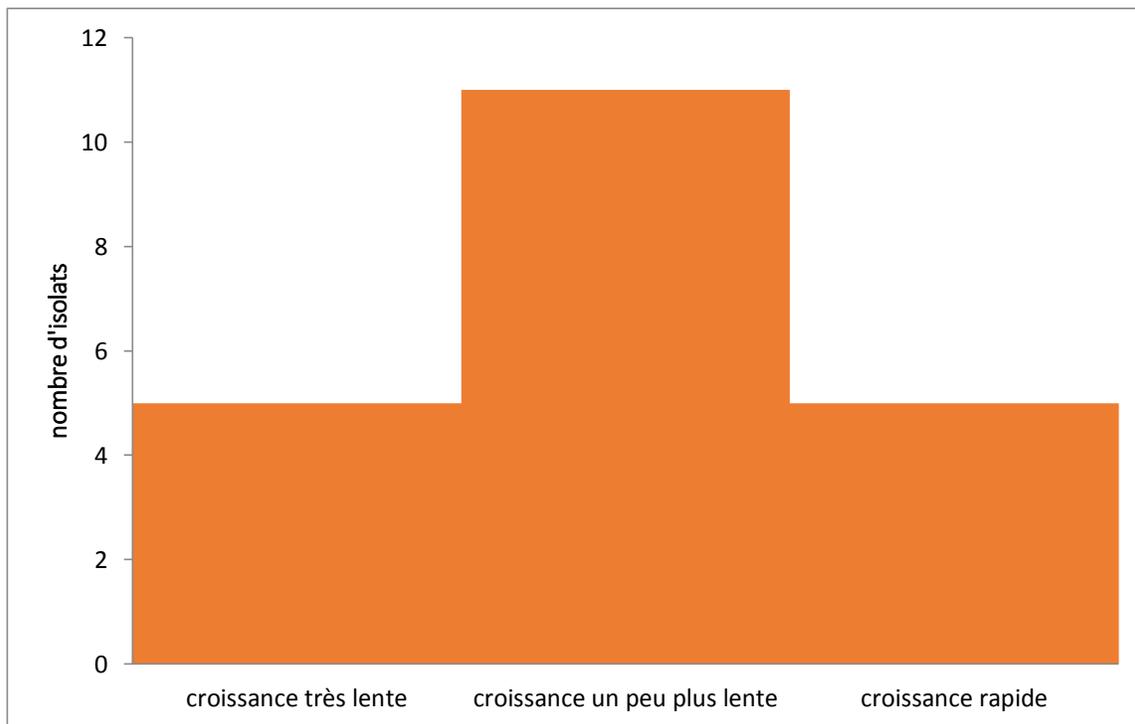


Figure 8 : Répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la croissance du champignon

La répartition des 21 isolats obtenus en fonction de la croissance du champignon permet de les diviser en trois groupes selon la vitesse de croissance où le groupe 2 caractérisé par une croissance un peu plus lente est le plus dominant renfermant 11 isolats. Les deux autres groupes qui renferment 5 isolats chacun.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

3.5. Répartition des isolats de *Trichoderma* en fonction de la texture du champignon

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la texture du champignon est représentée dans la figure 9.

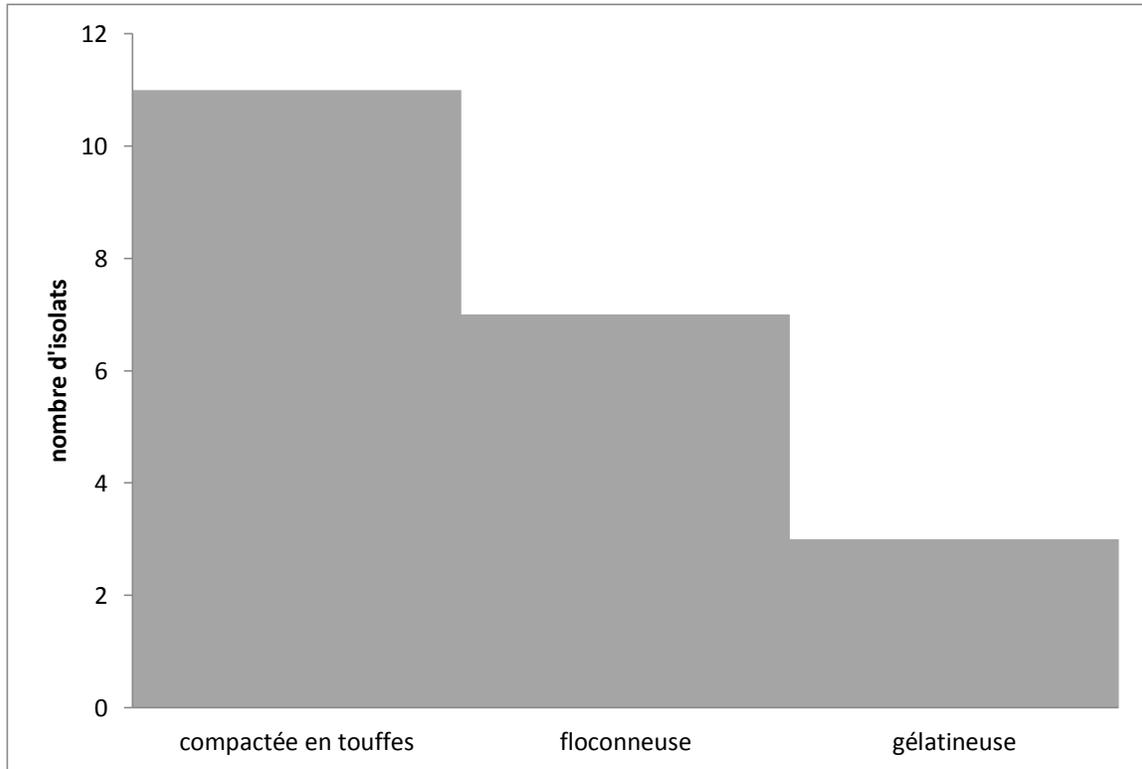


Figure 9 : Répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la texture du champignon

La répartition des 21 isolats obtenus en fonction de la texture du champignon permet également de les diviser en trois groupes où le groupe 1 caractérisé par une texture compactée en touffes est le plus dominant renfermant 11 isolats suivi du groupe 2 caractérisé par une texture floconneuse qui renferme 7 isolats. Le dernier groupe caractérisé par une texture gélatineuse renferme 3 isolats qui ont une texture gélatineuse.

Chapitre 5 : Résultats et discussion

3.6. Répartition des isolats de *Trichoderma* en fonction de la couleur du champignon

La répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la couleur du champignon est représentée dans la figure 10.

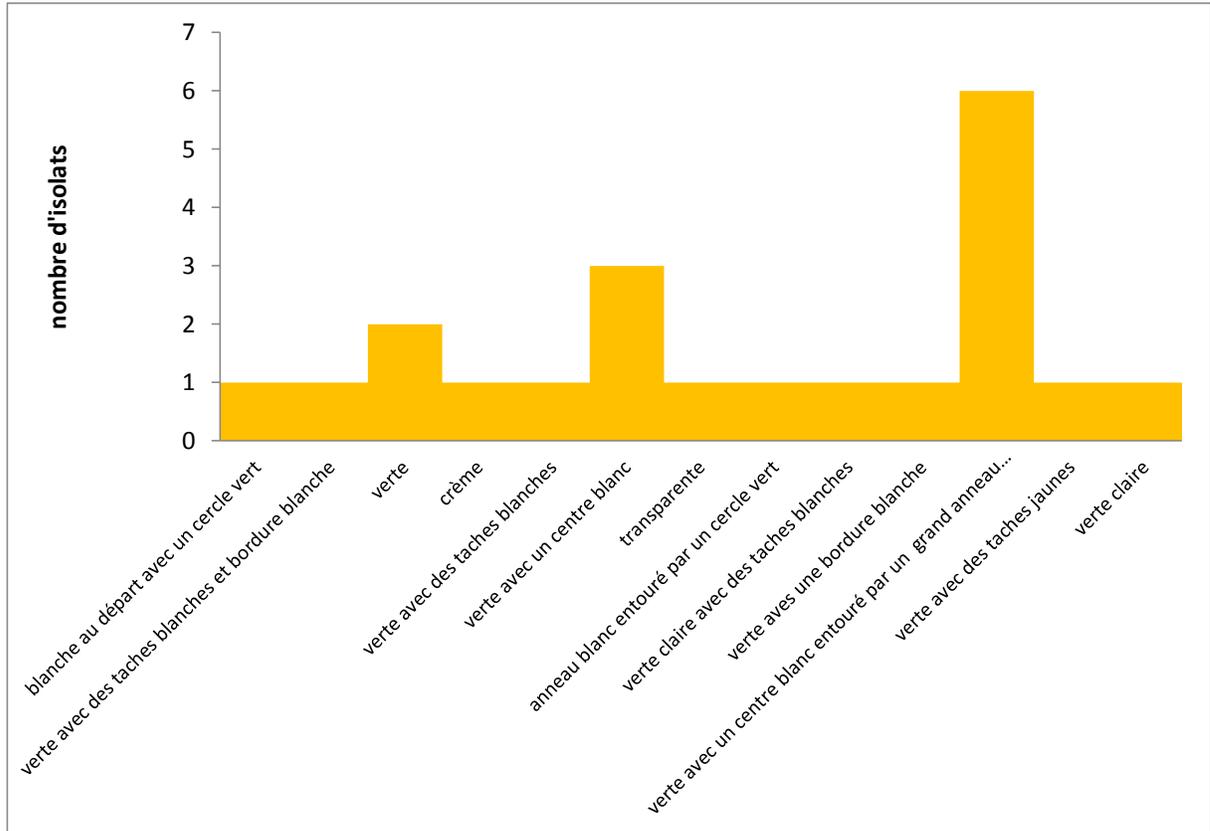


Figure 10 : Répartition des isolats du genre *Trichoderma* en fonction de la couleur du champignon.

La figure 10 montre que les 21 isolats sont divisés en 13 groupes selon leurs couleurs. Une grande diversité est observée en fonction de la couleur du champignon dans ces isolats où 10 groupes présentent des couleurs différentes et caractérisent un seul isolat chacun. Nous remarquons également le groupe 11 est le plus dominant, renfermant 6 isolats similaires caractérisés par une couleur verte avec un centre blanc entouré par un grand anneau blanc, suivi du groupe 6 qui renferme 3 isolats de couleur verte avec un centre blanc et le groupe 3 qui renferme deux isolats de couleurs vertes. Par ailleurs, le reste des groupes sont peu fréquents et renferment un isolat uniquement.

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de la présente étude est d'isoler et identifier morphologiquement des souches de *Trichoderma* spp. à partir de différents écosystèmes non cultivés du territoire algérien.

Le choix de type de sols non cultivés et éloignés de l'activité humaine est afin de trouver des souches de *Trichoderma* originales et de meilleure qualité (potentiel d'utilisation dans la lutte biologique) que celles extraites des sols agricoles.

Les principaux résultats de ce travail sont :

- la wilaya d'Ouargla occupe la première position où se trouvent des échantillons de sol contenant le genre *Trichoderma*, suivie par les wilayas de Skikda, Sétif, Tébessa, Biskra et Batna.
- Le champignon *Trichoderma* sp se trouve essentiellement dans le sol aride par rapport aux autres échantillons de sol analysés.
- Une grande diversité génétique est observée dans les isolats où 15 groupes sont morphologiquement différents et nous pouvons dire que probablement ces isolats représentent 15 espèces différentes du genre *Trichoderma*.
- Les isolats se divisent en différents types selon la vitesse de croissance du champignon. Ils présentent aussi une grande diversité en fonction de la texture et la couleur du champignon.

Ces résultats reflètent une vaste biodiversité de *Trichoderma* en Algérie qui peut servir pour une éventuelle application biotechnologique du champignon *Trichoderma* comme un agent de bio contrôle.

En perspectives, il serait nécessaire de :

- Travailler sur un panel d'échantillon de sols plus large.
- Identifier les souches de *Trichoderma* isolées sur le plan microscopique, biochimique et moléculaire.
- Tester l'effet antagoniste de ces souches contre les agents phytopathogènes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

- 1. Ahmed, I., Bissett, J. & Malloch, D. 1995.** Effect of phosphinothricin on nitrogen metabolism of *Trichoderma* species and its implications for their control of phytopathogenic fungi. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 53 : 49-59
- 2. Alabouvette C., Couteaudier Y., & Louvet J. 1983.** Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, 7-16. In «Les antagonismes microbiens. Modes d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes». 24e Coll. soc. *Fr. Phytopathol., Bordeaux.*
- 3. Altomare, C., Norvell, W. A., Bjorkman, T. et Harman, G. E. 1999.** Solubilisation of phosphate and micronutrients by the plant growth promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. *App. Env. Microbiol.* 65 : 2926-2933

-B-

- 4. Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C. et Codon, A. C. 2004.** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology* 7 : 249-260.
- 5. Bigirimana, J. 1997.** Induction of systemic resistance on bean (*Phaseolus vulgaris*) by *Trichoderma harzianum*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent* 62 : 1001-1007.
- 6. Bissett, J. 2004.** Commentaires de l'adresse internet suivante : http://www.Medicalglossary.org/fungi_mitosporic_fungi_definitions.html.
- 7. Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J-J., Vayssier Y. and Veau P.(1990).** Moisissures utiles et nuisibles, importance industriels. Edn. Masson. Paris.
- 8. Buhot D. (1973).** Echantillonnage du sol. Conservation et préparation des échantillons .Problème statistiques. *Ann. Phytopath.* 5 :296-298.

Références bibliographiques

-C-

9. Corbaz , R .(1999). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. presses polytechniques et universitaires romandes . 9 : 167-255
10. Cournut. B. 1984. Le genre *Trichoderma* hyphomycètes. Th. : Pharmacie :Marseille; 77 p.
11. Culter, H. G., Cox, R. H., Crumley, F. G. et Cole, P. D. 1986. 6-pentyl- α -pyrone from *Trichoderma harzianum*: its plant growth inhibitory and antimicrobial properties. Agricultural and Biological Chemistry 50: 2943-2945.

-D-

12. Danielson R.M., Davey D.E., 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. Soil Biology and Biochemistry 5: 486-494.
13. Davet P. (1996). *Vie Microbienne Du Sol Et Production Végétales*, (Edn) Inra.Paris.
14. Davet P. and Rouxel F. (1997). *Detection Et Isolation Des Champignons Du Sol*, (Edn) Inra .Paris.
15. De Meyer, G., Bigirimana, J., Elad, Y. et Hofte, M. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum*T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant Path.104 : 279-286
16. De Moura Sarquis M. I. et Cunha De Oliveira P., 1996. Diversity of microfungi in the Sunday soil of Ipanema beach, Reo de Janeiro, Brazil. J. Basic. Microbiol. 36, 51-58.
17. Djonović, S., Pozo, M. J., Dangott, L. J., Howell, C. R. et Kenerley, C. M. 2006. Sml, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance. Molecular Plant-Microbe Interaction 19: 838-853.

Références bibliographiques

-E-

- 18. Elad, Y., Chet, I. and Henis, Y. 1982.** Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Canadian Journal of Microbiology 28: 719-725.
- 19. Elad, Y., David, D. R., Levi, T., Kapat, T., Kapat, A., Kirshner, B., Guvrin, E. et Levine, A. 1999.** *Trichoderma harzianum* T39-mechanisms of biocontrol of foliar pathogens. In H. H. Lyr (Ed.), *Modern Fungicides and Antifungal Compounds II*, Intercept Ltd., Andover, Hampshire, U.K., pp. 459-467.
- 20. Espasito E., da Silva M., 1998.** Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. Critical reviews in microbiology, 24(2), 89-98.

-H-

- 21. Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I., & Lorito M. 2004.** *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1): 43.
- 22. Harman J. S., Childs G. E., & Kelleher K. J. 2000.** Mental health care utilization and expenditures by children in foster care. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 154(11) :1114-1117
- 23. Hjeljord L., Tronsmo A, 1998.** *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In *Trichoderma and Microbiol. Hyg. Alim.*-Vol 20, N° 57 – Mars 2008 15 *Gliocladium*. Enzymes, biological control and commercial applications, pp. 131-151. Taylor and Francis Ltd, London, UK,
- 24. Howell, C. R., Hanson, L. E., Stipanovic, R. D. et Puckhaber, L. S. 1999.** Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90:248-252.

Références bibliographiques

-J-

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

-K-

- 26. Klein D., Eveleigh D.E., 1998.** Ecology of TrichodermaIn Trichoderma and Glicoladium; Basic biology, taxonomy and genetics, pp.57- 74. Taylor and Francis Ltd, London, UK.
- 27. Kubicek, C.P. ;Bissett, J. ; Druzhinina, I., Kullnig-Gradinger, C. and Szakacs, G., 2003.** Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma sp.*: a case study on South-East Asian isolates. Fungal Genet. *Biology*, 38 (3) : 310-319
- 28. Kulling-Gradinger C.M., Szakacs G. Kubicek C.P., 2002.** Phylogenetic and evolution of the genus Trichoderma: a multigene approach. Mycological Research 155: 1-9.

-L-

- 29. Landreau, A.2001.**Métabolites d'une souche de *Trichoderma koningii Oudemans* isolée du milieu marin : Etude chimique, biologique et risques pour les coquillages en culture. Th. : Pharmacie : Nantes : 201 p.
- 30. Lecellier A. 2013.** *Détection, caractérisation et identification des moisissures par spectroscopie vibrationnelle infrarouge et Raman.* Thèse de doctorat d'état, Reims.
- 31. Leghlimi H. 2013.** *Cellulases de souches fongiques issues du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes.* Thèse de doctorat d'état, Reims
- 32. Lepoivre P. et Semal J. 1988.** La lutte biologique en phytopathologie. Traité de pathologie végétal, pp 465-487. presse agronomique de Gembloux, Bruxelles Belgique
- 33. Leuchtmann, A. ; Petrini, O. &Samuels, G. 1996.** Isozymesubgroups in *Trichoderma* section *Longibrachiatum*. *Mycologia*, 88 (3) : 384-394

Références bibliographiques

- 34. Lindsey, D. et R. Baker.,(1967).** Effect of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 338: 1262-1263.
- 35. Lorito, M. 1998.** Chitinolytic enzymes and their genes. In: Harman G.E., Kubiceck C.P. (eds.). *Trichoderma and Gliocladium*, Vol 2. Enzymes, biological control and commercial application, pp. 73-99. Taylor and Francis, London UK.

-M-

- 36. Marra, R., Ambrosino, P., Carbone, V., Vinale, F., Woo, S. L., Ruocco, M., Ciliento, R., Lanzuise, S., Ferraioli, S., Soriente, I., Gigante, S., Turrà, D., Fogliano, V., Scala, F. et Lorito, M. 2006.** Study of the three-way interaction between *Trichoderma atroviride*, plant and fungal pathogens by using a proteomic approach. *CurrentGenetics* 50: 307-321.
- 37. Mathieu C. et pieltin F. (2003).** Analyse chimique des sols. Methodes choisies. Editions. Editions TEC and Doc.,LAVOISIER. Chapitre 1, 2, 3,6 et 10.
- 38. Mihailj.d. and Aloren S.M. (1987).** *Macrophominaphaseolmaspatilapatterns* in cultivated dans sampling strategies phytopathology. **77**:1126-113
- 39. Mohamed-benkada Mustapha. 2006.** Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles : substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Th. :Pharmacie : Nantes : 9,10,11,12,13,p.
- 40. Muthumeenakshi, S., Mills, P. R., Brown, A. E. and Seaby, D. A. 1994.** Intraspecific molecular variation among *Trichoderma harzianum*isolates colonizing mushroom compost in British Isles. *Microbiology* 140: 769-777.

-P-

- 41. Papavizas G. C., 1985.** *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology, and potential for Biocontrol. *Ann. Rev. Phytopatol*, 23, 23-54.

-R-

- 42. Rifai, M.A.m1969.** A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycologia.Papers*, 116:1-56

Références bibliographiques

- 43. Rodrigez- zarazoga S., Maylish E. and Steinberger Y. (2005).** Vertical distribution the free-living Amoeba population in soil under desertshrubs in the Ngev. Applied and environmental Microbiology .71(4): 2053-2069
- 44. Roiger D.J., Jeffers S.N., Cladwell R.W., 1991.** Occurrence of Trichoderma species in apple orchard and woodland soils. Soil Biology and Biochemistry 23: 353-359
- 45. Roquebert M.F., 1696.** Interaction antagonistes des trichoderma dans les ecosystemes telluriques : Systématique,biologie et ecologie des organismes. Compte rendu des 4éme rencontre en toxinologie, 13-15.
- 46. Ronald et Atlas M. (1997).** Hand book of microbiology media. Edition 2.New York.

-S-

- 47. Saadoune I. and Momani I.(1997).** Streptoyces from Jordan sol active against Agrobacteriumtumefasciens. Actinomycets. 8(12):29-36.
- 48. SamuelS, G. J.; Petrini, O. & Manguin, S.** Morphological and macromolecular characterization of Hypocrea schweinitzii and its Trichoderma anamorph. Mycologia,1994, 86: 421-435
- 49. Samuels G.J., 1996.** Trichoderma: a review of biology and systematics of the genus. Mycol. Ress, 100 (8) , 923-935
- 50. Sandgren, M.; Stahlberg, J. & Mitchinson, C. ., 2005**
Structural and biochemical studies of GH family 12 cellulases: improved thermal stability, and ligand complexes. Prog. Biophys. Mol. Bio, 89 : 246-291
- 51. Smith W.H., 1995.** Forest occurrence of Trichoderma species: emphasis of potential organochlorine (xenobiotic) degradation. Ecotoxicol. EnvironmentalSafety 32: 179-183

Références bibliographiques

-T-

- 52. Toua ,D.(1996).**essais d'Utilisation des *Pseudomonas fluorescens*Antagonistes dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum*f.sp.*lycopersici*et de *verticillium dahliae*sur Tomate et dans la promotion de la croissance végétale. Thèse magister en phytopathologie Institut National Agronomique. EL-Harrach. 129 p.

-V-

- 53. Vidhyasekaran, P. 2004.** Concise encyclopedia of plant pathology. Food Products Press and The Haworth Reference Press. 587p.
- 54. Vinale, F. Sivasithamparam, K. et Ghisalberti, E. L. 2008.** *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Soil biology and biochemistry 40: 1-10.
- 55. Vining, L.C. 1990.** Fonctions of secondary metabolites. Annu. Rev. Microbiol., 44 : 395-427
- 56. Vizcaino, J.A. ; Sanz, L. ; Cardoza, R.E. ; Monte, E. & Gutierrez, S. ., 2005** Detection of putative peptide synthetase genes in *Trichoderma* species: Application of this method to the cloning of a gene from *T. harzianum*CECT 2413. FEMS Microb.Lett, 244 : 139–148
- 57. Voet, D. & Voet, J.G.,1998,**Biochimie,Paris

-W-

- 58. Wilson E. O. et Peter F. M. (ed.) 1988.** Biodiversity. National Academy Press, Washington.
- 59. Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M. et Lorito, M. 2006.** The molecular biology of interactions between *Trichoderma* spp., pathogenic fungi and plants. Phytopathology 96 : 181-185.

-Y-

- 60. Yedida, I., A.K. Srivasta, Y. Kapulnik et I.Chet.,(2001).** Effect of *Trichoderma harzianum*on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant soil, 235: 235-242.

Références bibliographiques

- 61.** <https://www.kloranbotanical.foundation/fr/tout-savoir-sur-les-differents-niveaux-de-la-biodiversite> Fondation d'entreprise pour la protection et la valorisation du patrimoine végétal. « Tout savoir sur les différents niveaux de la biodiversité ». Kloranbotanicalfoundation. . 13-08-2020
- 62.** <https://espacepourlavie.ca/quest-ce-que-la-biodiversite>. Centre sur la biodiversité de l'Université de Montréal « Qu'est-ce que la biodiversité? ».Espace pour la vie Montréal. 13-08-2020.
- 63.** <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/biodiversite/enseignement-de-la-biodiversite/mises-au-point/nivBiodiv#:~:text=La%20biodiversit%C3%A9%20peut%20%C3%AAtre%20pens%C3%A9e,le%20plus%20facile%20%C3%A0%20aborder>. Plateforme- ACCES. « Les niveaux de biodiversité ». Institut français de l'éducation. 13-08-2020
- 64.** <https://mffp.gouv.qc.ca/faune/habitats-fauniques/biodiversite/index.jsp>. Gouvernement du Québec. « Gros plan sur la faune ». Ministère des forêts, de la faune et des parcs. 13-08-2020
- 65.** <http://www.cite-sciences.fr/fr/accueil/>. Site utilisé comme référence dans le site précédent : institut français de l'éducation Universcience. Cité de science et de l'industrie. 13-08-2020
- 66.** Livre utilisé comme référence dans le site précédent : institut français de l'éducationLe grand livre de la Biodiversité. Gérard Lacroix et Luc Abadie. CNRS Editions (isbn : 2-271-06363-9
- 67.** <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/biodiversite/enseignement-de-la-biodiversite/mises-au-point/nivBiodiv#:~:text=La%20biodiversit%C3%A9%20peut%20%C3%AAtre%20pens%C3%A9e,le%20plus%20facile%20%C3%A0%20aborder>.Plateforme- ACCES. « Les niveaux de biodiversité ». Institut français de l'éducation.

Résumé

Dans le cadre d'isoler et identifier morphologiquement des souches de *Trichoderma*, des prélèvements de sol de différents écosystèmes de plusieurs régions en Algérie ont été réalisés. Les résultats d'isolement effectué par la méthode de suspension-dilution sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) a permis d'obtenir 21 isolats du champignon *Trichoderma* provenant de 13 wilayas.

L'identification des isolats est réalisée en tenant compte de leurs caractères macroscopiques sur le milieu PDA.

La wilaya d'Ouargla occupe la première position où se trouvent des échantillons de sol contenant le genre *Trichoderma*, suivie par les wilayas de Skikda, Sétif, Tébessa, Biskra et Batna.

La majorité des isolats se trouve essentiellement dans le sol aride par rapport aux autres échantillons de sol analysés et présentent une grande diversité génétique où 15 groupes sont morphologiquement différents (texture, couleur et vitesse de croissance).

En perspectives, il serait nécessaire de :

- Travailler sur un panel d'échantillon de sols plus large.
- Identifier les souches de *Trichoderma* isolées sur le plan microscopique, biochimique et moléculaire.
- Tester l'effet antagoniste de ces souches contre les agents phytopathogènes

Mots clés : *Trichoderma*, écosystème, sol, isolement, caractérisation macroscopique.

Absrtat

In order to isolate and morphologically identify strains of Trichoderma, soil samples from several regions in Algeria were extracted. The isolation results carried out by the suspension-dilution method on the Potato Dextrose Agar (PDA) culture medium yielded 21 isolates of Trichoderma fungi from 13 wilayas.

The identification of isolates is carried out taking into account their macroscopic characteristics on the PDA medium.

The wilaya of Ouargla occupies the first position where soil samples containing the Trichoderma genus are found, followed by the wilayas of Skikda, Sétif, Tébessa, Biskra and Batna.

The majority of isolates are found mainly in arid soil compared to the other samples analyzed and present a great genetic diversity where 15 groups are morphologically different (texture, color and speed of growth).

From a perspective, it would be necessary to:

- Work on a larger sample panel of soils.
- Identify the strains of Trichoderma isolated microscopically, biochemically and molecularly.
- Test the antagonistic effect of these strains against phytopathogenic agents

Key words: Trichoderma, ecosystem, soil, isolation, macroscopic characterization.

الملخص

من اجل عزل سلالات تريكو يرما والتعرف عليها شكلياً، تم أخذ عينات من التربة من عدة مناطق في الجزائر. نتائج العزل التي تم إجراؤها بطريقة التخفيف المعلق على وسط زراعة آجار دكستروز البطاطس (PDA) اسفرت عن 21 عزلة من فطريات تريكو يرما من 13 ولاية.

يتم التعرف على العزلات مع الأخذ في الاعتبار خصائصها العيانية على وسط PDA .

تحتل ولاية ورقلة المركز الأول حيث تم العثور على عينات التربة التي تحتوي على جنس الترايكوديرما، تليها ولايات سكيكدة، سطيف، تبسة، بسكرة وباتنة.

تم العثور على غالبية العزلات بشكل رئيسي في التربة القاحلة مقارنة بالعينات الأخرى التي تم تحليلها وتمثل تنوعاً وراثياً كبيراً حيث وجدنا 15 مجموعة مختلفة شكلياً من حيث النسيج، اللون وسرعة النمو.

من وجهة نظر، سيكون من الضروري:

• العمل على لوحة عينة أكبر من التربة.

• التعرف على سلالات Trichoderma المعزولة مجهرياً وكيميائياً حيويًا وجزئيًا.

• اختبار التأثير المضاد لهذه السلالات ضد العوامل الممرضة للنبات

الكلمات المفتاحية: الترايكوديرما، النظام البيئي، التربة، العزلة، التوصيف العياني.

Année universitaire : 2019/2020

Présenté par : LAIEB Soumia
HAMMOUDI Nour el houda

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie
Option : Biochimie de la Nutrition

Thème : Isolement et caractérisation morphologique des champignons du genre *Trichoderma* à partir de différents écosystèmes algériens

Résumé

Dans le cadre d'isoler et identifier morphologiquement des souches de *Trichoderma*, des prélèvements de sol de différents écosystèmes de plusieurs régions en Algérie ont été réalisés. Les résultats d'isolement effectué par la méthode de suspension-dilution sur le milieu de culture Potato Dextrose Agar (PDA) a permis d'obtenir 21 isolats du champignon *Trichoderma* provenant de 13 wilayas.

L'identification des isolats est réalisée en tenant compte de leurs caractères macroscopiques sur le milieu PDA.

La wilaya d'Ouargla occupe la première position où se trouvent des échantillons de sol contenant le genre *Trichoderma*, suivie par les wilayas de Skikda, Sétif, Tébessa, Biskra et Batna.

La majorité des isolats se trouve essentiellement dans le sol aride par rapport aux autres échantillons de sol analysés et présentent une grande diversité génétique où 15 groupes sont morphologiquement différents (texture, couleur et vitesse de croissance).

En perspectives, il serait nécessaire de :

- Travailler sur un panel d'échantillon de sols plus large.
- Identifier les souches de *Trichoderma* isolées sur le plan microscopique, biochimique et moléculaire.
- Tester l'effet antagoniste de ces souches contre les agents phytopathogènes.

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

Mots clés : *Trichoderma*, écosystème, sol, isolement, caractérisation macroscopique.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. HAMOUDA Dounia (UFMC1)

Encadreur : Dr. BELIL.Ines (UFMC1)

Examineur : Dr. LOUALI Yamouna (UFMC1)

