

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
**République Algérienne Démocratique et Populaire**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**



**جامعة الإخوة منتوري قسنطينة 1**  
**Université Frères Mentouri Constantine1**

**Université Frères Mentouri Constantine**  
**Faculté Des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**biologie écologie et végétale**

**جامعة الإخوة منتوري قسنطينة**  
**كلية علوم الطبيعة والحياة**  
**قسم بيولوجيا ايكولوجيا و النبات**

**Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine :** Sciences de la Nature et de la vie

**Filière :** Science Biologie

**Spécialité :** Biodiversité et Physiologie Végétale

**N° d'ordre :**  
**N° de Série :**

**Intitulé**

**Inventaire de la microflore rhizosphérique des  
légumineuses dans la région Est-Algérien.**

**Présenté par :** SEGGANI Aya

**Soutenu le :** 21/06/2023

ALOUK MohamedEl Hadi

**Jury d'évaluation :**

|                      |                 |                               |
|----------------------|-----------------|-------------------------------|
| <b>Président :</b>   | CHAIB Ghania    | (Professeure UFM Constantine) |
| <b>Examineur :</b>   | ZOGHMAR Nabila  | (MVB UFM Constantine)         |
| <b>Promoteur :</b>   | BOUDCHICHA Hind | (MRB – CRBt Constantine)      |
| <b>Co-promoteur:</b> | HARRAT Wahiba   | (MRB - INRAA Constantine)     |

**Année universitaire : 2022 / 2023**

## REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions *Allah* le tout miséricordieux l'unique, le puissant, maître des cieux et de la terre pour nous avoir guidé, protégé, aidé et permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier particulièrement à Dr. CHAIB G. pour avoir accepté de présider le Jury de ce modeste travail ;

Mes remerciements s'adressent également à Dr. ZOGHMAR N. d'avoir bien voulu accepter d'examiner ce travail ;

Notre responsable de formation madame *HARRAT Wahiba*, encadreur de notre mémoire, merci pour son aide, ses conseils, la correction du manuscrit, et pour sa patience, sa confiance, son encouragement, et son œil critique qui nous a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de notre mémoire merci pour sa disponibilité, son savoir-faire, ses conseils, elle nous a permis de réaliser la partie pratique dans les meilleures conditions, sa compétence, sa patience, son enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail ont permis son aboutissement à temps.

# DEDICACE

Je dédie ce modeste travail

**A** Ma très cher mère « *Dalila* »

Affable, honorable, aimable : tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

**A** Mon très cher père « *Hacene* »

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et de le respect que j'ai toujours eu pour toi, rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

**A** Mon mari « *Amir* »

la source de grand courage tout le moment de travail et toujours à coté de moi merci.

**A** Mes cher Sœurs

*chouhaz, afaf, chourouk* Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

**A** Mes chers frères

Je remercie mes frère *hamza* et *bilel* pour leurs encouragements.

**A** YA

# TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| LISTE DES FIGURES.....                                     | 4  |
| INTRODUCTION.....  | 1  |
| PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....                                | 3  |
| CHAPITRE 1. LE SOL.....                                    | 4  |
| 1. Généralité sur le sol.....                              | 4  |
| 2. Caractéristiques générales des phases du sol.....       | 4  |
| La phase solide du sol.....                                | 4  |
| Fraction minérale.....                                     | 4  |
| Fraction organique.....                                    | 4  |
| La phase liquide du sol.....                               | 4  |
| La phase gazeuse du sol.....                               | 5  |
| 3. Services fournis par les sols.....                      | 5  |
| 4. La rhizosphère.....                                     | 6  |
| 5. Rôles des légumineuses.....                             | 7  |
| Chapitre 2. La microflore du sol.....                      | 8  |
| 1. Microorganismes eucaryotes.....                         | 8  |
| Les protozoaires.....                                      | 8  |
| Les champignons.....                                       | 8  |
| Les levures.....   | 8  |
| Les algues.....  | 9  |
| 2. Microorganismes procaryotes.....                        | 9  |
| Les Bactéries.....   | 9  |
| Actinomycètes.....   | 9  |
| 3. Les virus.....  | 9  |
| 4. Origine de la colonisation microbienne du sous-sol..... | 10 |
| Chapitre 3. Les champignons du sol.....                    | 11 |
| 1. Définition.....   | 11 |
| 2. Mode de vie.....  | 11 |
| Saprophytisme.....   | 11 |
| Parasitisme.....   | 11 |
| Symbiose.....  | 12 |
| 3. Clade des champignons.....                              | 12 |

|  |    |
|--|----|
| 4. Cycle de vie des champignons.....                     | 13 |
| 5. Reproduction des champignons .....                    | 14 |
| 6. Conditions de croissance des champignons.....         | 15 |
| Éléments nutritifs .....                                 | 15 |
| Source de carbone et d'énergie .....                     | 16 |
| Source d'azote.....                                      | 16 |
| Éléments minéraux.....                                   | 16 |
| Facteurs physicochimiques .....                          | 16 |
| Température .....  | 17 |
| 6.2.2. pH .....  | 17 |
| Activité en eau (Aw).....                                | 17 |
| Oxygène.....   | 17 |
| Lumière .....  | 18 |
| Humidité .....   | 18 |
| 7. Principaux groupes de champignons .....               | 18 |
| Chytridiomycota.....                                     | 18 |
| Zygomycota .....   | 18 |
| Glomeromycota.....                                       | 19 |
| Dikarya .....  | 19 |
| Ascomycota.....  | 19 |
| Basidiomycota.....                                       | 21 |
| 8. Rôles et interactions plantes-champignons du sol..... | 21 |
| PARTIE PRATIQUE.....                                     | 24 |
| I MATERIEL ET METHODES .....                             | 25 |
| 1. Méthode d'échantillonnage .....                       | 25 |
| 2. Mesure du pH des sols.....                            | 26 |
| 3. Préparation de milieu de culture utilisé .....        | 26 |
| Le milieu de culture PDA.....                            | 26 |
| Le milieu de culture Sabouraud .....                     | 26 |
| Le milieu de culture ISP .....                           | 27 |
| 4. Technique d'isolement des microorganismes du sol..... | 27 |
| Ensemencement sur milieu de culture .....                | 27 |
| Ensemencement sur milieu solide.....                     | 28 |
| Dénombrement des colonies et purification .....          | 28 |

|    |  |    |
|----|--|----|
| 5. | Identification des microorganismes .....   | 30 |
|    | Caractérisation macroscopique .....  | 30 |
|    | Identification microscopique .....   | 30 |
| 6. | Caractérisation moléculaire des isolats de <i>Trichoderma</i> isolés .....               | 31 |
|    | Extractions de l'ADN génomique .....   | 31 |
|    | Amplification des amorces universelles .....   | 31 |
|    | Séquençage sanger et alignement des séquences par l'outil BLAST .....                    | 31 |
| 7. | Evaluation de l'activité antagoniste des souches isolées de <i>Trichoderma sp.</i> ..... | 32 |
|    | Technique de confrontation directe .....   | 32 |
|    | II RESULTATSETDISCUSSION .....   | 34 |
|    | II .A Résultats .....  | 34 |
|    | 1. Nombre de colonies pour tous les échantillons .....                                   | 34 |
|    | 2. Nombre de colonies par milieu de culture .....  | 34 |
|    | 3. Pourcentage de colonies par échantillons .....  | 35 |
|    | 4. Nombre de genre par milieu de culture .....   | 35 |
|    | 5. Nombre de genre par dilution .....  | 36 |
|    | 6. Nombre de genre par échantillons .....  | 37 |
|    | 7. Pourcentage total des genres .....  | 38 |
|    | 8. Résultats de l'identification moléculaire des <i>Trichoderma</i> .....                | 42 |
|    | 9. Résultats de la lutte biologique .....  | 42 |
|    | II .B Discussion .....   | 44 |
|    | CONCLUSION .....   | 47 |
|    | REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....  | 50 |
|    | ANNEXE .....   | 57 |

# LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| Figure 1. La couverture pédologique en interface avec les autres grands compartiments de la planète Terre.....  | 5  |
| Figure 2. Classification mise à jour du niveau de phylum des champignons (Tedersoo, 2018).....  | 13 |
| Figure 3. Cycle de vie des moisissures .....  | 14 |
| Figure 4. Modes de reproduction chez les champignons.....   | 15 |
| Figure 5. <i>Penicillium brevicompactum</i> . (A) micrographie d'un conidiophore mûr coloré avec du bleu de coton ; (B) dessin de conidiophore et de conidies (Source : Peterson et al., 2006) .....  | 20 |
| Figure 6. <i>Aspergillus</i> (A) micrographie d'un conidiophore mûr coloré avec du bleu de coton ; (B) dessin de conidiophore et de conidies (Source : Peterson <i>et al.</i> , 2006) .....   | 21 |
| Figure 7. Zones d'échantillonnage (A) Constantine (B) Guelma. ....  | 25 |
| Figure 8. Préparations les milieux de cultures utilisés. (A) pesage des composants ; (B) mise en flacons autoclavables après mesure du pH ; (C) stérilisation liquide à l'autoclave 20min à 120°C ; (D) le milieu est versé dans des boîtes de Pétri en conditions stériles ..... | 27 |
| Figure 9. Préparations les milieux de cultures utilisés. (A) pesage des composants ; (B) mise en flacons autoclavables après mesure du pH ; (C) stérilisation liquide à l'autoclave 20min à 120°C ; (D) le milieu est versé dans des boîtes de Pétri en conditions stériles ..... | 28 |
| Figure 10. Méthode de suspension dilutions. ....  | 29 |
| Figure 11. Technique d'ensemencement et incubation. (A) Ensemencement sur milieu solide ; (B) Incubation à l'étuve.....   | 29 |
| Figure 12. Technique de purification. (A) Prélèvement des isolats ; (B) Ensemencement dans une nouvelle boîte de Pétri.....   | 29 |
| Figure 13. Préparation des lames pour l'observation microscopique. (A) Préparation des lames et des boîtes d'isolats ; (B) Lames avec bleu de méthylène .....   | 30 |
| Figure 14. Méthode de confrontation directe sur milieu PDA.....   | 32 |
| Figure 15. Exemple d'aspect des colonies obtenues dans les boîtes ensemencées sur milieu : (A) PDA ; (B) Sabouraud ; (C) ISP2. ....   | 34 |
| Figure 16. Nombre de colonies obtenues par milieu de culture.....   | 35 |
| Figure 17. Pourcentage de colonies par échantillons .....   | 35 |

|   |    |
|---|----|
| Figure 18. Nombre de genres fongiques et actinomycètes identifiés en fonction des milieux de culture solides .....  | 36 |
| Figure 19. Nombre de genres fongiques et actinomycètes en fonction des dilutions.....   | 37 |
| Figure 20. Nombre de genres identifiés au niveau de tous les échantillons étudiés .....   | 38 |
| Figure 21. Pourcentages totaux des genres identifiés .....  | 38 |
| Figure 22. Aspect des genres. (A) <i>Aspergillus</i> ; (B) <i>Phoma</i> ; (C) <i>Fusarium</i> ; (D) <i>Gliocladium</i> ; (E) Actinomycète. (1) recto de la boîte ; (2) revers ; (3) Observation microscopique .....         | 40 |
| Figure 23. Aspect des genres. (A) <i>Trichoderma</i> ; (B) <i>Mucor</i> ; (C) <i>Rhizopus</i> ; (D) <i>Penicillium</i> ; (E) <i>Verticillium</i> . (1) recto de la boîte ; (2) revers ; (3) Observation microscopique ..... | 41 |
| Figure 24. Taux d'inhibition en confrontations directe.....   | 43 |
| Figure 25. Test de confrontation directe des deux <i>Trichoderma</i> sp. vis-à-vis <i>Fusarium</i> sp. de lentille. (T : témoin ; F : <i>Fusarium</i> sp. ; Tr: <i>Trichoderma</i> sp.) .....                               | 43 |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |    |
|---|----|
| Tableau 1. Echantillons de sol.....                                     | 25 |
| Tableau 2. Les caractéristiques morphologiques des genres étudiées..... | 39 |





**INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

Le sol est l'habitat naturel pour des myriades de microorganismes et d'autres formes vivantes, formant des populations de différents genres. Le nombre et l'activité de ces populations changent d'une région à une autre, influencé par le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, l'aération et d'autres facteurs (Ruark and Zarnoch, 1992 ; Madigan *et al.*, 1997 ; Subler and Kirsch, 1998 ; Peuk, 2000 ; Smith *et al.*, 2000). Quant à l'évaluation de la biomasse microbienne, cette dernière a montré que dans la plupart des sols, les mycètes sont le composant principale (Baath and Söderström, 1980 ; Schnürer *et al.*, 1985).

La microflore rhizosphérique, qui fait ensemble des microorganismes vivant dans la région environnante des racines des plantes, joue un rôle crucial dans la santé et la productivité des cultures. Parmi les plantes cultivées, les légumineuses occupent une place importante en raison de leur capacité unique à former une relation symbiotique avec des bactéries fixatrices, appelées rhizobiums. Cette symbiose permet aux légumineuses de convertir azote atmosphérique en une forme utilisable par les plantes, favorisant ainsi leur croissance et leur rendement.

La microflore rhizosphérique des légumineuses revêt une grande importance, car elle permet de mieux comprendre les interactions complexes entre les plantes et les microorganismes du sol. Cette microflore diversifiée englobe une gamme organismes, tels que les bactéries, les champignons, les actinomycètes et les protozoaires, qui interagissent de manière synergique ou antagoniste avec les racines des légumineuses.

L'inventaire de la microflore rhizosphérique des légumineuses implique la collecte et l'identification de ces microorganismes afin de déterminer leur diversité, leur abondance et leur fonction dans l'écosystème racinaire. Les avancées récentes dans les techniques de séquençage de l'ADN ont révolutionné cette discipline, en permettant l'exploration approfondie de la composition génétique des communautés microbiennes. Les études mettent en évidence l'existence de relations complexes entre les légumineuses et leur microflore rhizosphérique, influençant ainsi la fixation de l'azote, la disponibilité des nutriments, la résistance aux maladies et la tolérance au stress environnemental.

Les moisissures, ou les mycètes ou les champignons filamenteux, sont des acteurs importants du monde microbien. Ils sont impliqués dans une multitude de processus biologiques de l'environnement. Ils présentent, en outre, un intérêt économique, en raison à la fois de leur utilité et de leurs activités néfastes multiples : altérations des produits alimentaires et détériorations dans de nombreux autres domaines : production de mycotoxines, vie parasitaire aux dépens de l'homme, des animaux et des plants. Par ailleurs, les moisissures synthétisent un grand nombre de substances complexes économiquement très importantes : acides organiques, alcaloïdes, antibiotiques, terpènes et enzymes (Sheikh, 2010 ; Mehravar et Sardari, 2011 ; Pereira *et al.*, 2013).

Aujourd'hui, la connaissance de la biologie des moisissures est encore partielle ; cependant, la compréhension des métabolismes primaires et secondaires et de la génétique de ces microorganismes permet de maîtriser de mieux en mieux leurs capacités de biosynthèse et leur mise à profit pour l'homme. A l'heure actuelle, il n'existe pas en Algérie de données scientifiques significatives sur les variétés de mycètes, leur écologie et leur potentiel de production de métabolites secondaires (Abdalaziz, 2006).

Nôtre expérience vise à réaliser un inventaire des microorganismes (champignons et actinomycètes) à partir de la rhizosphère des fabacées dans le but d'étudier la biodiversité et de chercher des microorganismes utiles et potentiellement antagonistes afin de les utiliser en bio contrôle de champignons phyto-pathogènes.

À la lumière de ce travail ; trois parties sont développées :

- ✓ La première partie est consacrée à l'étude bibliographique qui décrit le sol et la microflore du sol, suivi d'un détail sur les champignons, leur composition, leurs caractéristiques et leur rôle dans le sol.
- ✓ La deuxième partie englobe l'ensemble des méthodes et le matériel nécessaire pour réaliser des analyses sur les échantillons testés : isollements, purifications, identifications des microorganismes et test d'antagonisme.
- ✓ La troisième partie expose les résultats obtenus suivi d'une conclusion générale.



**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE 1. LE SOL

### 1. Généralité sur le sol

Le sol, en géologie et en sciences de l'environnement, est la couche supérieure de la croûte terrestre qui se forme par l'accumulation de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes vivants. Il est un élément essentiel de l'écosystème terrestre et joue un rôle crucial dans le maintien de la vie et dans de nombreux processus géologiques, écologiques et agricoles (Brady et Weil, 2016).

### 2. Caractéristiques générales des phases du sol

Le sol est constitué de trois phases : solide, liquide et gazeuse. Leurs proportions sont variables en fonction, notamment, de leur état hydrique et des contraintes mécaniques qu'ils subissent.

#### La phase solide du sol

Elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. On pourrait considérer les organismes vivants du sol comme une partie de la phase solide, puisqu'ils ne sont ni gazeux ni liquides (Calvet, 2003).

On distingue deux fractions dans le sol :

#### Fraction minérale

Les minéraux constituent, en général, de 95 à 99% du sol. La composition minérale dépend de la nature de la roche-mère. La nature des minéraux peut être extrêmement diverse avec des tailles granulométriques différentes (Quenea, 2004) : sable ( $\emptyset = 2000$  à  $50 \mu\text{m}$ ), limon ( $\emptyset = 50$  à  $2 \mu\text{m}$ ) et argile granulométrique ( $\emptyset < 2 \mu\text{m}$ )

#### Fraction organique

La fraction organique d'un sol est constituée à plus de 80% de matière organique morte constituée de résidus de plantes et d'animaux en état de décomposition naturelle (Paulet *al.*, 1996). On trouve aussi des organismes vivants : des bactéries dont beaucoup d'actinomycètes, des champignons et une microfaune formée de protozoaires, nématodes, insectes, vers de terre (Quenea, 2004).

#### La phase liquide du sol

La phase liquide du sol n'est pas de l'eau pure mais une solution dont la composition est complexe et très variable. On la désigne par l'expression « solution du sol ». Elle contient de très nombreuses substances dissoutes organiques et inorganiques, ionisées et non. D'une façon

générale, la solution du sol est difficile à décrire et à étudier en raison de sa très grande variabilité spatiale et temporelle, de sorte qu'il n'existe pas de composition type (Gliński *et al.*, 2011).

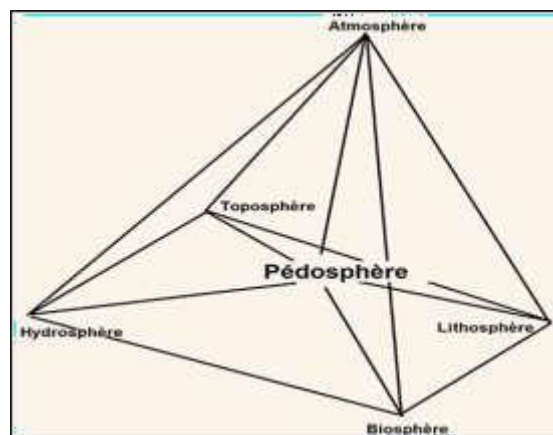
La solution du sol est principalement une solution d'électrolytes, généralement peu concentrée et dont la molarité totale est souvent de l'ordre de  $10^{-3}$  à  $10^{-5}$  mol/L. Elle contient également des ions  $H^+$  et  $OH^-$  dont les concentrations déterminent la réaction du sol caractérisée par le pH (Atlas *et al.*, 1992).

### **La phase gazeuse du sol**

La phase gazeuse du sol est souvent appelée l'atmosphère du sol. Sa composition est souvent voisine de celle de l'air mais elle peut être très variable dans l'espace et dans le temps. Elle dépend principalement de deux facteurs, la proximité de l'atmosphère, c'est-à-dire la profondeur dans le sol et l'activité biologique. L'air du sol contient en général les mêmes substances que l'air atmosphérique mais sa composition peut être très différente en raison, en particulier, de l'activité biologique. Les sols bien aérés contiennent environ 180 à 205 ml d' $O_2$  par litre d'air mais cette teneur peut être abaissée à 100 ml ou moins dans les sols inondés et dans des microenvironnements alentours des racines des plantes (Atlas *et al.*, 1992).

### **3. Services fournis par les sols**

Le sol se situe à l'interface de : l'atmosphère, de l'hydrosphère (les eaux continentales, voire marines), de la biosphère (végétaux, microorganismes, animaux, dont l'homme : anthroposphère), de la lithosphère (les formations géologiques) et de la troposphère (relief) (Fig.1).



**Figure 1. La couverture pédologique en interface avec les autres grands compartiments de la planète Terre.**

Par les nombreuses fonctions essentielles qu'il exerce en interactions avec ces compartiments, le sol joue un rôle majeur dans le fonctionnement général de la planète Terre. À ce titre, et s'il est géré correctement, il fournit des services qui profitent aux sociétés humaines. On distingue généralement les services suivants (Mea, 2005) :

- Les services de support. Il constitue le support des animaux (dont l'homme) et des végétaux. Si son fonctionnement est opérant, la ressource qu'il représente autorise l'efficacité de tous les autres services décrits ci-dessous.
- Les services d'approvisionnement. Le sol, comme ressource agricole (au sens large), fournit des aliments (végétaux et animaux) et des fibres ; comme ressource génétique, il abrite un patrimoine biologique encore mal connu mais très diversifié et qui fournit notamment, des produits biochimiques et pharmaceutiques ; comme ressource en « terre », il fournit des matériaux de construction.
- Les services de régulation. Le sol permet de réguler la qualité de l'air et des eaux, de lutter contre de nombreuses pollutions, contre les érosions hydrique et éolienne, contre la sécheresse et contre les inondations ; il permet de participer à la lutte contre l'effet de serre, et constitue un site de stockage de divers éléments et, par filtrage assure la dépollution de nombreux contaminants ; il recycle certains déchets et permet la régulation des ravageurs de cultures.

#### **4. La rhizosphère**

Cette zone est réduite à une ou deux dizaines de centimètres d'épaisseur sous des pelouses ou des prairies, mais elle est parfois beaucoup plus épaisse dans les forêts des zones tempérées. Cette région est caractérisée par sa biodiversité microbienne, et notamment sa richesse en bactéries et champignons microscopiques (Philippot *et al.*, 2013).

La rhizosphère est un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral, c'est dans la rhizosphère que par le biais des racines, le végétal s'ancre dans le sol, y puise les ressources minérales (cations, anions) et l'eau qu'il utilise pour sa croissance et sa régulation thermique, par le processus d'évapotranspiration (Jones et Oburger, 2011).

Plusieurs études ont montré une densité et une activité microbienne très intense à proximité des racines de plantes. Cette microflore se compose majoritairement d'espèces qui sont parfois difficiles à observer et surtout à isoler. De nombreuses bactéries interviennent surtout dans la lyse des polymères végétaux tels que la cellulose et la lignine, ainsi que dans la dégradation et la fixation des éléments minéraux, notamment la fixation de l'azote (Bulgarelli *et al.*, 2020).

## **5. Rôles des légumineuses**

Les légumineuses constituent une des familles les plus abondantes et diversifiées des plantes supérieures avec plus de 650 genres et 18000 espèces (Sebihi, 2008). Cette famille comprend des espèces des formes herbacées se rencontrent surtout dans les régions tempérées et les formes arborescentes dans les régions chaudes (Michel *et al.*, 2005). Elle présente des nodules sur leurs racines dans lesquels se trouvent les bactéries, fixant l'azote atmosphérique (Murielle et Daniel, 2004).

Les légumineuses présentent une importance économique majeure, de nombreuses espèces constituent des ressources en fourrage tel que la luzerne (*Medicago sativa*), l'aliment Soja (*Glycine max* L.), Haricot (*Phaseolus sp.*), Arachides (*Arachis hypogaea* L.) et Horticoles (*Mimosas*) ou présentent des propriétés médicinales (Sebihi, 2008).

Les légumineuses jouent un rôle clé en introduisant de l'azote. La culture des légumineuses ne nécessite pas ou peu l'apport d'engrais azotés, elle permet de réduire les apports azotés sur la culture suivante de la rotation. Les Romains avaient déjà observé ce rôle bénéfique des légumineuses et les civilisations précolombiennes avaient généralisé la culture en association d'une légumineuse par exemple le haricot (*Phaseolus sp.*) avec une céréale comme le blé (*Triticum durum*) (Anonyme, 2000).

Les légumineuses jouent également un rôle important dans le maintien de la fertilité des sols agricoles, elles sont utilisées en rotation ou en association dans les systèmes de culture, Elles apportent une certaine contribution en azote, en fixant et en intégrant une partie de l'azote atmosphérique dans le système (Sebihi, 2008).



## **Chapitre 2. La microflore du sol**

La microflore du sous-sol superficiel, bien que composée en majorité de procaryotes, révèle cependant des organismes eucaryotes tels que algues, champignons et protozoaires. Pour Balkwill et Ghiorse (1985), les formes microscopiques d'un profil de sol de 6,5 mètres de profondeur contiennent 85 à 90% d'espèces procaryotiques.

### **1. Microorganismes eucaryotes**

#### **Les protozoaires**

Ce sont des organismes unicellulaires dont la taille varie de quelques micromètres à quelques millimètres. En fonction de leur moyen de locomotion, leur classification s'organise en trois groupes selon Alexander (1982) :

(1) les flagellés, d'une taille maximale de 20 micromètres de longueur, possèdent 1 à 4 flagelles. (2) Les ciliés, d'une longueur comprise entre 10 et 80 micromètres, ont des cils implantés tout autour de la cellule. (3) Les amibiens qui se déplacent par l'intermédiaire de pseudopodes.

#### **Les champignons**

Les champignons du sol sont des microorganismes filamenteux, hétérotrophes et ubiquistes. Ils représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre, qui jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007), notamment dans le recyclage des matières organiques, en puisant leur énergie à partir des sources carbonées externes. Ces microorganismes sont très répandus dans la nature, généralement au niveau des végétaux en décomposition (Lecellier, 2013). Il est nécessaire d'accroître la compréhension de la diversité taxonomique des champignons dans un milieu donné. La compréhension de la diversité génétique et taxonomique permettra de déterminer la diversité fonctionnelle fongique et les processus éco systémiques (Zak *et al.*, 1994).

#### **Les levures**

Peu d'études concernent les levures. D'après Alexander (1977), en sol de surface, des comptages de levures de l'ordre de  $2 \times 10^2$  à  $10^5$  cellules  $g^{-1}$  de sol ne sont pas inhabituels. 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).

### **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).

## **2. Microorganismes procaryotes**

### **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).

### **Actinomycètes**

Ce sont des microorganismes qui produisent des filaments fins et ramifiés dont le diamètre est équivalent à celui des bactéries, compris entre 0,5 et 1 micromètre (Alexander, 1977). Balkwill (1989), détecte des actinomycètes jusqu'à une profondeur de 265 mètres.

## **3. Les virus**

Ils sont des parasites intracellulaires obligatoires, c'est-à-dire nécessitent leur cellule hôte pour se reproduire (Tortora *et al.*, 2003). Les virus parasitent plusieurs micro-organismes du sol tels que : les bactéries, les champignons, les cyanobactéries et même les actinomycètes. Leur importance écologique est encore mal connue mais ils sont impliqués dans les échanges génétiques (Roger et Garcia, 2001).

#### **4. Origine de la colonisation microbienne du sous-sol**

A propos de l'origine de la colonisation microbienne du sous-sol, Sargent et Fliermans (1989), avancent 2 hypothèses : le transport des microorganismes du sol de surface par percolation et la colonisation du sous-sol par les microorganismes au cours des dépôts sédimentaires.

La première hypothèse semblerait la plus plausible dans le cas d'une colonisation de la zone non saturée du sous-sol superficiel. Grâce aux travaux sur la porosité des sols rapportés par McNabb et Dunlap (1975), l'espace interstitiel total dans le sous-sol, serait suffisant pour la croissance des microorganismes et leur transport à travers le sol. L'origine des bactéries présentes dans le sous-sol profond, au-delà de 10 mètres de profondeur, diffère de la précédente. D'après des études comparatives de profils biochimiques menées par Balkwill *et al.* (1989), les sédiments profonds et le sol de surface sont peuplés par des souches bactériennes distinctes. Seulement 3% des isolats du sol de surface présentent les mêmes caractéristiques physiologiques que les isolats bactériens des horizons de sol à 260 mètres de profondeur. De même, Hazen *et al.* (1991), ont montré l'absence d'homologies entre l'ADN issu d'isolats bactériens du sous-sol (Jimenez, 1990), et celui issu de 23 bactéries isolées de l'eau souterraine. Ces observations démontrent une colonisation du sous-sol profond au cours des dépôts successifs de sédiments (Bone et Balkwill, 1988 ; Balkwill *et al.*, 1989), et un transport des microorganismes par l'eau d'alimentation des aquifères (Hazen et Jiménez, 1988).

## **Chapitre 3. Les champignons du sol**

### **1. Définition**

Les champignons constituent l'un des groupes d'Eucaryotes les plus importants qui jouent un rôle clé dans les cycles des éléments nutritifs et du carbone dans les écosystèmes terrestres (Tedersoo *et al.*, 2018).

Le monde des champignons forme un règne vaste, diversifié et ubiquiste ; il est reconnu par des caractères propres, comme un monde vivant à part, un règne à part parmi les règnes vivants, ni végétal, ni animal, mais fongique. Un des caractères importants qui le distingue des végétaux est la composition de ses parois cellulaires, faites-en majeure partie de chitine, une chitine proche de celle des arthropodes. Ils sont hétérotrophes comme les animaux (Kiffer et Morellet, 1997).

### **2. Mode de vie**

Toutes les espèces des champignons sont absorbotrophes. L'alimentation se fait par absorption transmembranaire d'oligo-éléments, de sels ou de molécules organiques par transport actif ou par diffusion passive. Plusieurs modes de vie découlent de cette caractéristique sont ainsi observés (Canard *et al.*, 2016).

#### **Saprophytisme**

Le saprophytisme se caractérise par la capacité d'un être vivant de se nourrir à partir de la matière organique morte, dont il absorbe les éléments nutritifs prédigérés grâce à l'excrétion d'enzymes extracellulaires. Les champignons saprophytes, en décomposant la litière organique, produisent l'humus.

La plupart des champignons dits « épiphytiques » retrouvés à la surface de la plupart des plantes supérieures (phyllo plan) et de la litière organique, sont des saprophytes généralistes. Lors de la sénescence de ces plantes, les épiphytes saprophytes finissent par pénétrer la plante pour la décomposer (Canard *et al.*, 2016).

#### **Parasitisme**

Ce mode de vie des champignons se caractérise par la capacité d'un individu issu du règne des Fungi, à tirer des éléments nutritifs provenant d'un autre organisme. Cette interaction se fait au détriment de l'organisme parasité, qui est alors victime de symptômes du fait de la présence du parasite. Le parasitisme est délétère pour l'hôte et indispensable pour le parasite. Les champignons parasites peuvent être nécrotrophes ou biotrophes (Canard *et al.*, 2016).

## **Symbiose**

Le terme symbiose a été défini par le botaniste allemand de Barry (1889) comme toute relation de vie en commun quelle que soit la nature de cette relation. C'est une association à bénéfices réciproques entre deux organismes taxonomiquement différents. Il existe des relations symbiotiques entre plantes et champignons (Durrieu, 1993).

## **3. Clade des champignons**

Les champignons forment un règne diversifié. Ce sont des organismes ubiquistes, retrouvés dans tous les écosystèmes et dotés d'activités biologiques bénéfiques (Bills et Polishook, 1991 ; Hawks Worth, 2004).

Ce règne est rangé en une dizaine de phylums dont les *Chytridiomycota*, les *Zygomycota*, les *Glomeromycota*, les *Basidiomycota* et les *Ascomycota*. Ces deux derniers (classés dans le sous règne des *Dikarya*) rassemblent la grande majorité des espèces décrites à ce jour (Mc Laughlin *et al.*, 2009 ; Blackwell, 2011). La classification est régulièrement revue et mise à jour. Les écologues végétaux, microbiens et fongiques testent généralement l'importance des variables environnementales sur la diversité fongique au niveau des ordres, des classes ou des phylums, mais pas de leurs sous-banques ou de différents rangs mélangés pour des raisons de simplicité et afin d'éviter la confusion (Tedersoo *et al.*, 2014). En 2018, Tedersoo a proposé un schéma de classification de niveau supérieur actualisé pour les champignons et un arbre de classification prenant en compte les phylogénies publiées, les temps de divergence et le critère de monophylie (Fig.2).

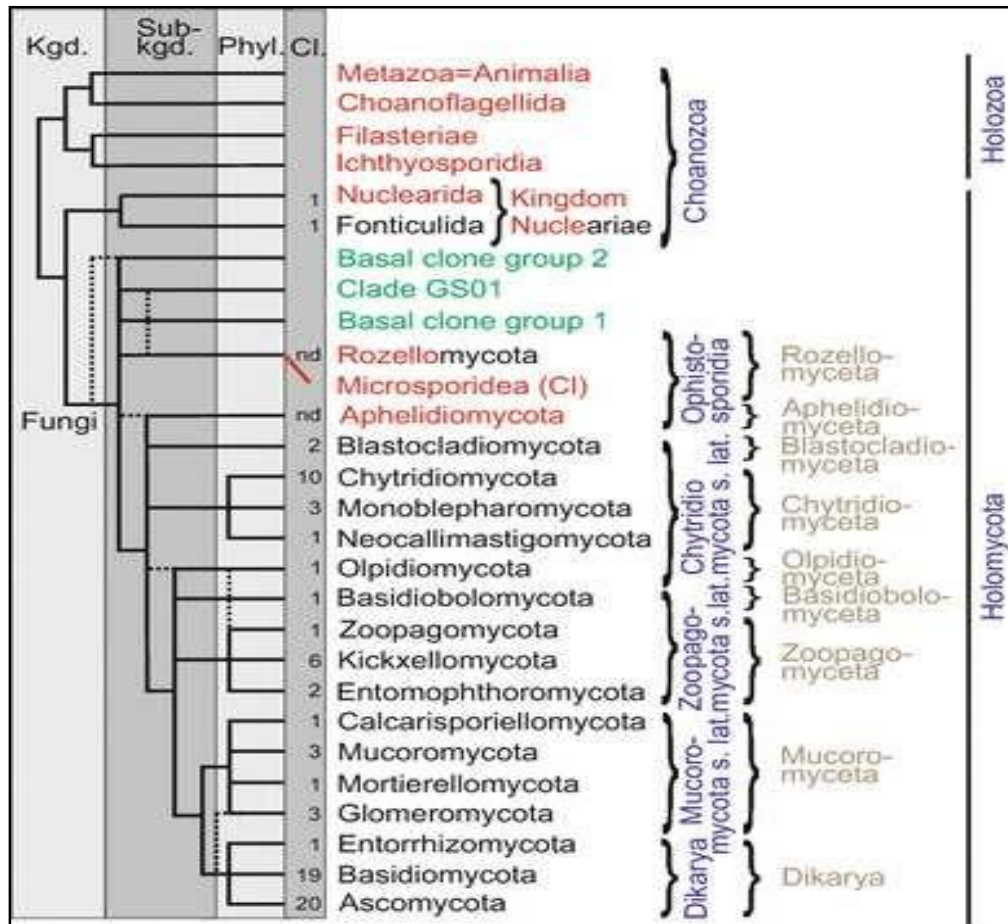


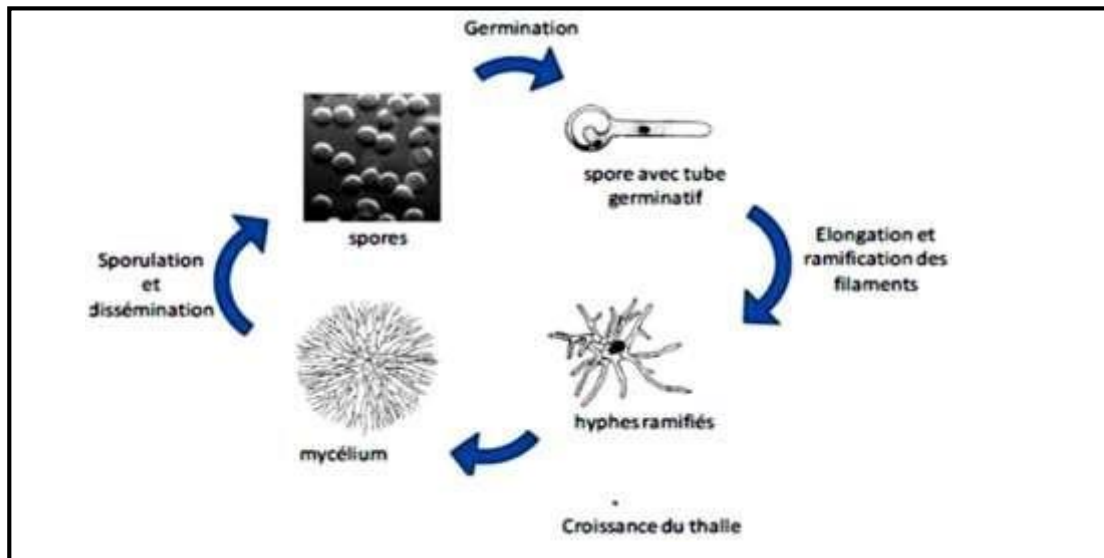
Figure 2. Classification mise à jour du niveau de *phylum* des champignons (Tedersoo, 2018).

#### 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 3. Cycle de vie des moisissures.**

## **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. Les deux noyaux vont fusionner lors de la caryogamie puis la méiose va convertir une cellule diploïde en quatre cellules haploïdes. 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 (Schüber *et 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 (Vandenkoornhuyse *et 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).

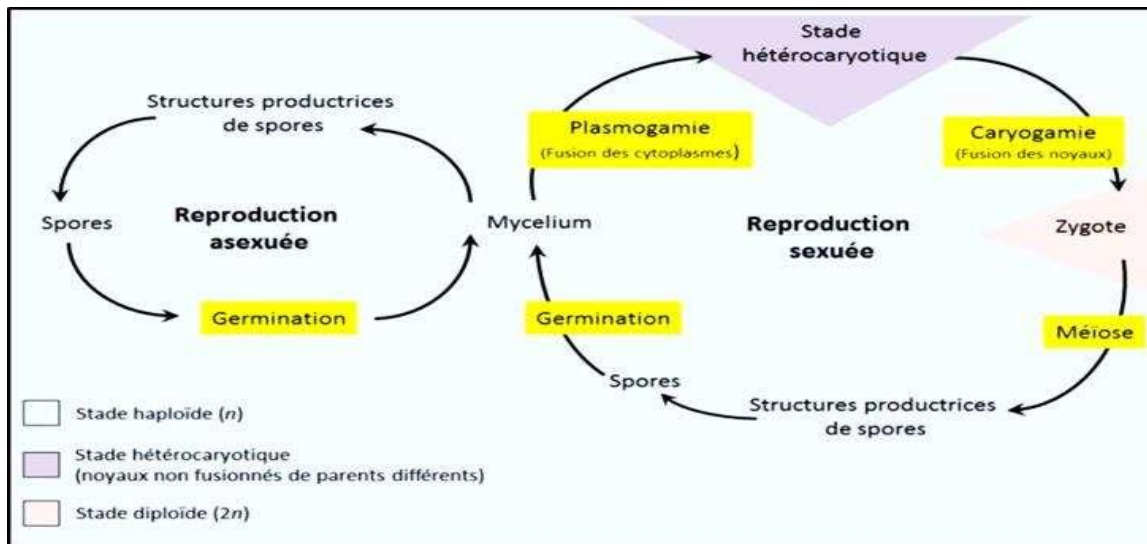


Figure 4. Modes de reproduction chez les champignons .

## 6. Conditions de croissance des champignons

### 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).



### **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 ; Nicklinet *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 ; Nicklinet *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 (Nicklinet *al.*, 1999).

### **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 ( $\text{NH}_4^+$ ) 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).

### **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 (Uchicoba *et 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).

### **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 :

### **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 thermo tolérantes 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 *Helicostylumpulchrum*, *Chrysosporiumpannorum* et *Cladosporiumherbarum*, ces espèces peuvent survivre même à -60°C, on les rencontre dans des entrepôts frigorifiques (Davet, 1996 ; Botton *et al.*, 1999).

### **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).

### **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).

### **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'autre espèces moins exigeantes sont micros aérophiles peuvent se développer en profondeur comme

*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus fumigatus*. D'autres champignons peuvent même supporter une anaérobiose très stricte comme *Neocallimastix* (Bourgeois, 1989 ; Botton *et al.*, 1999)

### **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).

### **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. Principaux groupes de champignons**

### **Chytridiomycota**

Les *Chytridiomycota* regroupent des espèces fongiques produisant des spores uniflagellées (zoospores) constituant la lignée évolutive la plus ancienne des champignons et ils témoignent d'une vie majoritairement aquatique (James *et al.*, 2006). Ce groupe comprend 4 ordres, 13 familles, 99 genres et près de 686 espèces (Kirk *et al.*, 2008 *In* Lee *et al.*, 2012).

### **Zygomycota**

Les *Zygomycota* étaient traditionnellement organisé en un seul phylum et deux classes, *Zygomycètes* et *Trichomycètes*. Les deux classes partagent des caractéristiques communes comme le mycélium coénocytique. Ils se reproduisent de façon asexuée par les endospores immobiles formés dans des sporanges, sporangiola (petit sporanges) ou par la formation de chlamydospores, arthrospores et les cellules de levure, et sexuellement par la formation des zygospores dans les zygosporangia après la fusion gamétangiale ou des zygospores sans conjugaison préalable (Taylor *et al.*, 2015). Leur principale caractéristique générale est la production d'une spore au repos à paroi épaisse (zygospore) au sein d'un zygosporange

communément orné, formé après la fusion de deux hyphes spécialisés appelés gamétanges (Fig.5). Le phylum est très diversifié sur le plan écologique, et très répandu, la plupart des espèces étant saprotrophes dans le sol et les excréments (Araújo *et al.*, 2016). Ce groupe contient plusieurs genres tels que le genre *Rhizopus*.

### **Glomeromycota**

Les *Glomeromycotas* sont plus proches des *Dikarya* (*Ascomycota* et *Basidiomycota*). Ce sont principalement des champignons aseptés, ce qui signifie qu'ils forment rarement des cloisons (ou septa), pour diviser les hyphes en cellules. Ils se reproduisent asexuellement par la formation des spores. Lorsque les conditions sont favorables, les spores germent et développent un mycélium court pour tenter de trouver une racine hôte convenable (Roehl, 2017). Tous les *Glomeromycota* forment des mycorhizes arbusculaires (AM) avec diverses plantes terrestres. Ce sont des symbiotes obligatoires, ce qui signifie qu'ils ne peuvent pas survivre sans leur partenaire photosynthétique (Roehl, 2017).

Ils sont subdivisés en 3 classes : *Archaeosporomycètes*, *Glomeromycètes* et *Paraglomeromycètes* et 5 ordres : *Archaeosporales*, *Diversisporales*, *Gigasporales*, *Glomerales* et *Paraglomerales*. 15 familles et 38 genres ont été décrits. Les espèces les plus connues appartiennent à la famille des *Glomeraceae*, dont le genre *Glomus* est le plus utilisé dans les travaux d'expérimentation (Mechiah, 2015).

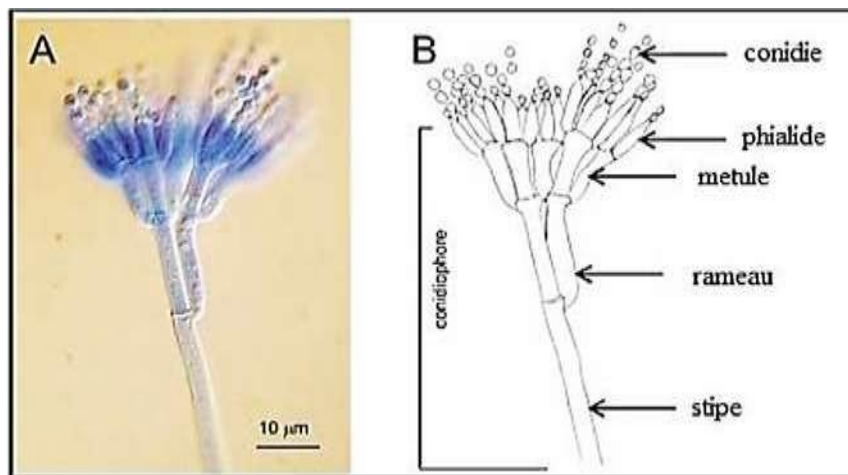
### **Dikarya**

Les *Dikarya* sont constitués des *Ascomycota* et des *Basidiomycota* et représentent la majorité des espèces de champignons décrites (Le Calvez, 2009). Ils sont unis par la possession d'hyphes cloisonnées et une étape de la vie dicaryotique, mais différents dans les structures impliquées dans la méiose et la sporulation (Lutzoni *et al.*, 2004).

### **Ascomycota**

Les *Ascomycota* constitue le plus grand phylum de *Fungi* (Le Calvez, 2009), et l'un des phyla les plus divers et omniprésents des Eucaryotes et constituent la quasi-totalité des champignons capables de former des associations lichéniques. Ils sont filamenteux avec septa simples et un thalle multicellulaire (Hibbett *et al.*, 2018). Chez la plupart des espèces de cet embranchement, la reproduction asexuée est généralement assurée par des conidies plurinucléées. Les conidies se forment à partir de cellules conidiogènes qui naissent au sommet d'hyphes modifiées appelées conidiophores (Raven *et al.*, 2018). Ils forment des ascospores après une caryogamie et une méiose (Sénéquier-Crowet *et al.*, 2016).

Le cycle de développement sexué comporte la production de cellules particulières, les asques (Lanier *et al.*, 1978). L'appareil fructifère des Ascomycètes est un ascocarpe, divisés en 3 catégories : les cléistothèces (ascocarpes globuleux, clos), les périthèces (ascocarpes plus ou moins en forme de bouteille présentant un ostiole par lequel les spores sont expulsées) et les apothécies « ascocarpes ouverts, en forme de coupe, portant des asques en surface » (Botton *et al.*, 1990). Ce groupe comprend plusieurs genres tels que : *Penicillium*, ce genre présent des hyphes hyalins qui portent des conidiophores simples ou ramifiés, parfois regroupés en buissons ou corémie. Les phialides sont disposés en verticilles.



**Figure 5. *Penicillium brevicompactum*. (A) micrographie d'un conidiophore mûr coloré avec du bleu de coton ; (B) dessin de conidiophore et de conidies (Peterson *et al.*, 2006).**

L'*Aspergillus*, est un autre exemple de champignons Ascomycètes. C'est un champignon filamenteux, dont le thalle est hyalin, il présente un mycélium cloisonné, portant de nombreux conidiospores dressés, terminés en vésicule. Ils se développent sur la matière organique en décomposition dans le sol, le compost, les denrées alimentaires (Botton *et al.*, 1990). Il est ubiquiste, occupe tous les sols y compris ceux des régions arides. C'est un champignon xérophile, pouvant survivre dans les régions où les précipitations sont très faibles, voir rares. Il a été isolé des sols désertiques du Mexique, Chili, Argentine, Arabie Saoudite et Iraq (Benfoddil, 2015) voir figure 6.

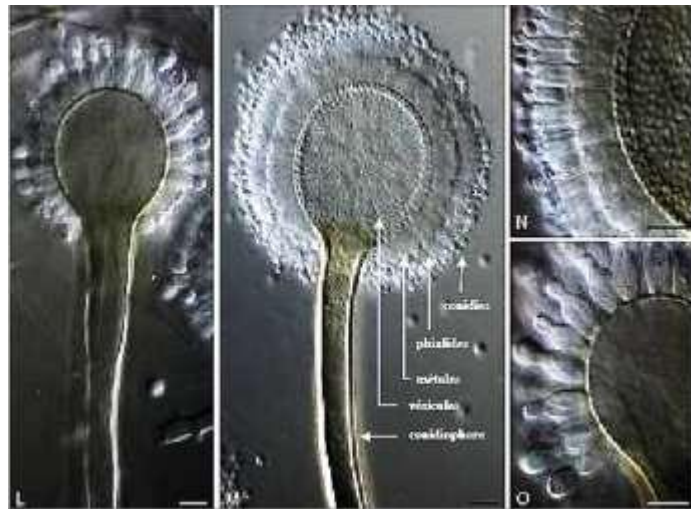


Figure 6. *Aspergillus* (A) micrographie d'un conidiophore mûr coloré avec du bleu de coton ; (B) dessin de conidiophore et de conidies (Peterson *et al.*, 2006).

### Basidiomycota

Les membres du phylum des *Basidiomycota* ont une morphologie fongique typique, Ils ont souvent de grandes fructifications (Wellehan *et al.*, 2019). Ils regroupent des champignons possédant des thalles unicellulaires ou pluricellulaires filamenteux septés. Ils forment en cas de reproduction sexuée des cellules différenciées appelées basides, qui produisent des basidiospores après une caryogamie et une méiose. Ces spores sont formées par bourgeonnement et sont portées à l'extérieur de la baside par de petites pointes appelées stérigmates (Sénéquier-Crozet et Canard, 2016). Parmi les autres caractéristiques des Basidiomycètes, on peut citer les excroissances hyphales appelées connexions à pince et la présence d'une phase dikaryone dans le cycle de vie, une condition dans laquelle chaque cellule du thalle contient deux noyaux (Taylor *et al.*, 2009).

Les *Basidiomycota* jouent un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes à plusieurs niveaux et sont les principaux décomposeurs de différents éléments du bois, y compris la lignine (Taylor *et al.*, 2015).

## 8. Rôles et interactions plantes-champignons du sol

Les champignons du sol font partie des groupes taxonomiques les plus abondants et les plus diversifiés sur terre. Ce sont des pathogènes et des symbiotes mutualistes des plantes et des animaux et jouent des rôles essentiels dans des écosystèmes tels que la pédogenèse et les cycles des éléments nutritifs. Compte tenu de leur contribution importante aux processus terrestres clés, les informations relatives à leur écologie et à leur biogéographie sont d'une importance

primordiale pour prioriser les efforts de conservation et de gestion au niveau de l'écosystème (Egidi *et al.*, 2019).

Néanmoins, les livres de vulgarisation générale et les manuels enseignent que les champignons sont les plus importants des agents de décomposition du bois (Henry, 2013).

Les champignons décomposeurs permettraient aujourd'hui de répondre à plusieurs attentes actuelles, notamment en termes de développement durable. Grâce à leurs enzymes ils pourraient avoir des applications en bioremédiation et plus particulièrement un rôle dans la dépollution des sols ou dans la réduction de la toxicité de déchets industriels. La capacité de ces champignons de produire un grand nombre d'enzymes est une piste pour leurs utilisations en biotechnologie comme la production de bioéthanol, la réduction de l'utilisation de produits chimiques et la chimie verte (Deroy, 2015).

La biodégradation de la cellulose est un des paramètres majeurs contrôlant le cycle du carbone sur terre. Elle est assurée exclusivement par des microorganismes du sol, et plus particulièrement par les champignons qui secrètent des enzymes hydrolytiques afin d'accéder à leur principale source de nutriments, qui se trouve sous la forme de polymères glucidiques tel que la cellulose (Carlilet *et al.*, 1997). Les Fungi sont les transformateurs les plus actifs de la lignine, ils sont aussi les producteurs les plus actifs de l'humus stable trouvé en forêts. Comme la plupart des êtres vivants, les champignons sont des véritables usines enzymatiques (Staehli, 2016). Grâce à un réseau de mycélium presque infini, l'ensemble de ces filaments fongiques renforce également la cohésion du sol (Staehli, 2016).

Ces champignons trouvent dans la lignine et ses sous-produits, à la fois sources d'énergie et certains des nutriments dont ils ont besoin pour leur croissance et leurs multiplications. Ils mobilisent et fixent l'azote gazeux dont ils ont besoin, comme tous les autres êtres vivants. Les champignons servent aussi de nourriture aux micro-acariens et aux collemboles (Henry, 2013).

Les champignons possèdent également un système intracellulaire de détoxification impliqué dans l'élimination des composés potentiellement toxiques générés lors de la dégradation du bois, mais aussi tous autres composés xénobiotiques. Les enzymes impliquées dans la détoxification quant à elles présentent un grand intérêt en bioremédiation par exemple (Deroy, 2015). En effet certains champignons comme *Cunningham ellabainieri*, possèdent la capacité de métaboliser des molécules toxiques comme l'anisole ou le naphthalène. Ces deux systèmes impliqués dans la dégradation du bois notamment chez les Agaricomycotina, font de ces champignons des

modèles d'étude intéressants pour comprendre l'adaptation de ces champignons à leur environnement (Deroy, 2015).

Les champignons du sol peuvent aider les plantes à tolérer et supporter les facteurs de stress biotiques et abiotiques (stress hydrique, salin, hautes températures, ...etc), en augmentant la réponse de la défense de l'hôte contre les agents phytopathogènes (Herre *et al.*, 2007). Ils peuvent aussi offrir une protection aux plantes contre d'autres bioagresseurs.

Ces microorganismes participent également à structurer le sol, les réseaux d'hyphes fongiques stabilisant les agrégats (Beare *et al.*, 1997). Cependant, les champignons restent largement négligés d'un point de vue de la caractérisation de leur diversité spécifique, mais aussi de leur rôle fonctionnel, notamment dans les sols agricoles (Deacon, 2006).





**PARTIE PRATIQUE**

## I MATERIEL ET METHODES

Cette étude porte sur l'identification des microorganismes présents dans certains sols agricoles dans le nord-est de l'Algérie. La partie pratique de cette recherche est menée au laboratoire de recherche INRAA-Unité de Recherche de Constantine.

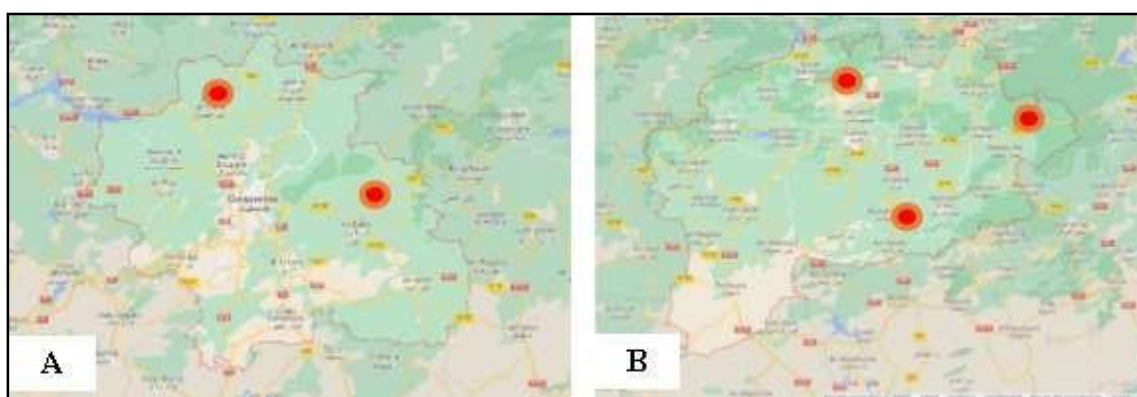
### 1. Méthode d'échantillonnage

Les échantillons du sol sont prélevés à partir de (02) wilayas du Nord-est algérien soit Guelma et Constantine. 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. Le nombre d'échantillons est de (03) pour Guelma et de (02) pour 1 wilaya de Constantine (Tab.1).

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 1. Echantillons de sol**

| N° de l'échantillon | Wilaya      | Culture   | pH   |
|---------------------|-------------|-----------|------|
| E.01                | Guelma      | Lentilles | 8,47 |
| E.02                | Guelma      | Lentilles | 8,22 |
| E.03                | Guelma      | Fabacée   | 8,23 |
| E.04                | Constantine | Fève      | 8,92 |
| E.05                | Constantine | Lentilles | 8,59 |



**Figure 7. Zones d'échantillonnage (A) Constantine (B) Guelma.**

## **2. Mesure du pH des sols**

A partir des 5 échantillons, des suspensions de sol ont été préparées à raison de 20 g de sol pour un volume de 50 ml d'eau distillé. Après une bonne agitation (30min), les valeurs du pH des différentes suspensions sont évaluées l'aide d'un pH mètre.

## **3. 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 pour cela trois milieux de cultures sont utilisés : Milieu de pomme de terre d'extrorse agar (PDA), Sabouraud et (International Streptomyces Project) ISP 2.

### **Le milieu de culture PDA**

Milieu de pomme de terre d'extrorse agar (PDA) chloramphénicol (0,25 g/l) pour inhiber toute prolifération bactérienne (Botton *et al.*, 1990). Ce milieu est composé de (Pomme de terre 200g, Glucose 20g, Agar 20g, L'eau distillée 1000ml). La préparation se fait selon les étapes suivantes :

- Laver la pomme de terre non pelée.
- Couper en cubes dans 500 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pendant 30 – 45 min.
- D'autre part faire fondre l'agar dans 500 ml d'eau distillée.
- Écraser la pomme de terre, filtrer puis ajouter le filtrat à la solution d'agar.
- Ajouter le glucose.
- Compléter le volume à 1000 ml.
- Ajuster le pH=  $6,4 \pm 0,2$  à 25°C.
- Stériliser par autoclavage à 121°C/15 min.

### **Le milieu de culture Sabouraud**

La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes ; Ce milieu est composé de : Peptone pepsique de viande 10g, Glucose 35g, 15g d'Agar et 1000ml d'eau distillée.

### Le milieu de culture ISP

Milieu de culture recommandé pour l'isolement des actinomycètes. Sa composition selon Ara *et al.* (2012) est : Peptone 5g, Extrait de levure 3g, Agar 20g, Eau distillée 1000 ml, le tout ajuster au pH 7,2



**Figure 8. Préparations les milieux de cultures utilisés. (A) pesage des composants ; (B) mise en flacons autoclavables après mesure du pH ; (C) stérilisation liquide à l'autoclave 20min à 120°C ; (D) le milieu est versé dans des boîtes de Pétri en conditions stériles**

#### 4. Technique d'isolement des microorganismes du sol

L'isolement des microorganismes (champignons et actinomycètes) est réalisé selon la méthode de suspension dilutions décrite par Kiddir (2018). Le but de cette méthode est la diminution de la charge microbienne par dilution de l'échantillon de sol analyser est réalisée dans le but d'une purification ultérieure plus aisée et l'obtention de colonies bien séparées à partir des cultures mixtes.

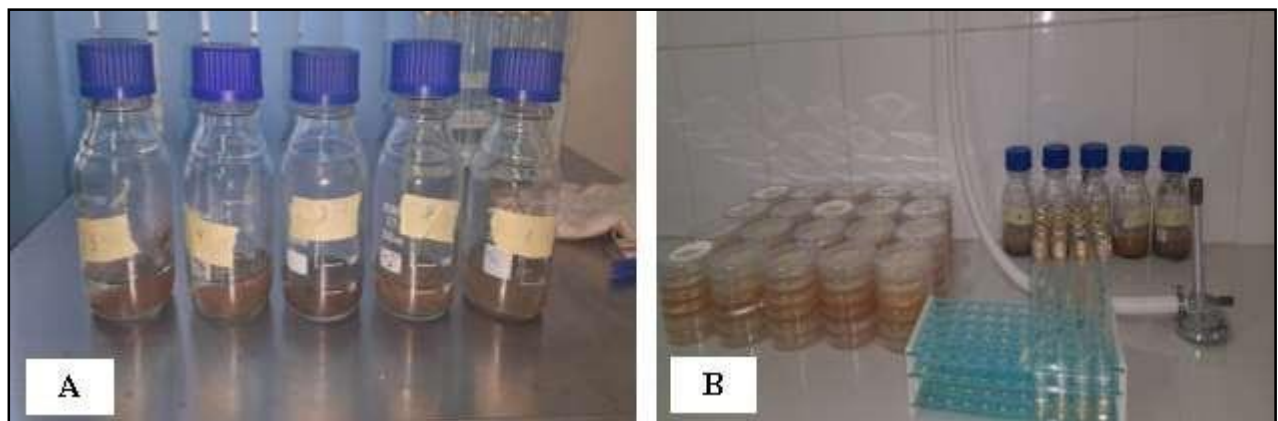
##### Ensemencement sur milieu de culture

Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée (Fig.9 ; 10). Ensuite, la suspension mère est

préparée en mélangeant 1g de chaque échantillon avec 9 ml d'eau distillée stérile (Rappily, 1968). Le mélange est homogénéisé l par agitation du flacon de prélèvement pendant 30min.

A l'aide d'une pipette graduée, 1ml de la solution mère est prélevé et additionner à 9ml d'eau distillée stérile dans un tube à essai, permettant ainsi d'obtenir une suspension microbienne diluée à  $10^{-1}$  par rapport à la suspension mère.

De la même manière 1ml de la suspension  $10^{-1}$  agitée à l'avance à l'aide d'un vortex, avec une micropipette, et diluer dans un second tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, pour arriver à une dilution de  $10^{-2}$ . Ainsi de suite, pour chaque dilution, pour arriver à diminuer la charge microbienne de l'échantillon mère à l'exponentiel de  $10^{-4}$ .



**Figure 9. Préparations les milieux de cultures utilisés. (A) pesage des composants ; (B) mise en flacons autoclavables après mesure du pH ; (C) stérilisation liquide à l'autoclave 20min à 120°C ; (D) le milieu est versé dans des boîtes de Pétri en conditions stériles**

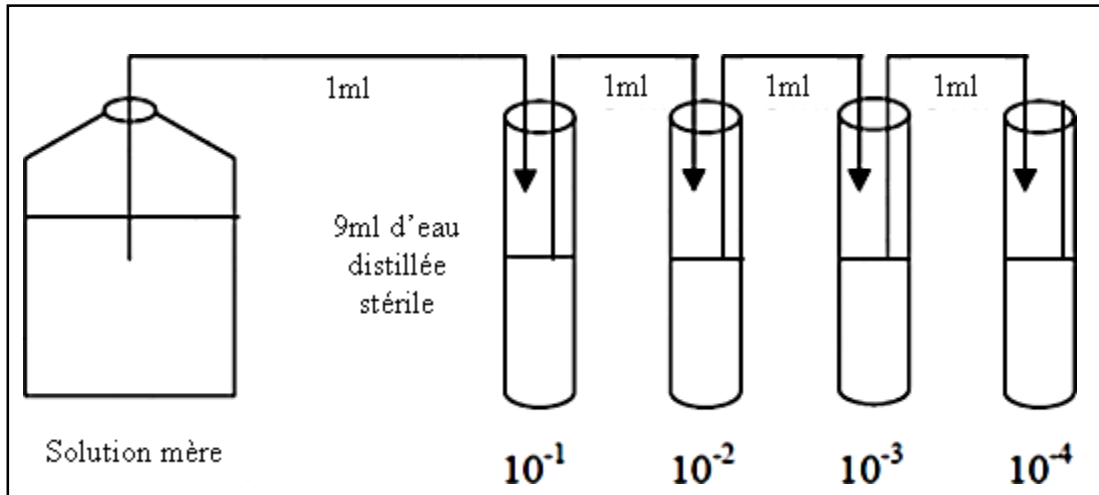
### **Ensemencement sur milieu solide**

À l'aide d'une micropipette, 1 ml de chaque dilution est prélevé puis ensemencé sur les trois milieux de culture (PDA, Sabouraud, ISP2) 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 15 jours (Fig.11).

### **Dénombrement des colonies et purification**

Après 15 jours d'incubation plusieurs colonies de différents aspects apparaissent dans la même boîte de Pétri. Les colonies sont dénombrées et caractérisées d'une manière préliminaire pour réaliser les purifications (Fig.17). L'obtention de colonies pures est réalisée en effectuant une série de repiquages successifs.

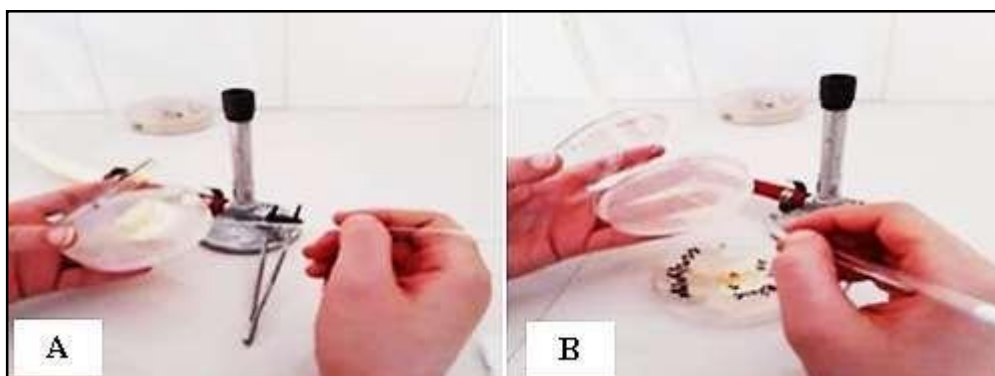
La purification se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une pipette Pasteur stérilisée. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant le milieu d'ensemencement d'origine. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 7 jours à 25°C.



**Figure 10. Méthode de suspension dilutions.**



**Figure 11. Technique d'ensemencement et incubation. (A) Ensemencement sur milieu solide ; (B) Incubation à l'étuve.**



**Figure 12. Technique de purification. (A) Prélèvement des isolats ; (B) Ensemencement dans une nouvelle boîte de Pétri.**

## 5. Identification des microorganismes

### Caractérisation macroscopique

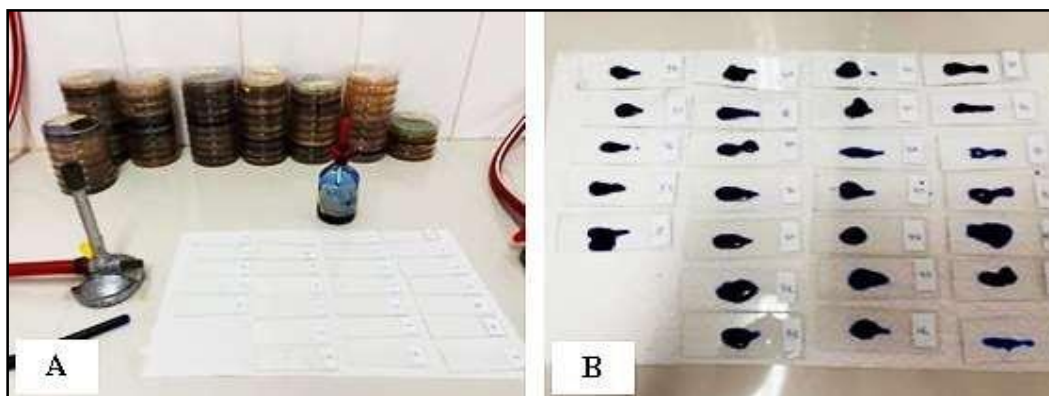
Selon Dufresne (2014), L'identification macroscopique repose généralement sur l'observation des critères suivant : Couleur (surface, revers, pigments diffusible) ; Texture (laineuse, duveteuse, poudreuse, glabre) ; Topographie (plat, surélevée, cérébriforme, avec stries radiales).

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.

### Identification microscopique

L'identification microscopique repose essentiellement sur l'observation de formes végétatives telles que les hyphes (septés ou non septés), les structures de reproduction comme les conidiophores, les cellules conidiogènes, et les conidies (Dufresne, 2014).

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.13). L'observe 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 13. Préparation des lames pour l'observation microscopique. (A) Préparation des lames et des boîtes d'isolats ; (B) Lames avec bleu de méthylène.**

## **6. Caractérisation moléculaire des isolats de *Trichoderma* isolés**

La caractérisation moléculaire des deux isolats de *Trichoderma* isolés à partir des échantillons E2 et E5, est réalisée au niveau du CRBt- Constantine,

### **Extractions de l'ADN génomique**

Les ADN sont obtenus par la méthode d'extraction développée par Doyle et Doyle (1987) et modifiée par Benbouza *et al.* (2006). 0,1 g des mycéliums frais sont broyées par de l'azote liquide. Le protocole d'extraction de l'ADN est résumé en trois principales étapes :

- (1) isolation de l'ADN avec du CTAB 2% ;
- (2) élimination des protéines par le CIA (24 :1) ;
- (3) précipitation de l'ADN avec de l'isopropanol. L'ADN obtenu est dilué dans 200 µl de tampon TE et traité avec de la RNase (1µl/ 100µl d'ADN). La concentration et la pureté de l'ADN extrait ont été mesurées par le spectrophotomètre Nanodrop 8000 (Thermo Scientific, Waltham, MA-USA).

### **Amplification des amorces universelles**

L'amplification des régions ITS et un fragment du gène *tefl $\alpha$*  (translation elongation factor1-alpha). Comme décrit précédemment par Hermosa *et al.*, 2004. Les réactions de PCR ont été réalisées dans un volume total de 20 µl contenant 1X tampon ; pH 8,8 ; 2 à 4 mM MgCl<sub>2</sub> ; 0,2 mM pour chaque dNTP ; 0,4 µM pour chaque amorce ; 50 ng d'ADN génomique et 1 Unités de Taq DNA polymerase. L'amplification a été effectuée dans un thermocycleur 1000C (BioRadLaboratories, CA-USA) en utilisant le profile thermique suivant : une dénaturation initiale à 95°C durant 5 min, 35 cycles de 30 s à une température d'hybridation entre 55°C-60°C (selon l'amorce) et 1 min à 72°C et une étape d'élongation finale à 72°C durant 5 min.

Les produits PCR sont ensuite été séparés sur gel agarose 2% contenant durant 20h à 100 V. Un marqueur de taille d'ADN le DNA Ladder 100 pb (Invitrogen, CA, USA) est utilisé pour la lecture des tailles des fragments séparés. Enfin, l'identification des tailles des fragments est réalisée par le logiciel ImageLab (BioradLaboratories, CA-USA) en utilisant le GelDoc<sup>TM</sup> XR (BioradLaboratories, CA-USA).

### **Séquençage sanger et alignement des séquences par l'outil BLAST**

Les produits amplifiés sont d'abord été purifiés des résidus de la PCR par le kit enzymatique ExoSap (Thermofisher), puis soumis à la réaction séquençage. Les séquences générées sont



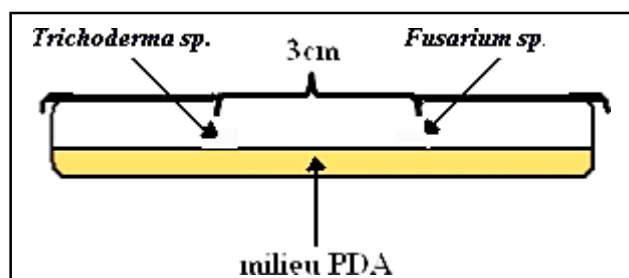
traitées par le logiciel BioEdit puis comparées avec des séquences de références dans la base de données NCBI.

## 7. Evaluation de l'activité antagoniste des souches isolées de *Trichoderma sp.*

Le potentiel antagoniste des isolats obtenus est évalué vis-à-vis de d'une espèce de champignon phytopathogène à savoir le *Fusarium sp.* isolée à partir de plants de pois chiche.

### Technique de confrontation directe

La méthode de confrontation par contact direct sur milieu de culture a été utilisée pour évaluer l'interaction entre les souches d'antagonistes, notamment trois *Trichoderma sp.*, et deux pathogènes fongiques « *Fusarium sp.* » (Shoresh *et al.*, 2010). Cette technique consiste à placer, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu PDA, deux pastilles gélosées de 6mm de diamètre, l'une portant l'antagoniste et l'autre le pathogène. Les deux pastilles sont positionnées suivant un axe diamétral à une distance équidistante de 3cm du centre de la boîte (Fig.14). Les repiquages sont effectués simultanément afin d'évaluer l'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène par l'antagoniste. L'incubation est réalisée à 25°C pendant 7 jours. Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène seul « *Fusarium sp.* » au centre de la Boîte de pétri qui contient le milieu (PDA).



**Figure 14. Méthode de confrontation directe sur milieu PDA**

L'évaluation de l'inhibition exercée par l'antagoniste « *Trichoderma* » est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (Hmouni *et al.*, 1996) :

$$I (\%) = (1 - C_n / C_o) \times 100$$

Où,

I (%) : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

C<sub>n</sub> : Diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste

Co : Diamètre moyen des colonies témoins.

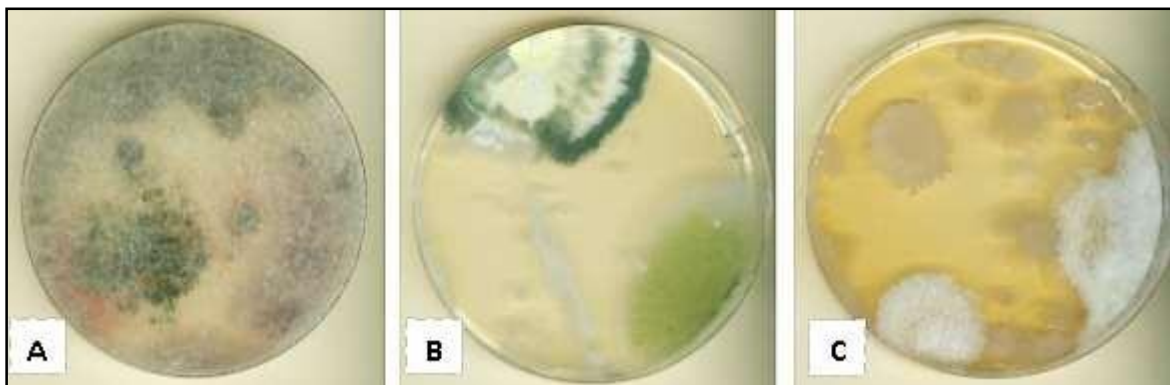
## II RESULTATSETDISCUSSION

### II .A Résultats

L'objectif de ce travail est de mener une étude sur la diversité des genres fongiques dans des échantillons de sols agricoles prélevés de la rhizosphère des légumineuses alimentaires dans différentes régions du Nord-est algérien. Des analyses au laboratoire INRAA-URC ont révélé la présence d'une grande variété de champignons telluriques.

#### 1. Nombre de colonies pour tous les échantillons

Au total, 918 colonies fongiques et actinomycètes ont été collectées pour l'ensemble des échantillons prélevés sur les deux wilayas (Constantine et Guelma) sur des sols agricoles en utilisant la méthode de dilution d'échantillons (Fig.15).



**Figure 15. Exemple d'aspect des colonies obtenues dans les boîtesensemencées sur milieu : (A) PDA ; (B) Sabouraud ; (C) ISP2.**

#### 2. Nombre de colonies par milieu de culture

Le nombre de colonies dénombrées peut être classé par ordre de régression selon différents milieux préparés (Fig.16) : Le milieu ISP a regroupé le plus de colonies (423 colonies), suivi du milieu Sabouraud (266 colonies). Le milieu PDA a le plus faible nombre de colonies (229 colonies).

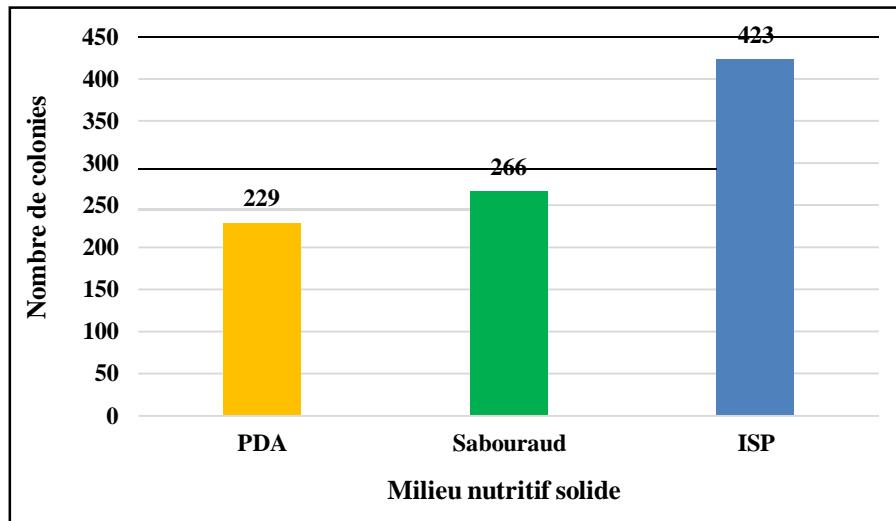


Figure 16. Nombre de colonies obtenues par milieu de culture.

### 3. Pourcentage de colonies par échantillons

On distingue que le pourcentage échantillons dominant en terme de présence. L'échantillon E04 possède le plus grand pourcentage de colonies (35%), suivi d'E01 et E03 avec des pourcentages égaux (19%), puis L'E05 (18%). L'E 02 (9%) a révélé le plus faible nombre de colonies (Fig. 17).

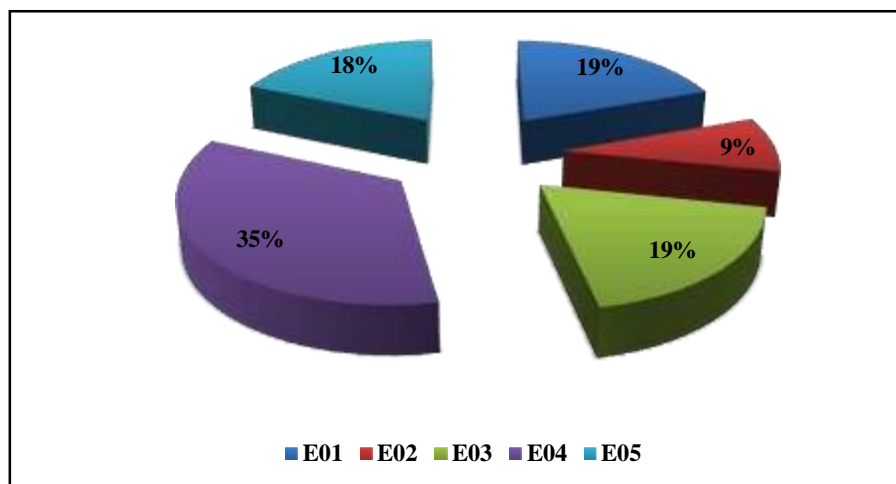


Figure 17. Pourcentage de colonies par échantillons

### 4. Nombre de genre par milieu de culture

Le nombre de genres fongiques obtenus en fonction des différents milieux de culture préparés est réparti comme suit (Fig.18) : le *Penicillium* et l'*Aspergillus* sont les genres fongiques les plus abondants, les autres genres ont le plus faible nombre de colonies. Il est à noter que les actinomycètes sont dominant en nombre par rapport aux champignons.

On remarque bien que milieu PDA favorise la prolifération des Actinomycètes par rapport aux autres milieux Sabouraud et ISP2.

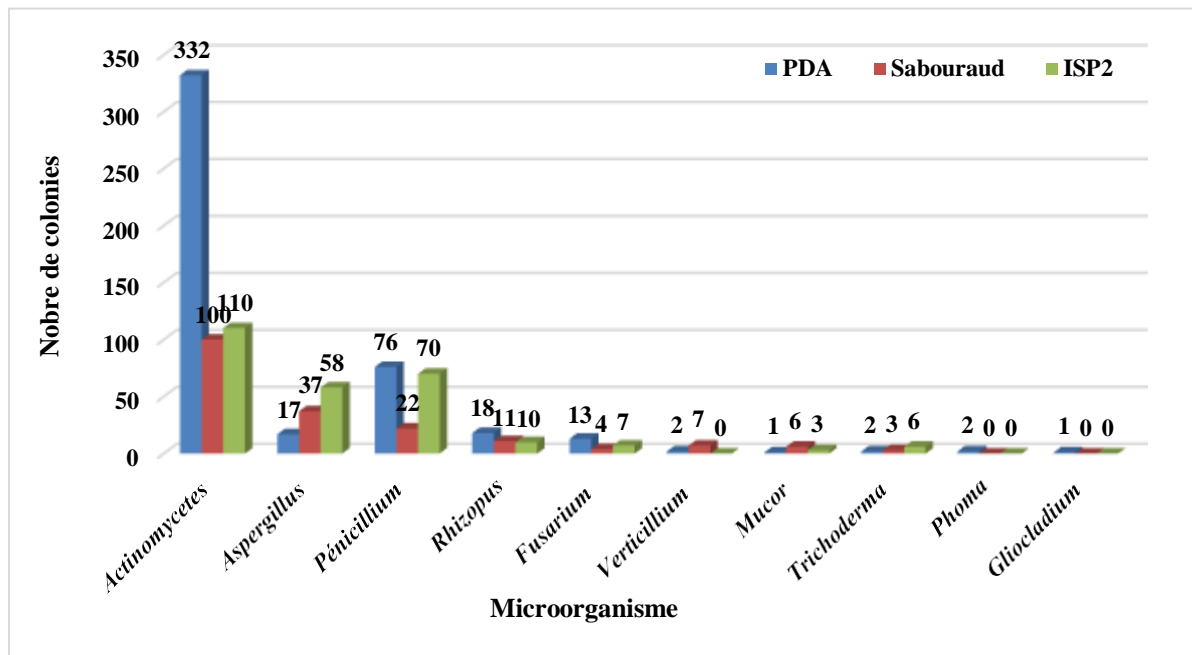


Figure 18. Nombre de genres fongiques et actinomycètes identifiés en fonction des milieux de culture solides

### 5. Nombre de genre par dilution

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 10 genres de champignons filamenteux. Les genres identifiés sont : *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Verticillium*, *Gliocladium*.

Les Actinomycètes sont les prédominants, ils sont présents au niveau de tous des échantillons avec 145 colonies dans la dilution  $10^{-1}$ , suivi du genre *penicillium* qui compte 32 colonies dans la dilution  $10^{-1}$ . Le genre *Aspergillus* est classé en 3<sup>ème</sup> position avec 17 colonies.

Dans la dilution  $10^{-4}$ , on retrouve les actinomycètes qui ont le plus grand nombre de colonies avec une valeur de 122, suivie du genre *Penicillium* avec une valeur de 65 colonies, puis l'*Aspergillus* avec 17 colonies.

Les genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Mucor* en plus des actinomycètes sont apparus au niveau la dilution  $10^{-3}$ . Quant à la dilution  $10^{-2}$  elle renferme 7 genres fongiques et des actinomycètes (Fig.19).

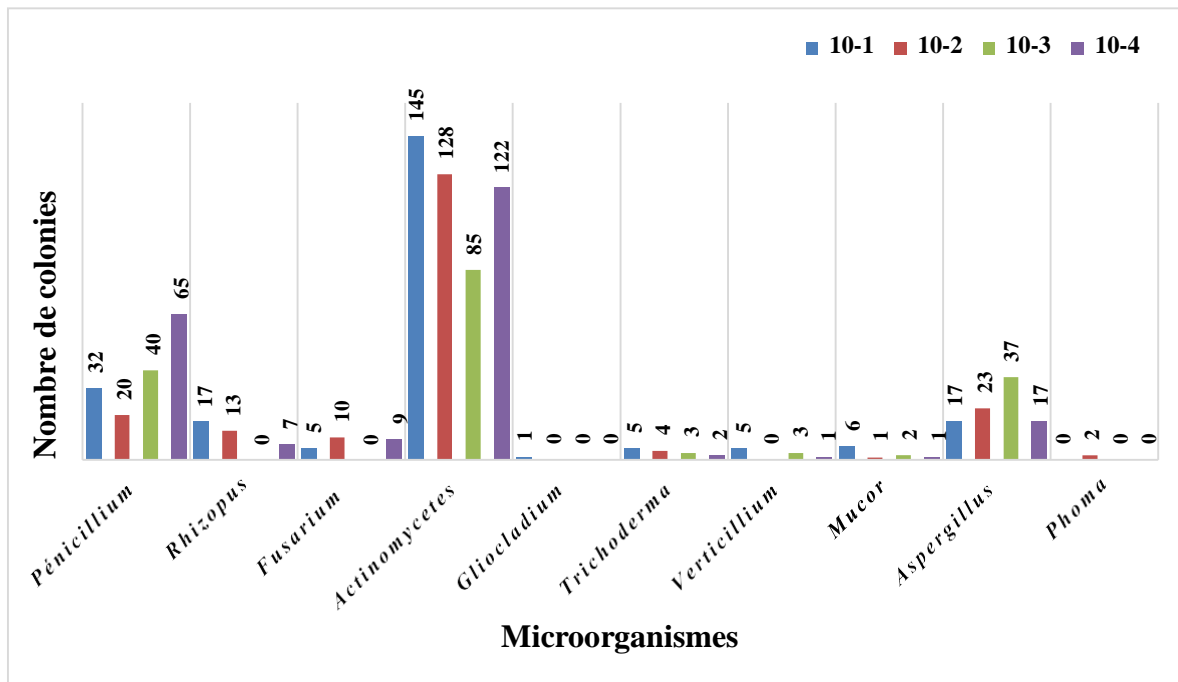


Figure 19. Nombre de genres fongiques et actinomycètes en fonction des dilutions.

## 6. Nombre de genre par échantillons

La différence de la diversité fongique entre les échantillons de sols étudiés (**Fig.23**). E.05 est l'échantillon qui a révélé le plus grand nombre de genres en comparaison avec les autres échantillons, il comprend 04 genres fongiques : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, et le *Rhizopus* avec une prédominance des Actinomycètes soit 125 colonies, les caractéristiques morphologiques et microscopiques sont mentionnées au niveau du tableau 3.

L'E.04 contient 06 genres de mycètes : *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *phoma*, *Fusarium* et *Trichoderma* et un nombre important d'actinomycètes avec aussi une dominance du genre *Penicillium* (30 colonies). Les échantillons E.01, E.02, et E.04 révèlent 2et 4 genres respectivement. L'E.01 se différencie par la présence de *Gliocladium* (11 colonies).

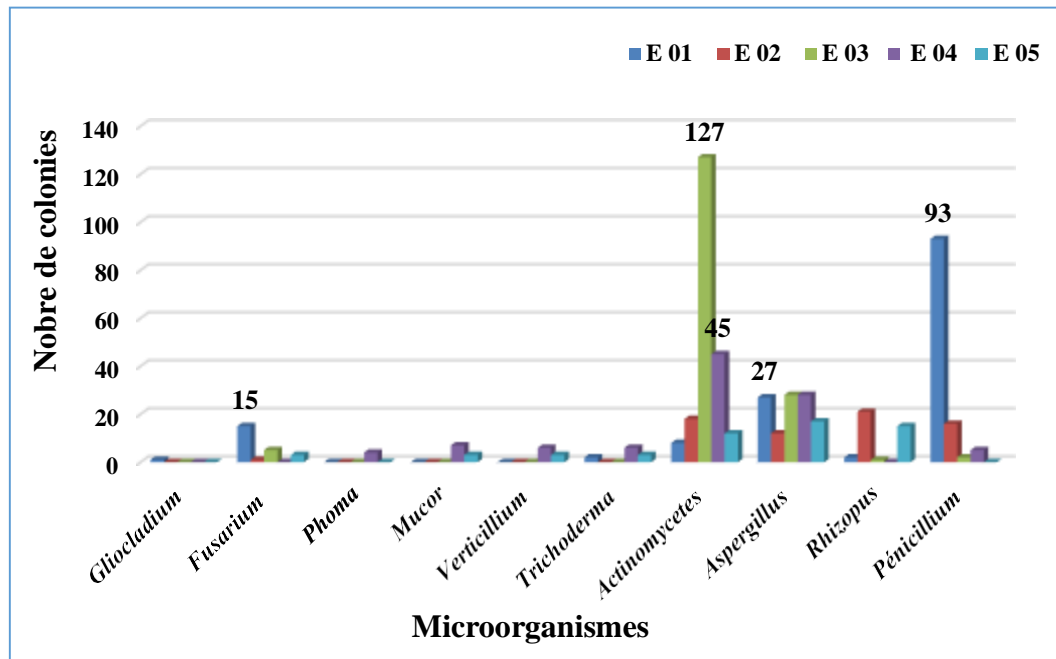


Figure 20. Nombre de genres identifiés au niveau de tous les échantillons étudiés.

### 7. Pourcentage total des genres

Les résultats obtenus ont permis d'identifier 9 genres fongiques en plus des actinomycètes qui sont dominants soit 59,04 % qui dépasse la moitié des colonies obtenues. Suivi par le *Pénicillium* 18,30 % et l'*Aspergillus* 12,20 % en 2<sup>ème</sup> position par contre les autres genres isolés se trouvent en égalité minimale (Fig.21).

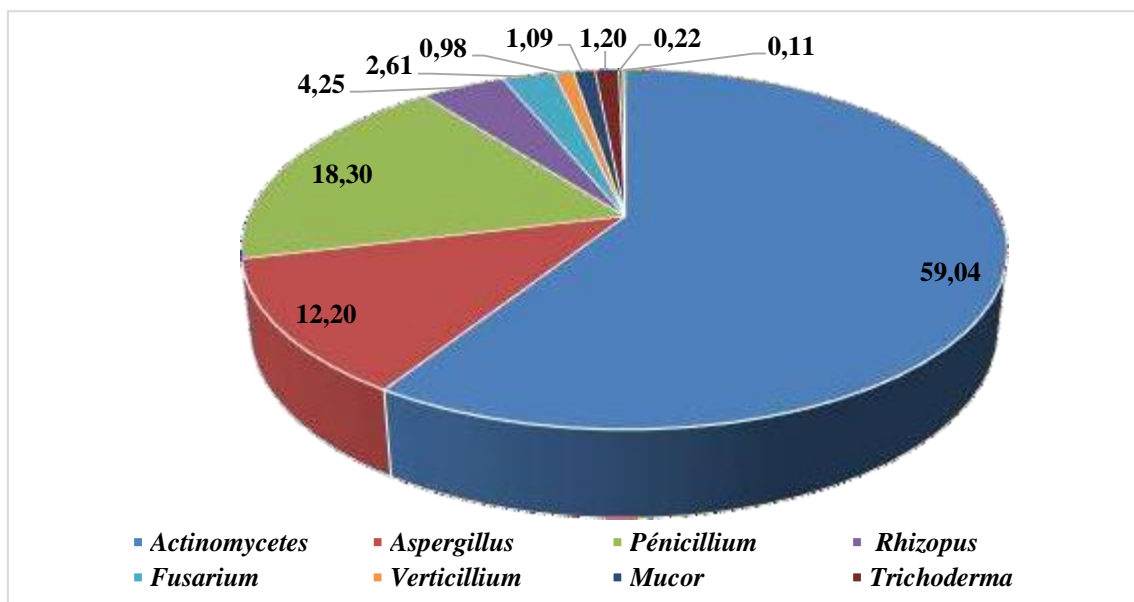


Figure 21. Pourcentages totaux des genres identifiés.

Tableau 2. 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<br>Les conidies unicellulaires sont de couleur verte. (Fig. 23)   |
| <i>Fusarium</i>      | Cotonneuse à laineuse ; blanchâtre puis rosées ; violettes ou jaune<br>Revers incolore à jaune ; puis rouge foncé                     | La présence de macro conidies fusiformes et cloisonnés.<br>Micro conidies uni ou pluricellulaires piriformes fusiformes, cylindriques, ou ovoïdes isolés solitaires ou groupées, disposées ou verticale, ou plus rarement en chaînettes (Fig. 22)  |
| <i>Mucor</i>         | Surface cotonneuse, blanc beige à brun Révers incolore.   | Mycélium large non septé<br>Sporanges globuleux<br>Sporocystes globuleux<br>Spores ovoïdes, lisses ou rugueuses (Fig. 23)  |
| <i>Rhizopus</i>      | Colonie à croissance rapide et très grossière   | Sporanges sombres contenant des spores de couleur pale à foncée (Fig. 23)  |
| <i>Penicillium</i>   | Colonies poudreuses et blanc puis bleuvert généralement vertes<br>Revers incolore   | Filament mycéliens septes, porte des conidiospores.<br>Des spores unicellulaires, globuleuses, elliptiques, cylindriques ou fusiformes, grisâtres ou verdâtres (Fig. 23)   |
| <i>Aspergillus</i>   | Poudreuses à granuleuse blanc puis vert, jaune, noir<br>Revers incolore, jaune, rouge.  | Mycélium septé et ramifié conidiospores non cloisonnés<br>Le conidiospore non cloisonné terminé par une vésicule gonflée, portant des phialides en forme de bouteille<br>Les spores produites en longues chaînes au bout des phialides, sont toujours unicellulaires, globuleuses ou elliptiques (Fig. 22) |
| <i>Gliocladium</i>   | Thalle rose pâle à saumon, devenant blanc en vieillissant.<br>Revers incolore   | Conidiospores dressés, lisses, phialides très variables plus ou moins effilées.<br>Conidies unicellulaires, hyalines, lisses, de forme variable (elliptiques, réniformes, ou pyriforme), elles restent agglomérées les unes aux autres et forment des masses mucilagineuses (Fig. 22)                      |
| <i>Verticillium</i>  | Thalle noir ou blanc  | Conidiospores disposés en verticilles autour de l'axe principal de l'hyphes.<br>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. 23)  |
| <i>Phoma</i>         | Des colonies vert olive, Brun noir<br>D'une forme plate et texture veloutée.  | Hyphe septé<br>Les pycnides arondis, brun à noir Conidies hyalines d'allure cylindrique (Fig. 22)  |
| <i>Actinomycètes</i> | Bacilles gram positive de 0,4 à 1,0 Um Droits, incurvés ou pléomorphes individuellement en paires en grappes ou en chaînettes courtes | ne forment pas d'endospores ni de conidies et se cultivent bien dans un milieu contenant du carbonate de sodium (Fig. 22)  |



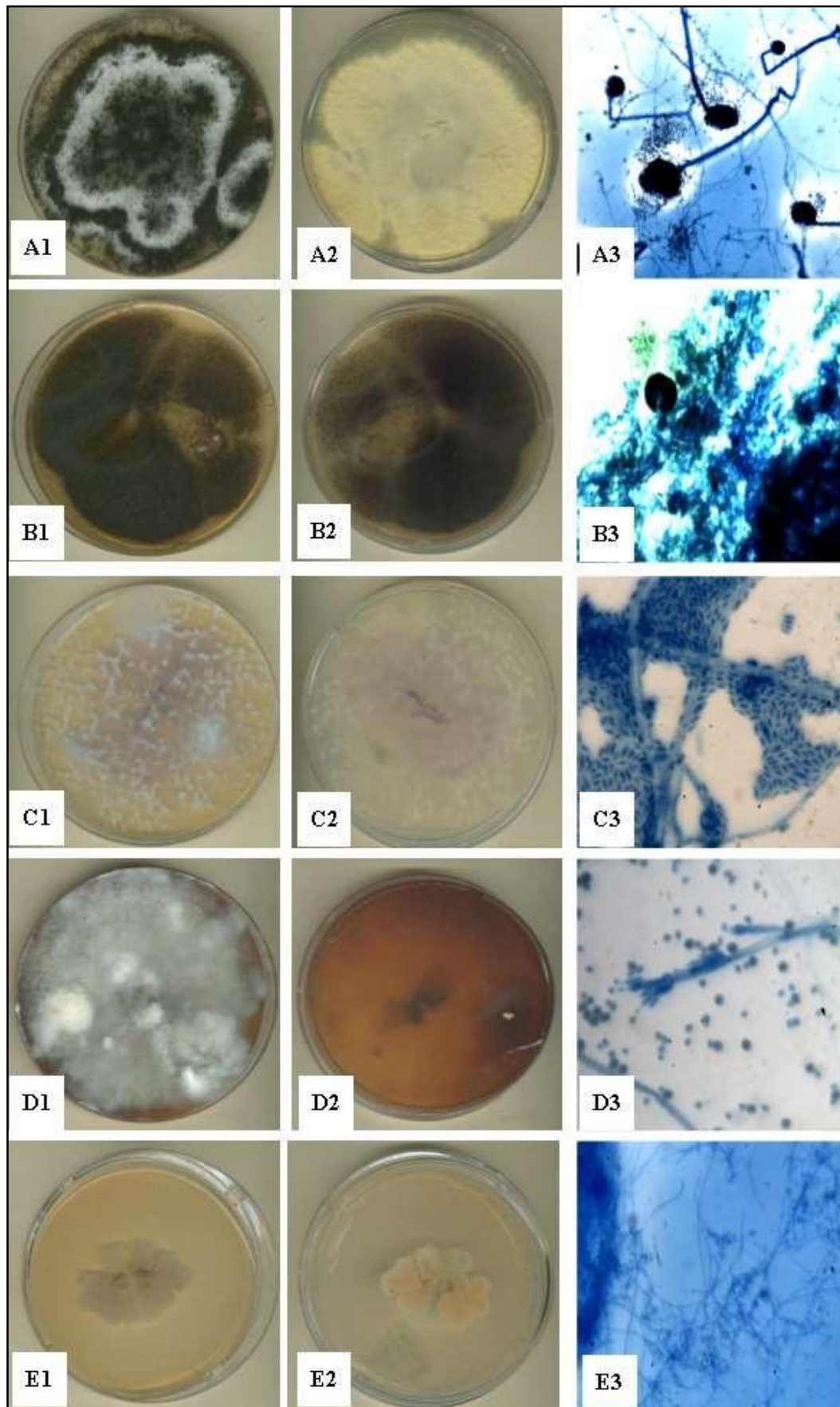


Figure 22. Aspect des genres. (A) *Aspergillus* ; (B) *Phoma* ; (C) *Fusarium* ; (D) *Gliocladium* ; (E) *Actinomycète*. (1) recto de la boîte ; (2) revers ; (3) Observation microscopique

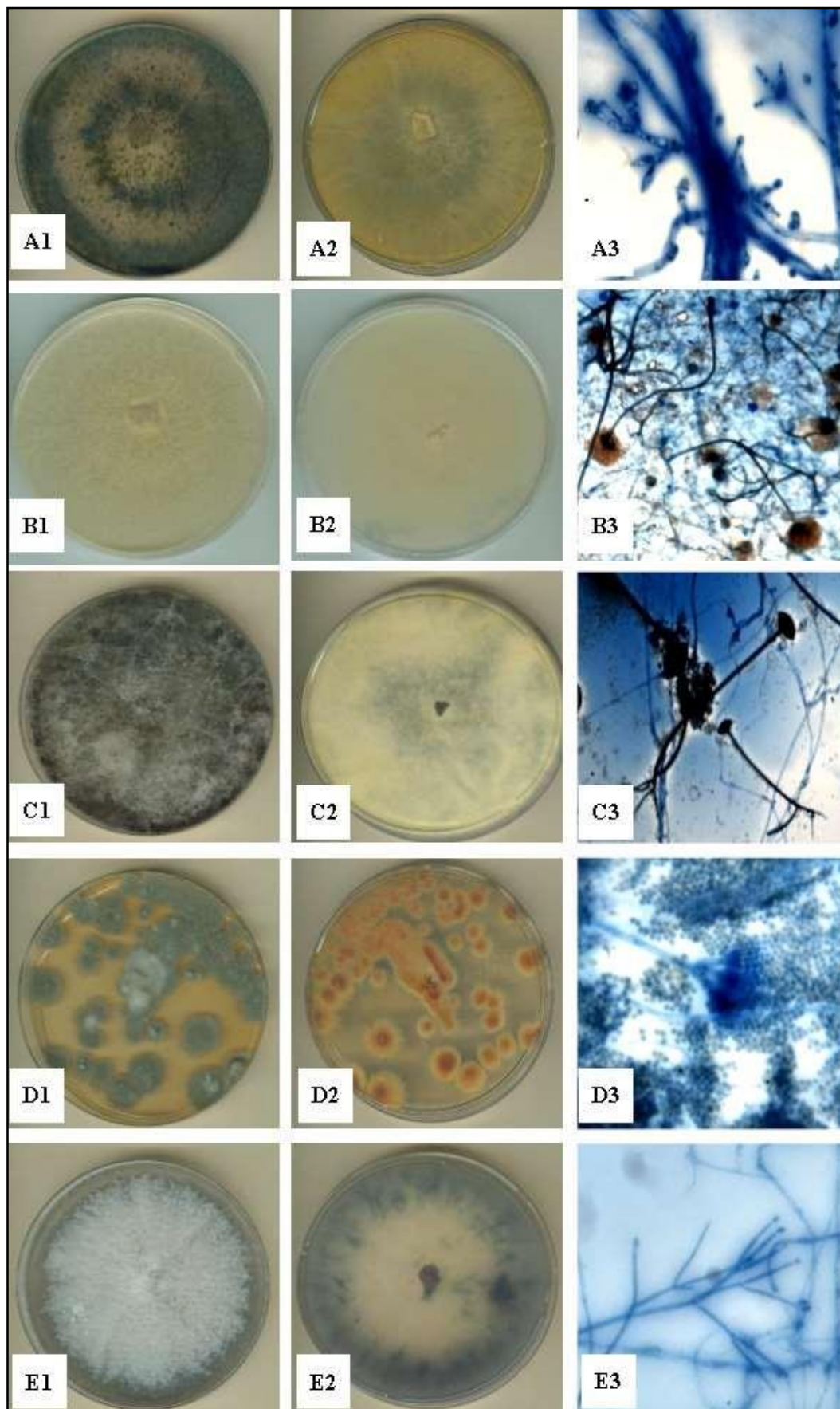


Figure 23. Aspect des genres. (A) *Trichoderma* ; (B) *Mucor* ; (C) *Rhizopus* ; (D) *Pénicillium* ; (E) *Verticillium*. (1) recto de la boîte ; (2) revers ; (3) Observation microscopique

## **8. Résultats de l'identification moléculaire des *Trichoderma***

Les deux isolats de *Trichoderma* obtenus au niveau des échantillon E1 et E4 sont identifier par séquençage. Les espèces obtenues sont : E1 : Tr1 « *Trichoderma harzianum* » ; E4 : Tr2 « *Trichoderma atroviride* ». Ces deux espèces sont courantes dans la région du Maghreb et sont connues pour leurs potentiel biocontrôle. Les caractéristiques morphologiques et microscopiques sont notées au niveau de la figure 24.

## **9. Résultats de la lutte biologique**

La lutte biologique contre les pathogènes fongiques, est évaluée par le test d'antagonisme dans notre cas la méthode de confrontation directe entre *Trichoderma* et le *Fusarium sp.*

L'efficacité de la lutte biologique dépend du choix de la souche antagoniste performante choisie selon des critères particuliers impliquant une bonne croissance mycélienne et/ou la sécrétion de métabolites antifongiques.

Les résultats obtenus ont montré que les isolats antagonistes se développent plus rapidement que les isolats de l'agent pathogène dans notre cas le *Fusarium sp.* isolé à partir de plants lentille. Par conséquent, les deux espèces de *Trichoderma* testées « *T. harzianum* » et « *T. atroviride* » ont inhibé le développement du mycélium de l'agent pathogène en entourant ses colonies.

L'isolat Tr1 confèrent des taux d'inhibitions de l'ordre de 60 %qui est un peu plus élevé par rapport à celui enregistré par l'isolat Tr1 avec 55% (Fig. 24). Ces résultats montrent que l'isolat de *Trichoderma sp.* Possède un potentiel antagoniste intéressant contre le pathogène testé *in vitro*.

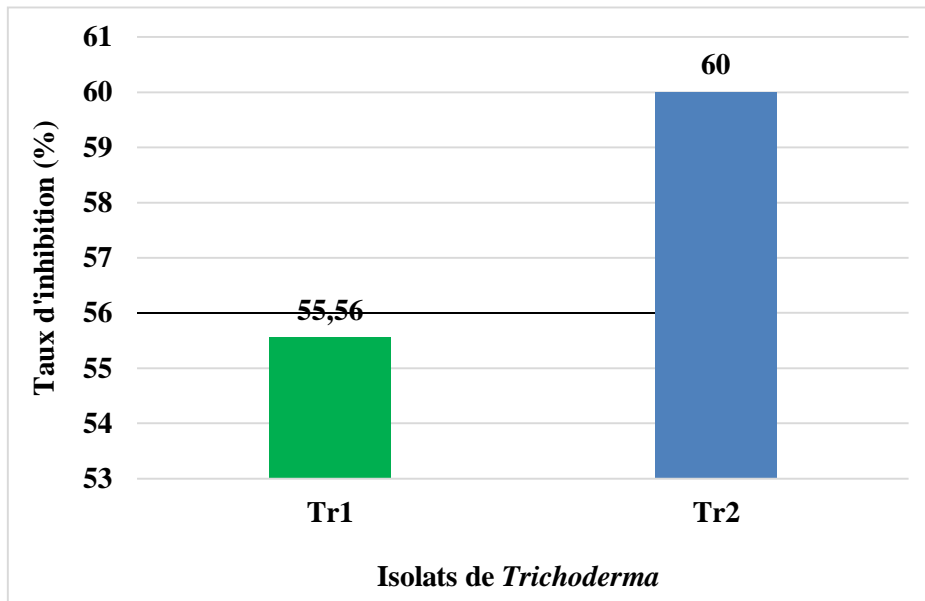


Figure 24. Taux d'inhibition en confrontations directe.

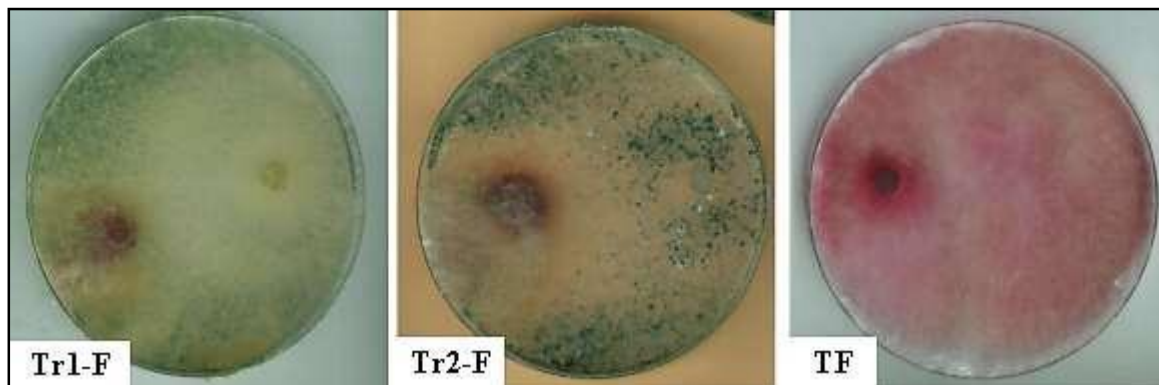


Figure 25. Test de confrontation directe des deux *Trichoderma sp.* vis-à-vis *Fusarium sp.* de lentille. (T : témoin ; F : *Fusarium sp.* ; Tr: *Trichoderma sp.*)

## II B Discussion

L'évaluation de la diversité des microorganismes a montré que dans la plupart des échantillons de sol, les mycètes sont le composant principale (Baath and Söderström, 1980 ; Schnürer *et al.*, 1985).

L'isolement des souches sporulantes nécessite l'utilisation de techniques de dilution en suspension pour obtenir un nombre maximum de champignons (Davet et Rouxel, 1997). Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques sont la base de l'identification de plusieurs espèces fongiques (Peterson, 2006).

Certaines études ont reporté la présence de plusieurs genres fongiques dans les sols de différentes régions agricoles (Kumar *et al.*, 2015). Certaines espèces fongiques se retrouvent sur la plupart des sols, comme les *Aspergillus*, *Penicillium*, *Actinomycètes*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Verticillium*, *Gliocladium*, *phoma* etc. On y retrouve aussi communément des *Oomycetes* et des *Chytridiomycetes* (Boiron, 1996).

La réalisation des étapes d'analyses de l'échantillon de sol permet d'obtenir 9 genres de champignons filamenteux et des actinomycètes. Le classement des genres obtenus par ordre de prévalence est : *Actinomycètes*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Mucor*, *Trichoderma*, *phoma*, *Gliocladium*.

La distribution des champignons dans un sol donné peut être influencée par certains facteurs environnementaux tels que le pH du sol, les teneurs en eau, la température, la disponibilité du carbone organique et de l'azote (Gaddeyya *et al.*, 2012).

Les bactéries et les champignons constituent les microorganismes les plus représentés dans les sols, où ils sont les principaux responsables de la minéralisation des matières organiques (Quenea, 2005).

Les *Actinomycètes* sont les plus dominant sur l'ensemble des échantillons étudiés avec 59,04%, suivie par le genre *Penicillium* avec 18,30%, et le genre *Aspergillus* 12,20%. Cela peut être expliquer par l'aspect des colonies et le mode de développement des actinomycètes sur milieu solide *in vitro*. Aussi les spores des actinomycètes possèdent une taille inférieure à celles des champignons ce qui fait qu'ils sont facilement dispersés dans la suspension mère. D'une autre part les actinomycètes se développent mieux dans les milieux à pH alcalin, ce qui est le cas de nos sols. Cela est lié à leur capacité à décomposer certaines matières organiques et à produire des enzymes spécifiques.

Cependant, il convient de noter que les actinomycètes sont des organismes très diversifiés et que leurs exigences environnementales peuvent varier (Revathy *et al.*, 2016).

Lors du test d'antagonisme *in vitro* entre les isolats fongiques « *Trichoderma sp.* et *Fusarium sp.* », des résultats intéressants sont obtenus en utilisant la méthode de confrontation directe. En effet, les isolats de *Trichoderma* ont tous deux démontré un effet inhibiteur remarquable. Ces résultats suggèrent que *Trichoderma* peut coloniser le milieu, assimiler les éléments nutritifs et inhiber la croissance du pathogène où le *Trichoderma* peut sécréter des substances antibiotiques qui inhibent la croissance du pathogène (Bouziane *et al.*, 2019 ; Harman *et al.*, 2004).



**CONCLUSION**

## CONCLUSION

Le présent travail consiste à inventorier les champignons telluriques présents dans cinq sols agricoles de l'Est algérien. 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.

Des études des caractéristiques macroscopiques et microscopiques des souches isolées ont permis d'identifier 10 genres : « *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Verticillium*, *phoma* et *Gliocladium* » et des Actinomycètes. Ces résultats indiquent qu'il existe une grande diversité d'espèces de tellure, en particulier de souches antagonistes, dans les sols de la zone d'étude.

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 (60%).

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).

Pour compléter ce travail sur la flore fongique du sol, nous proposons :

Sur le plan technique : L'utilisation des techniques moléculaires pour détecter même les champignons non cultivables.

Sur le plan technologique :

1) Les souches de champignons isolées peuvent faire l'objet d'une recherche de certaines propriétés biotechnologiques telles que la production d'antibiotiques.



2) les compétences acquises dans ce domaine peuvent être utilisées pour étudier la biodiversité fongique d'autres sols (sable des plages, sol du barrage,...).



**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelaziz W. (2006).** Isolement des mycètes producteurs des substances antibactériennes à partir des sols sahsriens. Mémoire de Magistère En Microbiologie et Biochimie Appliquées .Université Mentouri. Constantine.
- ACGIH C. (1999).** Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices. In *American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Cincinnati, OH.*
- Alexander M. 1982.** Most probable number method for microbial populations. Methods of soil analysis Part 2 : chemical and microbiological properties., Agronomy monograph n09 ASASSSA, Madison.p 815-820.
- Araújo J.P.M., Hughes D.P., 2016.** Zygomycètes. Vol 94, *in* Advances Brian Lovett, Raymond J. St. Leger, edition 1.
- Bååthe E., Söderström B.E. (1980).** Comparaisons of the agar-film and membranefilter methods for the estimation of the hyphal lengths in soil, with particular reference to the effect of magnification. *Soil Biol. Biochem.* 12 :385-387.
- Balkwill D.L., 1989.** Numbers, diversity and morphological characteristics of aerobic, chemoheterotrophic bacteria in deep subsurface sediments from a site in South Carolina. *Geomicrobiol.J*, 7, 33-52.
- Beare M.H., Hu S., Coleman D.C., Hendrix P.F. 1997.** Influences of mycelial fungi on soil aggregation and organic matter storage in conventional and no-tillage soil. *Applied Soil Ecology.* 5 : 211-219
- Benfoddil O., 2015.** Inventaire des champignons endophytes des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. de dayate El Guouffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de Magister. Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques. Département des Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi- Ouzou, Algérie. 48-58 et 73-102p.
- Blackwell M, 2011.** The fungi: 1, 2, 3. .5.1 Million species. *American Journal of Botany* 98(3):426-438.
- Boiron P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan.p:13-19-69-79.
- Bone T.L., Balkwill D.L., 1988.** Morphological and cultural comparison of microorganisms in surface soil and subsurface sediments at a pristine study site in Oklahoma. *Microb. Ecol.*, 16, 49-64.
- 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.

- Bourgeois C.M., Mescle J.F. et Zucca J. (1989).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. pp : 216-244.
- Calvet R. (2003).** Le sol propriétés et fonctions, TI. ED France agricole, Paris, 456p.
- Canard B. 2016.** Les champignons endophytes : Impact sur écosystèmes et Production de Molécules d'intérêt Thérapeutique. Option : Pharmacie. Faculté de pharmacie de Grenoble. Université GRENOBLE ALPES. 19-21P.
- Carlile M.J. et Watkinson (1994).** S.C. The Fungi. (Academic Press eds).
- Castegnaro M. et Pfohl-Leszkowicz A. (2002).** Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans *La sécurité alimentaire du consommateur*, Lavoisier, Tec&Doc.
- Davet R. (1997).** La Communauté Fongique : Son organisation et rôle dans l'écosystème. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Davet, P. et Rouxel, F. (1997).** Détection et isolation des champignons du sol. (edn) INRA.Paris.
- Deacon L.G., Pryce-miller E.J., Frankland J.C., Bainbridge B.W., et Moore P.D., Robinson C.H., 2006.** Diversity and function of decomposer fungi from a grassland soil. *SoilBiology&Biochemistry*. 38 : 7-20.
- Deroy., 2015.** Evolution et adaptation des champignons saprophytes : les systèmes impliqués dans la dégradation du bois chez *Trametesversicolor*. Doctorat En Biologie Végétale et Forestière. Université de Lorraine France p 10'14 et 172-175p.
- Dommergues Y. et Mangenot F. (1970).** Écologie microbienne du sol ,Masson et Cie,paris , pp :9-72.
- Dufresne P. (2014).** Identification des champignons d'importance médicale. *Stage de laboratoire. Institut National de Santé Publique, Québec (Canada)*.
- Durrieu G., 1993.** Ecologie des champignons. Edition: MASSON, p53.
- Egidi E., Delgado-Baquerizo M., Jonathan M., Plett., Juntao., Wang., David J. Eldridge., Richard D., Bardgett ,Fernando T., Maestre et Brajesh K. Singh, 2019.**A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nature communication*. Vol :10 :2369.
- Gaddeyya G, Shiny Niharika P, Bharathi P and Ratna Kumar PK. Isolation and Identification of soil mycoflora in different crop fields at salur mandal, Adv. Appl. Sci. Res, 2012; 3 (4): 2020- 2026.**
- Guild S. et MacDonald M. (2004).** Prévention des moisissures et récupération des collections : lignes directrices pour les collections du patrimoine.

**Hazen T.C., Jimenez L., 1988.** Enumeration and identification of bacteria from environmental samples using nucleic acid probes. *Microbiol. Sci. J.*, 5,340-343.

**Henry D, 2013.** Du couple lignine champignons dans la vie du sol à l'utilisation duBRF en agriculture. Les journées des paysannes.

**Hibbett D.S., Blakwell M., James T.Y., Spatafora J.W. ,Taylor J.W., VilgalysR., 2018.** Phylogenetic taxon definitions for fungi, Dicarya,Ascomycota and Basidiomycota.

James T.Y., Kauff F., Schoch C.L., Matheny P.B., Hofstetter V., Cox C.J., Celio G., GueidanàC., Fraker E., Miadlikowska J., Lumbsch H.T., Rauhut A., Reeb V., Arnold A.E., Amtoft A., Stajich J.E., Hosaka K., Sung G.H., Johnson D., O'Rourke B., Crockett M., Binder M., Curtis J.M., Slot J.C., Wang Z., Wilson A.W., Schüßler A., Longcore J.E., O'Donnell K., Mozley-Standridge S., Porter D., Letcher P.M., Powell M.J., Taylor J.W., White M.M., Griffith G., Davies D.R., Humber R.A., Morton J.B., Sugiyama J., Rossman A.Y., Rogers J.D., Pfister D.H., Hewitt D., Hansen K., Hambleton S., Shoemaker R.A., Kohlmeyer J., Volkman-Kohlmeyer B., Spotts R.A., Serdani M., Crous P.W., Hughes K.W., Matsuura K., Langer E., Langer G., Untereiner W.A., Lücking R., Büdel B., Geiser D.M., Aptroot A., Diederich P., Schmitt I., Schultz M., Yahr R., Hibbett D.S., Lutzoni F., McLaughlin D.J., Spatafora J.W., Vilgalys R. 2006.**Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. Nature. 443 : 818-822.**

**Jennings D.H. et Lysek G. (1996).** Fungal biology: understanding the fungal lifestyle. (Bios Scientific publisherseds).

**Jimenez L., 1990.** Molecular analysis of deep-subsurface bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2108-2113.

**Joyeaux A. (1982).** Les préparations industrielles d'enzymes. p : 22-46. **Julien R. (2002).** Les moisissures parlons-en. *Objectif prevention.* 25(4): 7-8 p.

**Julien R. (2002).** Les moisissures parlons-en. *Objectif prevention.* 25(4): 7-8 p.

**Kiffer E., et Morellet M.1997.** Les Deuteromycetes : classification et clés d'identification générique. Edition (INRA). Paris, France.1-7p.

**Kirk M. P., Cannon P.F., Minter D. W., Stalpers J.A. 2008.** Dictionary of the Fungi. Edited by P M Kirk, International Mycological Institute, Egham, UK, P F Cannon, CABI, UK, J A Stalpers, CBS. The Netherlands, *Komplementmed.*16: 79-90. (Kirk et al, 2008 in Lee et al,2012)

**Kumar P.K.Ratna, Hemanth.G , P.Shiny Niharika and Samuel k kolli (2015).** Isolation and identification of soil mycoflora in agricultural fields at Tekkali Mandal in Srikakulam District. Andhra Pradesh, India – 530003.

**Le Calvez T., 2009.** Diversité et fonctions écologiques des champignons en écosystèmehydrothermal marin profond. Université de Rennes 1/ CNRS. EcoleDoctorale Vie-Agro-Santé. UFR Science de la Vie et de l'Environnement.

- 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.
- LehoTedersoo., Santiago Sanchez-Ramirez., Urmaskoljalg., Mohammad Bahram., Markus Doring., Dmitry Schigel., Tom May., Martin Ryberg., KessyAbarenkov., 2018.** High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Diversité fongique* (2018) 90: 135.
- Madigan M.T., Matinoko J.M & Parker J. (1997).** *Brok biology of microorganisms*, 8th edn. USA.
- Mc Nabb J.F., Dunlap W.J., 1975.** Subsurface biological activity in relation to ground-water pollution. *Ground Water*, 13,33-44.
- MEA (Millenium Ecosystem Assesment). 2005.** *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. IslandPress, Washington, DC.
- Mechiah F., 2015.** Approche des symbioses racinaires de de *Pistacia atlantica* Desf. de Dayate El Gouffa (Laghouat, Algérie). Option : Ecologie végétale Appliquée et Gestion de l'Environnement. Faculté des Sciences Biologique ; et Sciences Agronomiques. Département de Biologie animale et végétales UMMTO.
- Mehravar M. & Sardari S. 2011.** Screening of antimicrobial membrane-active metabolites of soil microfungi by using chromatic hospholipid/polydiacetylene vesicles. *Journal of Medical Mycology*, 21 (3): 188-197.
- Mueller G.M., Schmit J.P. 2007.** Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict? *Biodiversity and Conservation*. 16: 1-5.
- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T. et Killington R. (2000).** L'essentiel en microbiologie..Edition Berti. pp : 210-216.
- 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
- Pereira E., Santos A., Reis F., Tavares R.M., Baptista P., Lino-Neto T. & Almeida-Aguiar C. 2013.** A new effective assay to detect antimicrobial activity of filamentous fungi. *Microbiological Research*, 168 (1): 1-5.
- Peterson S.W. (2006).** Multilocus sequence analysis of *Penicillium* and Euro penicillium species, *Rev. Iberoam Micol.*, 23(3), 134-8.
- Peuk A.D. (2000).** The chemical composition of xylen sapin *Vitis vinifera* L.cv. Riesling during vegetative growth on three different francian vineyard soils and as influenced by nitrogen fertilizer. *Am. Enol. Viticult.* 51 :329-339.

**Quénéa k .,2005** - étude structurale et dynamique des fractions lipidiques et organiques réfractaires de sols d'une chrono séquence forêt /maïs (Cestas ,sud –ouest de la France ),thèse de doctorat de l'université Paris VI,187p.

**Raven et al, 2018.** Report of a workshop IPGRI, 29-30 june 1995 palermo, Italy. Roehl T, 2017. Characteristics of DivisionGlomeromycota. FUNGUS FACT, 015

**Revathy, B., Gopi, C., Sukanya, P., Bhaskar, T., & Kumar, T. S. (2016).** Actinomycetes from extreme niches in South India: biodiversity and potential for bioactive compounds. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 10(3), 1747-1760. doi: 10.22207/jpam.10.3.57.

**Rivière J. (1975).** Les applications industrielles de la microbiologie. p : 31-195. Collection sciences agronomiques. Masson et Cie (éd.).

**Roget P. GARCIA J. L. (2001).** Introduction à la Microbiologie Du sol. Marseille : université de provence, 193p.

**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.

**Sargent K.A., Fliermans C.B., 1989.** Geology and hydrology of the deep subsurface microbiology sampling site at Savannah River Plant, South Carolina. *Geomicrobiol. J.* 7, 3-13.

**Schnürer J., Clarholm M., Rosswall T. 1985.** Microbial biomass and activity in a agricultural soil with different organic matter contents. *Soil Biol. Biochem.* 17:611-618.

**Schüßer A., Schwarzott D., Walker C. (2001).** A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research.* 105: 1413-1421.

**Scriban R. (1993).** Biotechnologie. p:32-690. 4<sup>ème</sup> édition. Technique de documentation-Lavoisier (éd.).

**Sénéquier-Crowet ., Canard B , 2016.** Les champignons endophytes : impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. Science pharmaceutique. Université Grenoble Alpes.

**Shoresh., Michal., Harman., Gary E., Mastouri., Fatemeh., (2010).** Induced Systemic Resistance and Plant to Fungal Biocontrol Agent Annual review of phytopathology. 2010, Vol 48, pp 21-43, 23.

**Smith C.K., Coyea M.R., Munson A.D.2000.** Soil carbon, nitrogen and phosphorus stocks and dynamics under disturbed black spruce forest. *Ecol. App.* 10 :75-78.

**Stahli, 2016.** Tout savoir sur les bactéries et les champignons du sol. Salamandre **Subler S., Kirsh K.S. 1998.** Spring dynamic of soil carbon, nitrogen and microbial activity in earthworm middens in no-till cornfield. *Bio. Fert. Soils.* 26 :243-249.

**Tedersoo L, Bahram M, Polme S. 2014.** Global diversity and geography of soil fungi. *Science* 346 :107.

**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.

**Tortora G.J., Funke B.R., and Case C.L. (2003).** Le métabolisme microbien. *Introduction*

**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.

**Atlas R., Bartha R., 1992.** Microbial ecology. Fundamentals and applications. 3rd edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company. San Francisco. California (USA). 563.

**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.

**Vandenkoornhuyse P. et Leyval C. (2001).** Bonnin I. High genetic diversity in AM fungi: evidence for recombination events. *Heredity.* 87: 243-253.

**Sites web :**

**Site 1 :** [www. Aspergilus. man. ac. UK.](http://www.Aspergilus.man.ac.UK)

**Site 2 :** [www. Supagro. Fr.](http://www.Supagro.Fr)



## 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 (Guelma, Constantine).

L'isolement a été réalisé selon la méthode suspension-dilution sur les milieux de culture (PDA, sabouraud, Isp2). Les résultats obtenus après l'étude macroscopique et microscopique révèlent la présence de 10 genres microorganismes « *Actinomycètes, Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Rhizopus, Fusarium, Mucor, Verticilium, phoma et Gliocladium* » dont les genres les plus fréquents sont Actinomycètes 59,04% et pénicillium 18,30% .

Les résultats de la confrontation directe révèle un effet inhibiteur intéressant du *Trichoderma* vis-à-vis du *Fusarium* (60%).

## ملخص:

يتكون العمل الحالي من جرد الفطريات التيلورية الموجودة في التربة الزراعية بشرق الجزائر. يتم أخذ العينات على التربة الزراعية المأخوذة من ولاية شمال شرق الجزائر (قالمة ، قسنطينة) تم إجراء العزل باستخدام طريقة تخفيف التعليق على وسط الاستزراع PDA, sabouraud, ISP. كشفت النتائج التي تم الحصول عليها بعد الدراسة المجهرية و الميكروسكوبية على وجود 10 اجناس فطرية Actinomycètes, Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Rhizopus, Fusarium, Mucor, Verticilium, phoma et, Gliocladium و } 59,04% Actinomycètes les منها اكثر الانواع شيوعا هي 18,30% pénicillium و { 59,04% Actinomycètes les منها اكثر الانواع شيوعا هي 18,30% pénicillium و } نتائج المواجهة المباشرة تكشف عن تأثير مثبط مثير Trichoderma ضد . Fusar (60%)

## **Abstract**

The present work consists in inventorying the telluric fungi present in the agricultural soils of Eastern Algeria. The sampling is carried out on agricultural soils taken from wilaya in the North-East of Algeria (Guelma, Constantine).

The isolation was carried out according to the suspension-dilution method on the culture media (PDA, sabouraud, Isp2). The results obtained after the macroscopic and microscopic study reveal the presence of 10 microorganism genera "Actinomycetes, Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Rhizopus, Fusarium, Mucor, Verticilium, phoma and Gliocladium" of which the most frequent genera are Actinomycetes 59.04% and penicillium 18.30%.

The results of the direct confrontation reveal a pronounced inhibitory effect of Trichoderma vis-à-vis Fusarium (60%)

## **ANNEXE**

Les Matériels utilisés pour l'analyse du sol

### 1. Les verreries et les matériels utilisés

- Boîtes de pétri
- Pipettes pasteur
- Tubes à essai
- Papier filtre
- Papier hygiénique
- Eprouvette graduée
- Lames et Lamelles
- micropipettes 1000  $\mu$ l
- Crayon gras au permanent
- Becher
- Portoirs
- Spatule
- les cuves
- Ciseaux

### 2. Les appareils utilisés

- Etuve
- pH-mètre
- Balance électrique
- Microscope optique
- Plaque chauffante
- Conductivité électrique
- Agitateur a barreau magnétique

### 3. Les solutions et les produits utilisés

- Eau distillée - Eau de javel - pomme de terre - glucose - Agar Agar - Malt extract (Difco)
- Yeastextract (Difco) – Dextrose (Difco) - Bleu de méthylène.

## Inventaire de la microflore rhizosphérique des légumineuses dans la région de Constantine

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

Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biodiversité et physiologie végétale

### 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 (Guelma, Constantine).

L'isolement a été réalisé selon la méthode suspension-dilution sur les milieux de culture (PDA, sabouraud, Isp2). Les résultats obtenus après l'étude macroscopique et microscopique révèlent la présence de 10 genres microorganismes « *Actinomycètes, Penicillium, Aspergillus, Trichoderma, Rhizopus, Fusarium, Mucor, Verticilium, phoma et Gliocladium* » dont les genres les plus fréquents sont Actinomycètes 59,04% et pénicillium 18,30% .

Les résultats de la confrontation directe révèle un effet inhibiteur intéressant du *Trichoderma* vis-à-vis du *Fusarium* (60%).

**Mots clé :** Rhizosphère ; Microorganismes ; Biodiversité ; Fabacées ; Biocontrôle

**Laboratoires de recherche :** Laboratoire microbiologie/INRAA-Constantine

Laboratoire de biologie moléculaire – CRBt Constantine

### Jury d'évaluation :

|                      |                 |                               |
|----------------------|-----------------|-------------------------------|
| <b>Président :</b>   | CHAIB Ghania    | (Professeure UFM Constantine) |
| <b>Examineur :</b>   | ZOGHMAR Nabila  | (MVB UFM Constantine)         |
| <b>Promoteur :</b>   | BOUDCHICHA Hind | (MRB – CRBt Constantine)      |
| <b>Co-promoteur:</b> | HARRAT Wahiba   | (MRB - INRAA Constantine)     |

**Date de soutenance :** 21/06/2023