

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة أبو بكر بلقايد – تلمسان

Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMCEN

كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de BIOLOGIE

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical

et

à l'environnement (LAMAABE)



## MÉMOIRE

Présenté par

M<sup>lle</sup> GUENDOUZ YOUSRA

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Microbiologie et contrôle de qualité

### Thème

Etude de l'effet antagonisme *in vitro* des champignons isolés du sol des grottes vis-à-vis des champignons phytopathogènes

Soutenue le 21/06/2023 devant le jury composé de :

Présidente	Mme Tabti Nassima	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Mme Brahimi-Kholkhal Wahiba	MCB	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Mkedder Ilham	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2022/2023

# REMERCIEMENT

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

*Nos sincères remerciements s'adressent d'abord à nos honorable encadreur Mme **Brahimi Kholkhal Wahiba** Maitre de conférences B au département de biologie pour ses conseils, ses encouragements, sa coopération, sa rigueur scientifique et pour la confiance qu'elle nous a accordé tout au long de cette étude.*

*Nos remerciements vont également à Mme **Tabti Nassima** Maitre de conférences A au département d'Ecologie pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider de jury.*

*Un grand merci à Mme **Mkedder Ilham** Maitre de conférences B au département de Biologie d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.*

*Merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

***Merci à tous***

# DÉDICACE

*Je dédie ce travail à :*

*À l'homme, mon précieux qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher **Papa**.*

*À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, la lumière qui a toujours éclaircie ma vie : ma **Maman** chérie.*

*À mes frères **Djamel** et **Housseem**, pour leur appui et leur encouragement.*

*À toute La famille **Guendouz** et **Ben allal** pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.*

*À mes voisines d'amour **Aicha**, **Rania** et **Chaimaa**.*

*À mon amie d'enfance **Malek**.*

*À ma plus belle découverte universitaire, mes copines **Amani** et **Rihem** à qui je leur souhaite un avenir à la hauteur de leurs ambitions. Que nôtre amitié dure.*

*Aux personnes qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables ami(e)s, collègues d'études.*

*À tous ceux que j'aime.*

**Yousra Gz**

## المخلص

أجريت الدراسة الحالية بهدف السيطرة على الفطريات الممرضة للنبات "*Fusarium*" و "*Aspergillus flavus*" و "*Aspergillus fumigatus*" و "*oxysporum*".

تم تسليط الضوء على المعركة البيولوجية ضد مسببات الأمراض النباتية باستخدام سلالات من جنس *Penicillium* و *Trichoderma* المعزولة من تربة كهوف بني عاد، عين فزة بولاية تلمسان في شمال الجزائر. تمكنا من تنقيتها وحفظها ومن ثم التعرف عليها بالعين المجردة والميكروسكوب.

سمح النشاط العدائي لهذه السلالات ضد الأنواع الفطرية المرجعية (*Aspergillus* و *Fusarium oxysporum*) و *Aspergillus fumigatus* و *flavus*)، وفقاً لطريقة المواجهة المباشرة، بالكشف عن معدلات تثبيط *Trichoderma* بعد 3 أيام تتراوح بين 44% و 50% وبعد 7 أيام بين 56% و 100% حسب نوع العامل الممرض. بالنسبة للبنسليوم، تتراوح معدلات التثبيط بعد 3 أيام بين 28% و 48% وبعد 7 أيام بين 43% و 68%. كل من السلالات المناهضة لها قدرة خاصة على القضاء على العامل الممرض.

أظهرت سلالة *Trichoderma* نشاطاً مثبطاً جيداً ضد السلالات المسببة للأمراض، وتلك التي تظهر من خلال ظهور منطقة تثبيط يتبعها توقف النمو لجميع السلالات المسببة للأمراض، والتي تتوافق مع تثبيط نمو فطري. بينما أظهرت سلالة البنسليوم فعالية مثبطة معتدلة مقارنة بسلالة *Trichoderma*.

**الكلمات المفتاحية:** *Trichoderma*؛ *Penicillium*؛ *Fusarium* . *Aspergillus flavus*، *oxysporum*، *Aspergillus fumigatus* التحكم البيولوجي ؛ المواجهة المباشرة.

# Résumé

La présente étude a été effectuée dans le but de lutter contre les champignons phytopathogènes "*Aspergillus flavus*", "*Fusarium oxysporum*" et "*Aspergillus fumigatus*".

La lutte biologique contre ces phytopathogènes, est mise en évidence en utilisant des souches du genre *Penicillium* et *Trichoderma* isolée à partir du sol des grottes de Beni Aad, Ain fezza de la wilaya de Tlemcen au nord Algérien. On est arrivé à les purifier, les conserver et ensuite les identifier macroscopiquement et microscopiquement.

L'activité antagoniste de ces souches contre les espèces fongique de références (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*), selon la méthode de confrontation directe, nous ont permis de révéler des taux d'inhibition de *Trichoderma* après 3 jours variant entre 44 % et 50 % et après 7 jours entre 56 % et 100 % selon l'espèce pathogène. Concernant *Penicillium*, les taux d'inhibitions après 3 jours varient entre 28 % et 48 % et après 7 jours entre 43 % et 68 %. Chacune des souches de l'antagoniste possède une aptitude particulière pour éliminer l'agent pathogène.

La souche de *Trichoderma* a montré une bonne activité inhibitrice vis à vis les souches pathogènes, et ceux par l'apparition d'une zone d'inhibition suivie par un arrêt de croissance pour l'ensemble des souches pathogènes, ce qui correspond à une inhibition de croissance mycélienne. Alors que la souche de *Penicillium* a révélé une activité inhibitrice modéré par rapport à la souche de *Trichoderma*.

**Mots clés :** *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, la lutte biologique, antagonisme, confrontation directe.

# Abstract

The present study was carried out with the aim of controlling the phytopathogenic fungi "*Aspergillus flavus*", "*Fusarium oxysporum*" and "*Aspergillus fumigatus*".

The biological fight against these phytopathogens is highlighted by using strains of the genus *Penicillium* and *Trichoderma* isolated from the soil of the caves of Beni Aad, Ain fezza of the wilaya of Tlemcen in northern Algeria. We managed to purify them, preserve them and then identify them macroscopically and microscopically.

The antagonistic activity of these strains against reference fungal species (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*), using the direct confrontation method, revealed *Trichoderma* inhibition rates after 3 days ranging from 44% to 50%, and after 7 days from 56% to 100%, depending on the pathogenic species. For *Penicillium*, inhibition rates after 3 days ranged from 28% to 48%, and after 7 days from 43% to 68%. Each antagonist strain has a particular ability to eliminate the pathogen.

The *Trichoderma* strain showed good inhibitory activity towards pathogenic strains, with the appearance of a zone of inhibition followed by a cessation of growth for all pathogenic strains, corresponding to inhibition of mycelial growth. Whereas the *Penicillium* strain showed moderate inhibitory activity compared with the *Trichoderma* strain.

**Key words:** *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, biological control, antagonism, direct confrontation.

## Liste des Tableaux

Tableau 1: L'aspect marcoscopique des isolats.....	25
Tableau 2 : Classification du genre <i>Trichoderma</i> . ....	28
Tableau 3: Classification du genre <i>Penicillium</i> .....	29
Tableau 4: Les résultats du test d'antagonisme des deux souches <i>Trichoderma</i> (E23) et <i>Penicillium</i> (E12) après 3 jours. ....	35
Tableau 5: Les résultats du test d'antagonisme des deux souches <i>Trichoderma</i> (E23) et <i>Penicillium</i> (E12) après 7 jours. ....	35

## Liste des Figures

Figure 1: <i>Aspergillus flavus</i> .....	9
Figure 2 : <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	10
Figure 3 : <i>Fusarium oxysporum</i> . ....	11
Figure 4: Champignons cibles en tubes.....	21
Figure 5: Technique de confrontation directe.....	22
Figure 6: Des champignons en tubes.....	25
Figure 7 : Caractères morphologiques et observation macrosopique de <i>Trichoderma</i> (Ben amira, 2018), (Soucre flickr) .....	27
Figure 8 : Principaux caractères morphologiques du <i>Penicillium</i> (Tabuc, 2007). ....	28
Figure 9: Observation macroscopique de <i>Penicillium</i> (Angelucci at al., 1997).....	29
Figure 10 : Aspect microscopique des souches isolées. ....	30
Figure 11: Observation microscopique de <i>Trichoderma</i> (Ben amira, 2018).....	31
Figure 12: Observation microscopique des conidiophores et des hyphes filamenteux de <i>Penicillium chrysogenum</i> (Nozowa ekt al., 1970).....	31
Figure 13: Les souches pathogènes. ....	32
Figure 14: Test d'antagonisme de <i>Trichoderma</i> après 3 jours. ....	33
Figure15 : Test d'antagoniste de <i>Penicillium</i> après 3 jours.....	33
Figure 16: Test d'antagonisme de <i>Trichoderma</i> après 7 jours. ....	34
Figure 17: Test d'antagonisme de <i>Penicillium</i> après 7 jours.....	34
Figure 18: Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de <i>Trichoderma</i> après 3 jours. ....	36
Figure 19: Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de <i>Penicillium</i> après 3 jours. ....	36

Figure 20: Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de *Trichoderma* après 7 jours. .... 37

Figure 21: Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de *Penicillium* après 7 jours. .... 37

## Liste des Abréviations

**% : Pourcent**

**± : Plus ou moins**

**PH : Potentiel d'hydrogène**

**PO43- : Phosphate**

**SO42- : Sulfate**

**NO3- : Nitrate**

**Fe : Fer**

**Cu : Cuivre**

**PDA : Potatoes Dextrose Agar**

**ml : Millilitre**

**g : Gramme**

**°C : Degrés Celsius**

**m : Mètre**

**Mm : Millimètre**

**µm : Micromètre**

**Cm : Centimètre**

## Table des matières

Remerciement.....	Erreur ! Signet non défini.
Dédicace.....	iii
المخلص .....	Erreur ! Signet non défini.
Abstract .....	Erreur ! Signet non défini.
Résumé.....	v
Liste des Tableaux .....	iv
Liste des Figures .....	viii
Liste des Abréviations .....	x
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
INTRODUCTION .....	1
Chapitre 01 : <b>Les champignons</b> .....	5
1. Généralités.....	6
2. Caractéristiques .....	6
3. Taxonomie .....	6
4. Classification .....	7
5. Mode de vie .....	7
6. Mode de reproduction .....	8
6.1. Reproduction asexuée.....	8
6.2. Reproduction sexuée.....	8
7. Champignons phytopathogènes .....	8
7.1. Généralités .....	8
7.2. Principaux champignons phytopathogènes .....	8
7.2.1. <i>Aspergillus flavus</i> .....	8
7.2.2. <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	9

7.2.3. <i>Fusarium oxysporum</i> .....	10
<b>Chapitre 02 : Les champignons et la lutte biologique .....</b>	<b>12</b>
1. Généralités.....	13
<b>Chapitre 03 : Les grottes et les champignons du sol .....</b>	<b>14</b>
1. Les grottes.....	15
1.1. Généralités.....	15
1.2. Type des grottes.....	15
1.2.1. Les stalactites tombantes .....	15
1.2.2. Les stalagmites montantes.....	16
2. Les champignons du sol.....	17
2.1. Le sol.....	17
2.1.1. Généralités .....	17
2.1.2. Propriétés microbiologiques .....	18
<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>19</b>
1. Isolement des antagonistes.....	20
1.1. Milieu de culture .....	20
1.2. La mise en culture.....	20
2. Purification et conservation des isolats.....	20
3. Identification des isolats sélectionnés.....	20
3.1. Les caractéristiques macroscopiques .....	20
3.2. Les caractéristiques microscopiques .....	20
3.2.1. Méthode de Scotch .....	20
3.2.2. La technique de microculture .....	21
4. Test d'antagonisme.....	21
4.1. Champignon cible .....	21
4.2. Préparation de l'inoculum fongique.....	21
4.3. La réalisation du test .....	22

4.3.1. La confrontation par contacte directe .....	22
4.3.2. Evaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes .....	22
<b>RESULTATS ET INTERPRETATIONS .....</b>	<b>24</b>
<b>1. Purification et conservation des champignons.....</b>	<b>25</b>
<b>2. Identification des champignons .....</b>	<b>25</b>
2.1. Etude macroscopique .....	25
2.1.1. Le genre <i>Trichoderma</i> .....	26
2.1.2. Le genre <i>Penicillium</i> .....	28
2.2. Etudes microscopique.....	30
2.2.1. Le genre <i>Trichoderma</i> .....	30
2.2.2. Le genre <i>Penicillium</i> .....	31
<b>3. Effet d'antagonisme des souches isolées .....</b>	<b>32</b>
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>39</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>45</b>

# INTRODUCTION

L'agriculture est le fondement de l'économie. Malheureusement, elle est aussi une cible de certaines limitations biotiques et abiotiques. Le producteur est devant diverses maladies affectant les cultures, la plupart de ces maladies causées par des champignons phytopathogènes qui réduisent la production agricole mondiale (**Gerhardson, 2002 ; Aouar, 2012 ; Ghorri, 2015**).

Les microorganismes pathogènes sont difficiles à contrôler car ils peuvent survivre dans le sol pour de longues périodes. Pour lutter contre ces maladies, l'application illimitée de pesticides dans les sols peut entraîner la pollution de l'environnement et les eaux souterraines et l'apparition de souches pathogènes résistantes. L'efficacité de la protection chimique n'est pas toujours satisfaisante, et même ses effets sur l'environnement ne sont pas négligeables. En plus, la plupart des produits chimiques utilisés sont toxiques pour les utilisateurs qui entrent en contact avec la substance de préservation. Cela justifie les recherches actuellement menées dans ce domaine, qui tendent à mettre au point de nouvelles méthodes de lutte moins nuisibles pour l'environnement. La possibilité d'une protection par des auxiliaires biologiques devient une solution alternative envisageable (**Tschen, 1985 ; Besnard et Davet, 1993 ; Prapagdee et al., 2008 ; Ghorri, 2015**).

La lutte biologique se considère comme une alternative très prometteuse, à cause de l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes. Ces dernières se caractérisent par leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action ainsi leur persistance dans l'environnement. L'efficacité de la lutte dépend du choix de souches antagonistes à partir des critères impliquant une bonne connaissance des particularités biologiques du matériel fongique utilisé, parmi eux les champignons de genre *Penicillium* et *Trichoderma* (**De Kouassi, 2001**).

Les espèces de *Trichoderma* se caractérisent par une croissance rapide, une capacité à utiliser divers substrats et une résistance aux agents chimiques nocifs. Ils constituent les éléments prédominants de la mycoflore des sols de divers écosystèmes (Forêt, champs agricoles) (**Tondje et al., 2007 ; Sadfi-Zouaoui, 2008**).

Leurs propriétés antagonistes sont connues depuis longtemps mais leur intervention dans plusieurs sols suppressifs, a récemment relancé leurs intérêts contre certains parasites classiques (**Ponchet, 1982**).

La croissance des espèces de *Penicillium* nécessite des températures inférieures à 30°C. De ce fait, ils sont rarement impliqués en pathologie animale ou humaine. En fait, c'est un champignon (moisissure) présent dans le sol et fait partie de la famille des Ascomycota. (**Hennquin et Lavarde, 1998 ; Kirk et al., 2008**).

Dans cette optique, l'objectif de ce travail est de mettre en évidence l'activité antagoniste *in vitro* des champignons (*Trichoderma* et *Penicillium*) d'origine souterraine vis-à-vis des champignons phytopathogènes : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Fusarium oxysporum*.

Cette étude repose sur des points importants :

- L'isolement des champignons sur milieu PDA.
- La purification et l'identification des isolats obtenus.
- La mise en évidence du pouvoir antagoniste des souches de *Penicillium* et *Trichoderma* contre les champignons phytopathogènes par la méthode de confrontation directe.

Le manuscrit comporte l'introduction suivie par une synthèse bibliographique qui se divisent en trois chapitres successifs : les champignons, les champignons et la lutte biologique et enfin les champignons et le sol.

Ensuite, on développe le protocole expérimental et les résultats et discussion. On finit par une conclusion et les références bibliographiques.

SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE

# Chapitre 01 :

# Les champignons

## 1. Généralités

Les champignons, "Fungi" (du latin) ou Fungi (du grec mukês). Ils représentent un groupe vaste et diversifié qui partage des caractéristiques avec les plantes inférieures et les animaux inférieurs rudimentaires (**Blandeau, 2012**).

Des eucaryotes unicellulaires ou pluricellulaires, comprenant des espèces macroscopiques (Macromycètes) et d'autres espèces microscopiques (Micromycètes). Donc, ils ont un aspect filamenteux ou lévuriforme. (**Tabuc, 2007**).

Il existe probablement des millions d'espèces très diverses qui n'adhèrent pas à une classification scientifique homogène (**Tabuc, 2007 ; Anses, 2016**).

## 2. Caractéristiques

Ce sont des eucaryotes immobiles. Aérobie stricte et rarement anaérobie, thallophytes, non chlorophylliens, chimio-hétérotrophe (**Grigoriu, 1984 ; Boiron, 1996 ; Larpent, 1997 ; Bouchet et al., 1999 ; Chabasse et al., 1999 ; Bouchet et al., 2005**).

Les champignons filamenteux sont formés par de longs filaments fongiques appelés hyphes qui s'enchevêtrent en un mycélium (**Raven et al., 2007**).

Tous les champignons ont des parois constituant (chitine, glucosane, chitinmannane, mannan-glucane, etc...) et réservent du glycogène (**Chabasse et al., 1999 ; Tabuc, 2007**).

Leur nutrition se fait par absorption, libérant initialement des enzymes hydrolytiques dans le milieu extérieur (**Le Calvez, 2009 ; Tabuc, 2007 ; Blandeau, 2012 ; Dufresne, 2018**).

Les champignons vivent principalement comme saprophytes au détriment de la matière organique en décomposition. Certains champignons vivent aussi en symbiose avec des espèces appartenant au règne végétal, mais aussi parfois en parasite avec tous les composants du monde vivant (**Kachour, 2005**).

## 3. Taxonomie

Le règne des champignons, ou Fungi, comprend des sous-ensembles appelés divisions ou phylums. Le nom de chaque division se termine par Mycota. Les phylums se divisent en sous-embranchements qu'ils ont un suffixe (Mycotina). Cependant, le nom des classes se termine par - Mycètes, ensuite le suffixe « ale » est utilisé pour désigner les ordres, et celui d'«aceae » pour les familles. Chaque famille contient des genres et des espèces qui forment la base de la classification. Ainsi, Chaque champignon est donc identifié par un nom

binomial qui commence par le genre et qui se termine par l'espèce. (**Bouchet, 2005 ; Chabasse, 2008**).

- Domaine : *Eukaryota*.
- Règne : *Champignon (Fungi)*.
- Embranchement (Phylum) : *mycota*.
- Sous-embranchement : *mycotina*.
- Classe : *mycète*.
- Ordre : *ales*.
- Famille : *aceae*.

#### 4. Classification

Les champignons comprennent quatre groupes (phylum) basés sur les différentes morphologies de la reproduction sexuée (**Evert et al., 2007**) :

- **Les zygomycota** : produisent des zygospores dans des zygosporanges, sont sans flagelles (**Yajuan et al., 2006**).
- **Les ascomycota** : produisent des ascospores dans des asques.
- **Les basidiomycota** : les basidiospores sont produites sur des basides.
- **Les chytridiomycota** : produisent des cellules mobiles flagellées. Ils sont un groupe principalement aquatique dont c'est le seul groupe de champignons possédant des cellules reproductrices (zoospores et gamète) mobiles (**Evert et al., 2007**).

De plus, lorsque la reproduction sexuée est inconnue, on parle de champignons imparfaits.

- **Les deuteromycota** : D'après (**Bensmira, 2006 ; Tabuc, 2007**) ils sont caractérisés par :
  - Un thalle à mycélium septé ou unicellulaire (levures).
  - L'absence de reproduction sexuée connue.
  - Une reproduction asexuée par des conidiospores non flagellé, parfois absente (mycélium stérile).

#### 5. Mode de vie

On distingue trois sortes de vie des champignons :

**5.1. Saprophytes** : Ils poussent sur des déchets organiques au détriment de substrats inertes ou en décomposition.

**5.2. Parasites** : Ils vivent aux dépens d'autre être vivants. (**Vander, 2003**).

**5.3. Symbiotiques :** Certaines espèces vivent en symbiose avec des plantes supérieures (Mycorhizes) et algues (lichen) (Ameur, 2014 ; Bensmira, 2006 ; Dendouga, 2006).

Quelques soit leur mode de vie, les champignons ont besoin : D'eau, de sels minéraux (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> ...) et d'oligoélément (Fe, Cu ...), d'une source de carbone organique (Bouchet et al., 1989).

## 6. Mode de reproduction

Chez les champignons la reproduction se divise en deux types :

### 6.1. Reproduction asexuée

Elle se fait sans fusion des gamètes. Elle correspond majoritairement à la dispersion des spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser d'autres substrats ou par bourgeonnement, fission binaire ou par fragmentation. (Lecellier, 2013).

### 6.2. Reproduction sexuée

Ce processus se base sur l'accouplement des deux gamètes haploïdes (n) Afin d'obtenir un zygote diploïde (2n). Le noyau de cette dernière subit une méiose, ces évènements sont suivis par la formation de spores (les ascospores, les basidiospores et les zygosporés). Dont ce processus varie en fonction des classes de champignons (Deacon, 2005 ; Kachour, 2005).

## 7. Champignons phytopathogènes

### 7.1. Généralités

Certains genres des champignons telluriques peuvent infecter les racines de plantes sauvages et de causer des dommages. Ceux-ci incluent : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Pythium*.... Ils sont responsables d'environ 70% des maladies des plantes cultivées (Agrios, 2005 ; Jim Deacon, 2005).

### 7.2. Principaux champignons phytopathogènes

#### 7.2.1. *Aspergillus flavus*

Ce champignon mycotoxinogène est présent dans toutes les régions du globe, mais il est plus fréquent dans les régions tropicales et subtropicales.

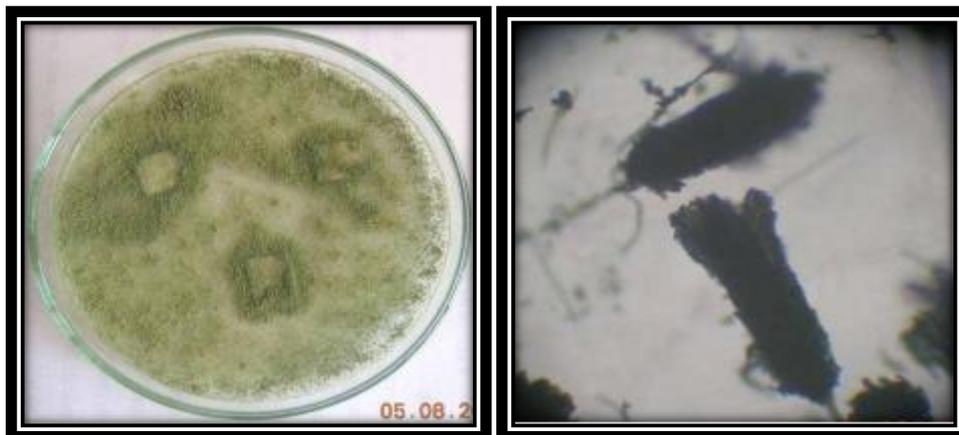
##### a) Caractères cultureux

Ce champignon est facilement isolé sur milieu de Sabouraud. Sur milieu de Czapek. Il se développe entre 10°C et 42°C (voire 48°C exceptionnellement). Les colonies sont généralement jaune verdâtre (initialement blanches, puis jaunes et enfin jaune verdâtre). Leur aspect est généralement granuleux dans la région centrale et plutôt poudreux en

périphérie. Cette espèce pousse rapidement (2-3 jours). La température optimale pour la croissance est de 37°C (Quatresous, 2011 ; Tabuc, 2007).

#### b) Morphologie microscopique

Les têtes conidiennes, unisériées ou bisériées, d'abord radiées, puis reparties en plusieurs colonnes de spores mal individualisées, jaunâtres au début, puis vert-jaune foncé. Les conidiophores hyalins, verruqueux, atteignent 1 à 2,5 mm de long. Les vésicules sont sub-globuleuses, et mesurent 25 (10-65) à 45 µm de diamètre. Les phialides (6- 10 x 4-5,5 µm) sont insérées directement sur la vésicule (unisériées) ou portées par des métules. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de 3-6 µm de diamètre, de couleur vert pâle, verruqueuses. Les sclérotes, fréquents dans les isolats récents, sont globuleux à sub-globuleux, d'abord blanc puis virant au brun-rouge foncé et au noir (Tabuc, 2007).



(A)

(B)

**Figure 1:** *Aspergillus flavus*.

(A) Aspect macroscopique et (B) Aspect microscopique (Mouria et al., 2013).

#### 7.2.2. *Aspergillus fumigatus*

*Aspergillus fumigatus* est un ascomycète saprotrophe filamenteux présent dans le monde entier (Valdes et al., 2018). Classé comme champignons mycotoxinogènes.

##### a) Caractères cultureux

C'est un champignon à croissance rapide, et la taille des colonies atteint  $4 \pm 1$  cm en une semaine sur milieu agar Czapek à 25°C. Il est capable d'évoluer à 45°C. Il a une

apparence d'herbe blanche puis vert ou gris et enfin marron foncé avec une apparence de fumée, le dessous de la culture est de couleur foncée. (Bernard-Cardona, 2003 ; Quatresous, 2011 ; Thierry, 2011 ; Fillaux, 2013 ; Valdes et al., 2018).

#### b) Morphologie microscopique

Ce champignon produit un grand nombre de conidies (spores asexuées) qui sont libérées dans l'air. Ces conidies sont globuleuses, échinulées, vertes, produites en chaîne à partir de phialides basipètes de dimension 6 à 8 sur 2 à 3  $\mu\text{m}$ . Les phialides naissent directement de la vésicule (20 à 30  $\mu\text{m}$  de diamètre), sans rangée de métules (Pasqualotto, 2009 ; Thierry, 2011 ; Fillaux, 2013 ; Valdes et al., 2018).



(A)

(B)

**Figure 2 :** *Aspergillus fumigatus*.

(A) Aspect macroscopique (Thierry, 2011) et (B) Aspect microscopique (Tabuc, 2007).

#### 7.2.3. *Fusarium oxysporum*

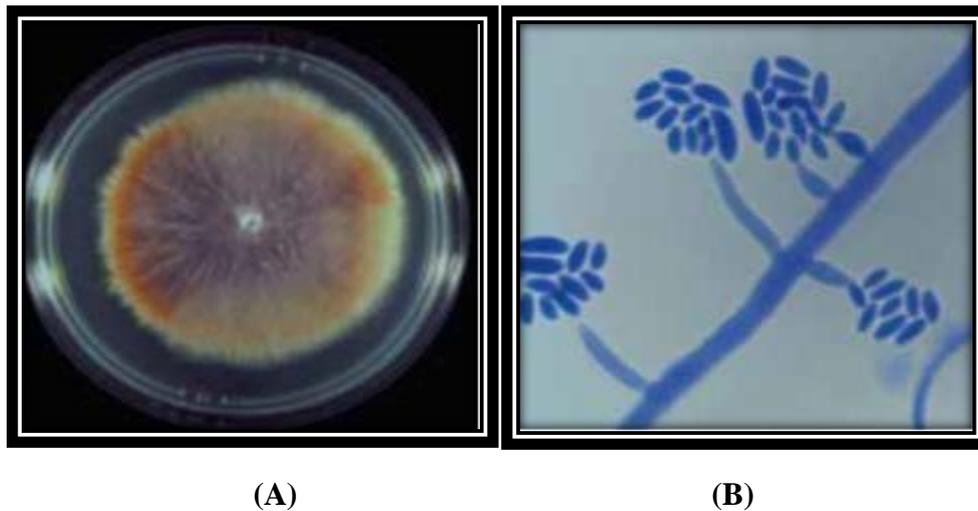
L'espèce *Fusarium oxysporum* se trouve dans les sols du monde entier où elle agit comme parasite ou saprophyte, elle est inféodée aux cultures maraîchères. Considéré comme une ascomycete, bien que le stade sexuel n'ait pas encore été déterminé. Il est proposé d'être assez proche du groupe teleomorphique de Gibberella que de Nectria. Chez l'espèce *F. oxysporum*, il y a plus de 120 formes particulières selon leur pouvoir pathogène sur les plantes hôtes. (Aouar, 2012 ; Mebarki, 2016).

##### a) Caractères cultureux

Ce champignon croît modérément dans les milieux de culture utilisés en laboratoire. Les colonies, sont blanches, pêches, roses saumon à violet. Le revers est pourpre (Tabuc, 2007).

**b) Morphologie microscopique**

Les microphialides (10-14 x 3,5-5  $\mu\text{m}$ ) peuvent s'agréger en sporodochies. Ils sont abondants, ovoïdes, ellipsoïdales, isolées ou potées par des conidiophores courts et ramifiés. Les macrophialides sont éparées ou groupées en sporodochies (Figure 03). Ils sont fusiformes, plus ou moins courbées, pointues aux deux extrémités, présentant 3 à 5 septums. Elles mesurent 27-65 x 3-5  $\mu\text{m}$ . Les chlamydo-spores, terminales ou intercalaires, formées dans le mycélium et dans les conidies, sont sub-globuleuses et hyalines (5-15  $\mu\text{m}$  de diamètre) (Tabuc, 2007).



**Figure 3 :** *Fusarium oxysporum*.

(A) Aspect macroscopique et (B) Aspect microscopique (Tabuc, 2007).

Chapitre 02 :  
Les champignons et la  
lutte biologique

## 1. Généralités

Selon Van Drische et Bellows, (1996) : « La lutte biologique est un processus agissant au niveau des populations et par lequel la densité de population d'une espèce est abaissée par l'effet d'une autre espèce qui agit par prédation, parasitisme, pathogénicité ou compétition » **(Bovin, 2001)**

Elle est basée sur l'utilisation d'organismes vivants dans le but de limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures « rongeurs, insectes, nématodes, maladies des plantes et mauvaises herbes ». **(Grison, 1991)**

Pour réussir, la connaissance de la biologie et de l'écologie du ravageur et de son (ses) ennemi(s) naturel(s) est indispensable. La lutte biologique peut se faire soit naturellement, soit par l'introduction des ennemis naturels en quantité optimale et au bon moment **(Bovin, 2001)**

L'objectif de cette méthode est donc à terme de remplacer, en totalité ou en partie, les pesticides chimiques utilisés en agriculture et en foresterie **(Bovin, 2001)**.

## 2. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique

**2.1. Antibiose** : l'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique **(Jijakli, 2003)**. Elle consiste à la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène **(Corbaz, 1990)**.

**2.2. Compétition** : la compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante **(Jijakli, 2003)**.

**2.3. Parasitisme** : ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre **(Helluy et Holmes, 2005)**.

Chapitre 03 :  
Les grottes et les  
champignons du sol

## 1. Les grottes

### 1.1. Généralités

Une "grotte" est définie comme tout espace naturel sous la surface qui s'étend au-delà de la zone crépusculaire et qui est accessible à l'homme (Gillieson, 1996 ; Hill et Forti, 1997). Les grottes peuvent être classées de plusieurs manières, notamment en fonction du type de roche et de la méthode de formation (Palmer, 1991).

Les grottes sont généralement des biotopes sous-alimentés, Concentration minérale élevée et basse température relativement stable. Les grottes peuvent donc être considérées comme des environnements extrêmes tout au long de la vie, offrant une niche écologique pour des microbes hautement spécialisés (Schabereiter-Gurtner et al., 2003 ; Martin-Sanchez et al., 2011).

Leurs ressources sont souvent limitées en raison du manque de lumière qui empêche les plantes de produire principalement de la matière organique. (Northup et Kathleen, 2001).

### 1.2. Type des grottes

Les grottes peuvent être classées de plusieurs manières, notamment en fonction du type de roche et de la méthode de formation. Les types de grottes les plus courants sont ceux formés dans le calcaire et d'autres roches calcaires, ainsi que les tubes de lave dans les roches basaltiques. Les autres types de grottes ont généralement une étendue limitée et comprennent celles qui se trouvent dans le gypse, le granit, le talus, le quartzite, la glace et le grès (Palmer, 1991 ; König, 2016).

L'environnement intérieur de la grotte peut être divisé en quatre zones principales en fonction de la quantité de lumière qui pénètre à l'intérieur.

- La zone d'entrée où se trouvent les environnements aériens et souterrains.
- La zone crépusculaire, où les rayons s'estompent. Aucune plante ne peut y pousser.
- Zone de transition pour ce niveau. La lumière est éteinte, mais la surface des influences environnementales telles que la température et l'humidité est toujours détectés.
- Zones profondes où il fait complètement noir, humide et toujours froid. (Ghosh et al., 2016).

#### 1.2.1. Les stalactites tombantes

La formation des stalactites est évidemment un processus très long durer des milliers d'années. Il existe de très fines stalactites appelées spaghetti (Ghosh et al., 2016).



**Figure 04** : Les stalactites (**Beni Add**).

### **1.2.2. Les stalagmites montantes**

Contrairement aux stalactites, Les stalagmites se forment depuis le sol par l'accumulation d'eau calcaire tombant goutte à goutte d'une stalactite (Figure 4). Ainsi, une stalagmite est toujours couplée à une stalactite.

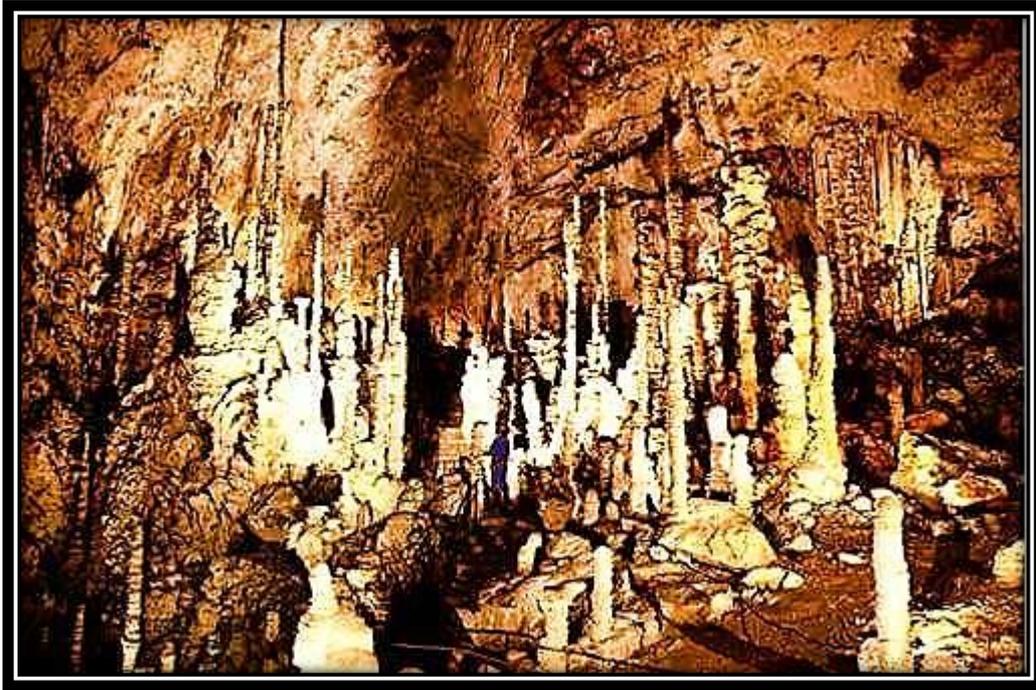


Figure 05 : Les stalagmites (König, 2016).

## 2. Les champignons du sol

### 2.1. Le sol

#### 2.1.1. Généralités

Le sol est la couche superficielle meuble de la lithosphère terrestre, présentant une épaisseur variable de quelques centimètres à plusieurs mètres. Il dispose de son atmosphère interne, ainsi que d'une flore et d'une faune spécifiques. C'est un milieu minéral poreux : gaz et liquides peuvent y circuler. On y distinguera donc trois compartiments physiques : solide, liquide, gazeux mais le sol n'est pas seulement un substrat physico-chimique, c'est aussi un support de vie, créatrice de matière organique (Davet, 1996 ; Barles *et al.*, 1999).

Il est composé d'au moins quatre composantes : (Luis, 2004)

- ✓ La matière inorganique minérale, typiquement 40% ou plus du volume du sol.
- ✓ La matière organique, habituellement d'environ 5%.
- ✓ L'air et de l'eau, plus ou moins 50%.
- ✓ Des micro-organismes et des macro-organismes, environ 5%.

C'est un système dynamique complexe qui évolue en permanence sous l'action de processus pédogénétiques relativement lents, bien que certains événements ponctuels puissent accélérer leur évolution (par exemple érosion rapide et importante dans le cas d'un événement climatique violent), et peut se dégrader (Duchaufour, 1997 ; Grosbellet, 2008).

### 2.1.2. Propriétés microbiologiques

Le sol est l'habitat naturel pour des myriades de microorganismes et d'autres formes vivantes. 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 **(Iuis, 2004)**.

Dans la plupart des sols cultivés et bien aérés, les champignons représentent cependant la plus grande partie du protoplasme microbien total. La biomasse des microchampignons est 1500 kg/ha. Les genres le plus fréquemment observés dans le sol sont les suivants : *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Aspergillus*. La microflore des champignons apparaît comme étant beaucoup plus variée **(Bååth and Söderström, 1980 ; Schnürer et al., 1985 ; Boiron, 1996 ; Bertrand et de Halleux, 2005)**.

Les champignons du sol comportent les saprophytes, les symbiotiques (mycorhizes) et les parasites selon la façon dont ils obtiennent leur carbone et énergie **(Christensen, 1989 ; Senal et al., 1993 ; Prescott et al., 1995)**.

# MATERIEL ET METHODES

Ce travail dépend avant tout de l'étude de mécanisme de la lutte biologique contre les champignons phytopathogènes des plantes, c'est-à-dire l'antagonisme par des agents biologiques « *Trichoderma* et *Penicillium* » d'origine souterrain contre des agents phytopathogène « *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus* ».

### **1. Isolement des antagonistes**

#### **1.1. Milieu de culture**

Afin de réaliser l'isolement de la mycoflore de nos échantillons, on a utilisé le milieu PDA (Potatoes Dextrose Agar). Afin d'éviter toutes contaminations bactériennes, le PDA utilisé est acidifié jusqu'à 4,5 à 5 en utilisant 1 ml de l'acide lactique à 25% pour un flacon de 200 ml de PDA (Moussaoui, 1994).

#### **1.2. La mise en culture**

L'isolation de les agents antagonistes '*Trichoderma, Penicillium*' a été réalisée par mes collègues ( **Zahal Nafissa** et **Zouad Narimen** )

### **2. Purification et conservation des isolats**

Les isolats sont d'abord purifiés par repiquages successif sur le milieu d'isolement PDA. Par la suite, ils ont été repiqués sur le même milieu coulé en pente dans des tubes à vis, pour conservation à 4° C.

### **3. Identification des isolats sélectionnés**

Les souches pures ont été caractérisées par, leurs aspects macroscopiques et microscopiques :

#### **3.1. Les caractéristiques macroscopiques**

Ils ont été déterminés par le diamètre des colonies, la couleur et la sécrétion des pigments diffusible

#### **3.2. Les caractéristiques microscopiques**

Fonde sur les caractéristiques qui ont été établies par deux techniques

##### **3.2.1. Méthode de Scotch**

Qui consiste à adhérer à l'aide d'un ruban adhésif, une fraction mycélienne à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant quelques gouttes de bleu de méthylène. Les observations microscopiques ont été effectuées au Grossissement (Gx10, Gx40 et Gx100) à l'aide d'un microscope.

L'observation microscopique permet la visualisation de la forme de mycélium et les spores caractéristiques des champignons.

### 3.2.2. La technique de microculture

Elle consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés, de milieux PDA, acidifiés et les recouvrir par une lamelle. Les spores sontensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène nécessaire à leur germination. Ensuite les conditions dans une chambre stérile et humide et les incubent à 25 °C pendant 3 à 5 jours après l'incubation, on effectue les observations de lames grâce à un microscope (Gx10, Gx40 et Gx100) (Haris, 1989).

## 4. Test d'antagonisme

### 4.1. Champignon cible

Afin de réaliser le test, on a utilisé des souches qui proviennent du laboratoire de Produits naturels. Ces souches : *Fusarium oxysporium* MNHN 963917, *Aspergillus fumigatus* MNHN 566, *Aspergillus flavus* MNHN 994294 ont été conservées sur PDA en tubes inclinés à 4°C.



**Figure 4:** Champignons cibles en tubes.

### 4.2. Préparation de l'inoculum fongique

La préparation de l'inoculum fongique du test nécessite, premièrement le contrôle de pureté des souches utilisées. On a réalisé cette étape par ré-isolément de chacune des souches sur le milieu de culture PDA coulé en boîte de Pétri.

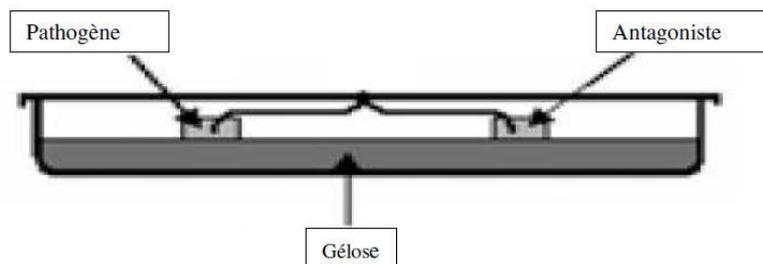
### 4.3. La réalisation du test

Le test d'activité antifongique des isolats purifiés de *Trichoderma* et *Penicillium* consiste à rechercher leur effet antagoniste sur le développement des espèces phytopathogène. Alors, nous avons utilisé la méthode de confrontation directe, encore appelée la technique des « cultures opposée ».

#### 4.3.1. La confrontation par contact directe

Cette méthode consiste à prélever des cylindres d'agar de 6mm de diamètre d'une culture d'antagoniste, et les déposer par la suite dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Un cylindre de 6mm de diamètre de champignon phytopathogène est ensuite déposé à une distance de 3cm du cylindre d'antagoniste. Les deux cylindres sont placés suivant un axe diamétral et à équidistance du centre de la boîte (figure 7).

Chaque souche antagoniste est confrontée au champignon phytopathogène qui lui est cible. L'incubation est réalisée à 25°C pendant six jours (Hibar et al., 2004).



**Figure 5:** Technique de confrontation directe.

Les témoins sont représentés par des boîtes de Pétri contenant uniquement le champignon cible.

#### 4.3.2. Evaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes

L'évaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène (Hmouni et al., 1996) selon la formule suivante :

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

Où :

- $C_n$  : est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste.

- Co : est le diamètre moyen des colonies témoins.

# RESULTATS ET INTERPRETATIONS

## 1. Purification et conservation des champignons

Les souches purifiées et conservées sont représentées dans la figure suivante :



Figure 6: Des champignons en tubes.

## 2. Identification des champignons

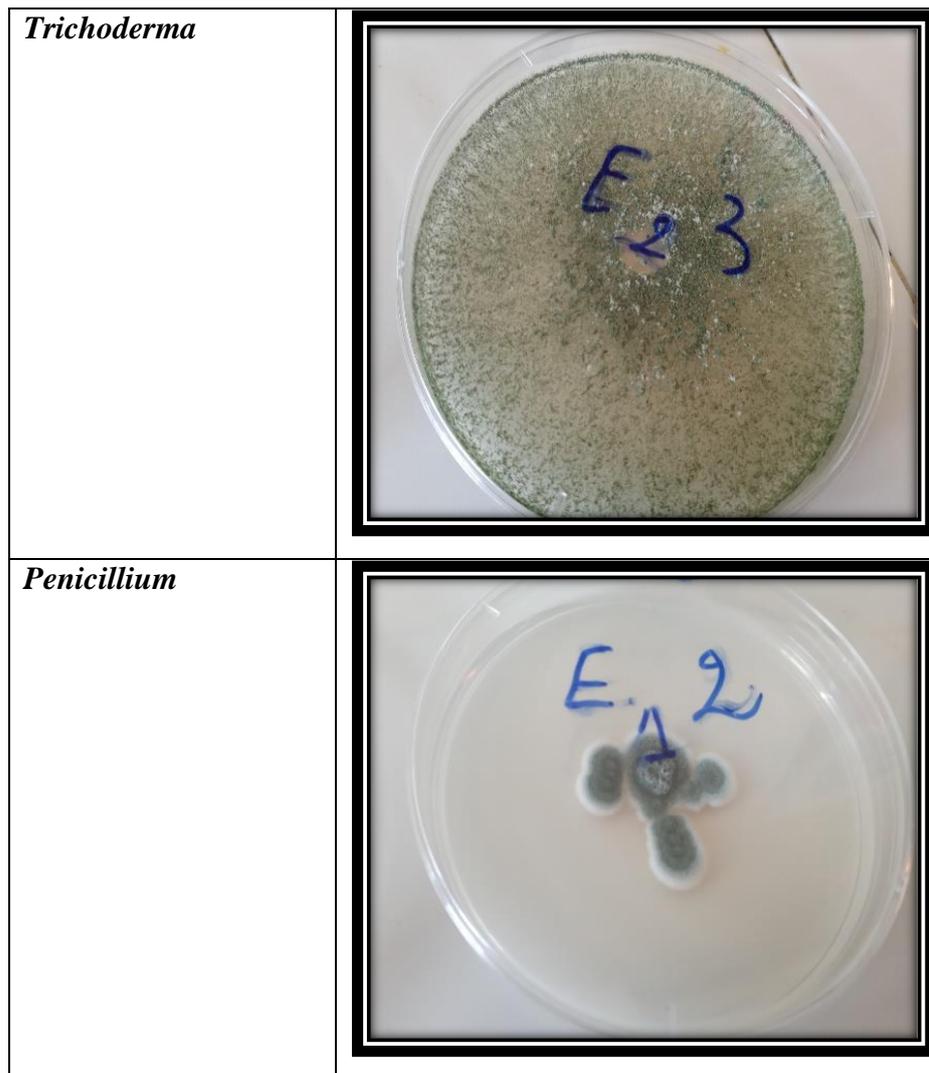
L'identification des souches fongiques s'est basée sur l'étude macroscopique et microscopique. On a basé essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique selon **Botton (1990) et Guiraud (1998)**.

### 2.2. Etude macroscopique

L'identification macroscopique a révélé l'appartenance des souches sélectionnées aux deux genres (*Penicillium* et *Trichoderma*).

Tableau 1: L'aspect macroscopique des isolats.

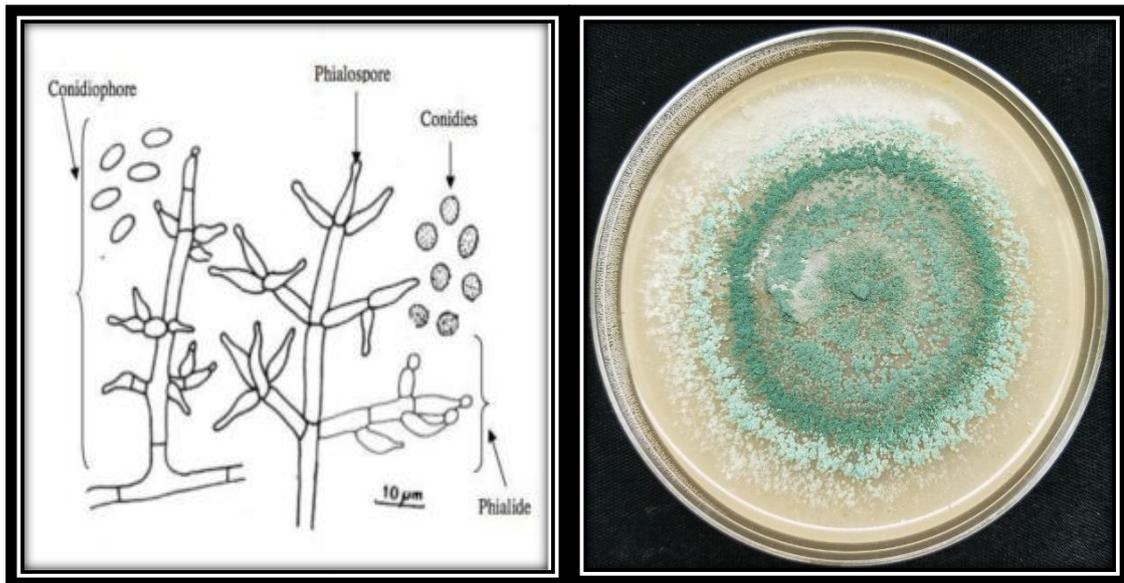
L'isolat	L'aspect macroscopique
----------	------------------------



### 2.2.1. Le genre *Trichoderma*

#### 2.2.1.1. Morphologie

*Trichoderma* est un champignon filamenteux (Mhamdi, 2011). Selon (Cournut, 1984 ; Landreau, 2001 ; Kubicek et al., 2003), *Trichoderma* isolées sur PDA, Repartit en boîte montrent une croissance rapide et extensive, avec un aspect laineux de couleur blanche ou départ, puis verte avec le temps. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation de phialides. Cinq jours après sa germination. La conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la Conidiogénèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite.



**Figure 7 :** Caractères morphologiques et observation macroscopique de *Trichoderma* (Ben amira, 2018), (Source flickr)

### 3.1.1.2. Taxonomie

Les travaux pionniers de Rifai (1969) ont proposé de distribuer *Trichoderma* dans neuf ensembles spécifiques (Almi, 2016 ; Sadfi-Zouaoui et al.,2008).

Alors que la révision du genre *Trichoderma* par Bisset (1991) avait inclus plusieurs anamorphes d'*Hypocrea* établissant ainsi cinq nouvelles sections, parmi lesquelles correspondaient les ensembles déjà décrits par Rifai (Sadfi-Zouaoui et al.,2008).

La position taxonomique actuelle du *Trichoderma* est la suivante sur le tabelau (Leghlimi, 2013 ; Benouzza, 2012 ; Benkada, 2006 ; Ghorri, 2015 ; Bekkar, 2016).

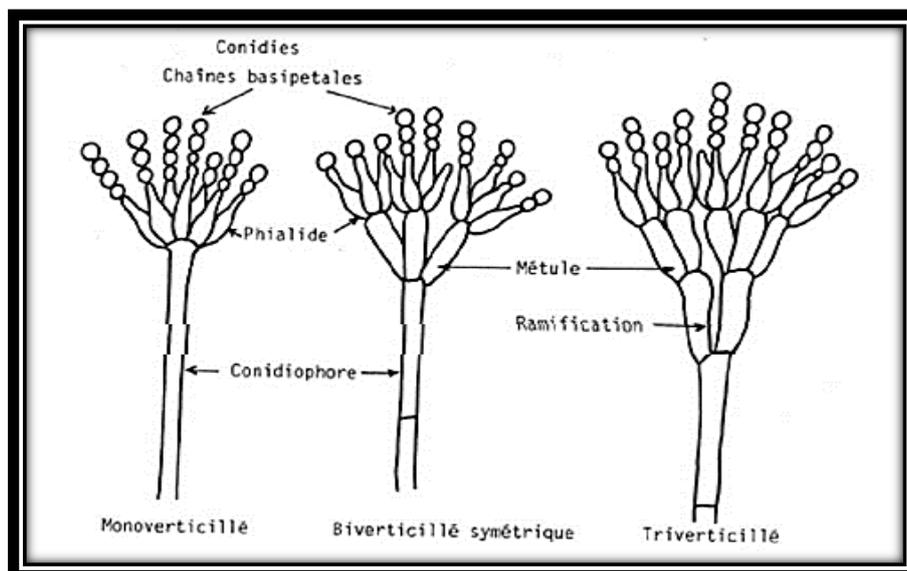
**Tableau 2 :** Classification du genre *Trichoderma*.

<b>Règne</b>	<i>Mycetea (Fungi)</i>
<b>Division</b>	<i>Amastigomycota</i>
<b>Sous-division</b>	<i>Ascomycotina</i>
<b>Classe</b>	<i>Sordariomycètes</i>
<b>Ordre</b>	<i>Hypocréales</i>
<b>Famille</b>	<i>Hypocraceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Trichoderma</i>

### 3.1.2. Le genre *Penicillium*

#### 3.1.2.1. Morphologie

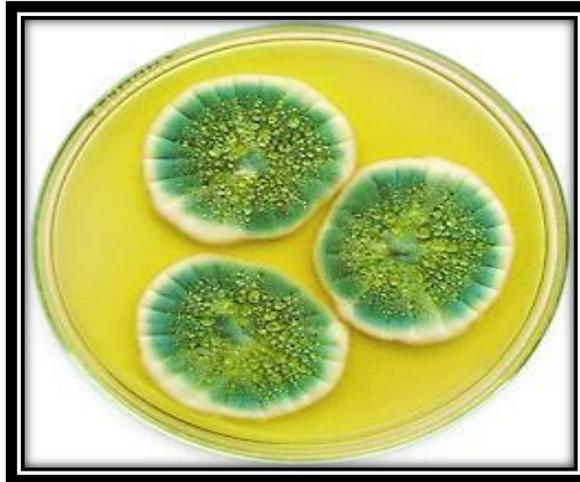
Les *penicilliums* se distinguent par leur organisation en pinceau (Figure 10). Le thalle, formé de filaments mycéliens septés hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés, en faisceaux lâche ou agrégés en corémies bien individualisés (Anani et Bentaleb, 2016).



**Figure 8 :** Principaux caractères morphologiques des *penicilliums* (Tabuc, 2007).

A partir de (Tabuc, 2007), *Penicillium* se développe rapidement et facilement sur les milieux de culture utilisés en routine (gélose au malt, Sabouraud). Ils se développent à des températures modérées de l'ordre de 20-27 °C. Après 2 jours d'incubation, on observe des

petites colonies plates, formées de courts filaments aériens, habituellement blanc. Après 3-4 jours d'incubation, la sporulation va conférer aux colonies leur teinte, le plus souvent dans les tons verts, Verts-bleus, vert-gris, vert-jaune, gris-bleu mais aussi, Pour certaines espèces jaunes, orange, chamois, rose ou rouge.



**Figure 9:** Observation macroscopique de *Penicillium* (Angelucci et al., 1997).

### 3.1.2.2. Taxonomie

Le genre *Penicillium* contient environ 300 espèces (Samson et Pitt, 1985), qui sont classées dans le taxon suivant (tableau 3) :

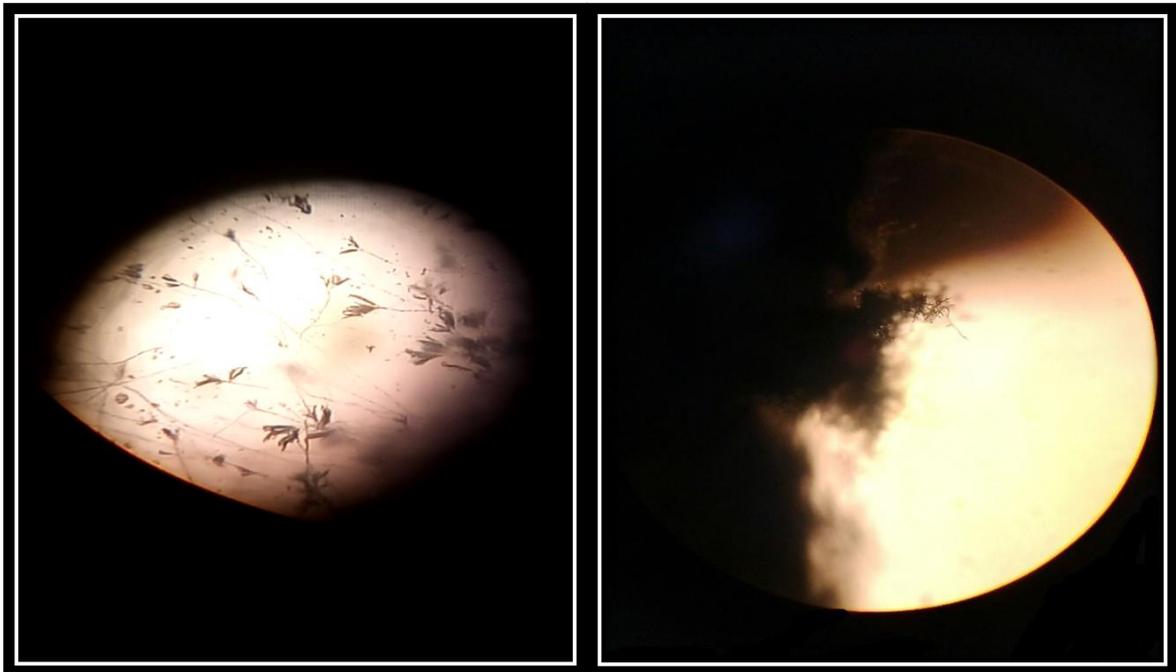
Cette classification a été d'abord décrite dans la littérature scientifique par Johann Heinrich Friedrich Link dans son ouvrage observations dans les plantarum ordines naturales en 1809.

**Tableau 3:** Classification du genre *Penicillium*.

<b>Règne</b>	<i>Mycetea (Fungi)</i>
<b>Division</b>	<i>Amastigomycota</i>
<b>Sous-division</b>	<i>Ascomycotina</i>
<b>Classe</b>	<i>Ascomycetes</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Plectomycetidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Eurotiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Eurotiaceae (Trichocomaceae)</i>
<b>Genre</b>	<i>Penicillium</i>

### 3.2. Etudes microscopique

L'observation microscopique des moisissures isolées sont les suivants (figure 12) :



(A)

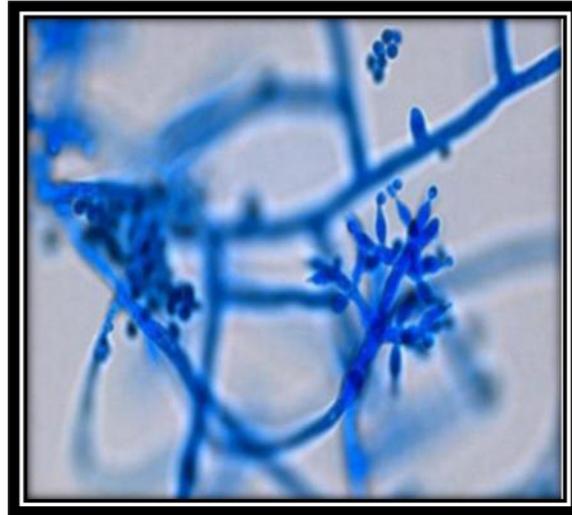
(B)

**Figure 10** : Aspect microscopique des souches isolées.

(A) : *Trichoderma* ; (B) : *Penicillium*.

#### 3.2.1. Le genre *Trichoderma*

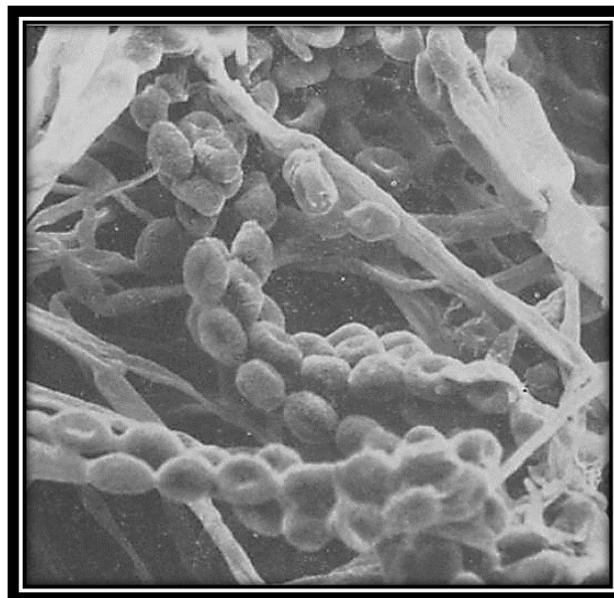
Sous microscope, *Trichoderma* a un mycélium composé d'hyphes jaunes, Septés, Ramifiés, parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiée, ils portent des phialides en forme des flasques ou de quilles. À leur tour, les phialides portent les spores (phialospores ou bien conidies) (Almi, 2016).



**Figure 11:** Observation microscopique de *Trichoderma* (Ben amira, 2018).

### 3.2.2. Le genre *Penicillium*

Au point de vue morphologique, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau. Le thalle cloisonné porte le conidiophores, simple ou ramifié, se terminant par un pénicille. Les conidiophores peuvent être groupés en faisceaux lâche ou rassemblés en corémies (Colonne de conidiophores). Les phialides (cellules conidigènes) sont disposées en verticilles à l'extrémité de conidiophores. Les phialides donnent naissance aux spores qui se positionnent alors en chaîne (**Gauthier, 2016**).



**Figure 12:** Observation microscopique des conidiophores et des hyphes filamenteux de *Penicillium chrysogenum* (Nozowa et al., 1970).

#### 4. Effet d'antagonisme des souches isolées

La mise en évidence de l'activité antifongique des souches de *Trichoderma* et *Penicillium* purifié consiste à rechercher leurs effets antagonistes sur le développement des espèces de *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus*.

En effet, cette étude a été faite *in vitro* selon la méthode de confrontation directe.



**Figure 13:** Les souches pathogènes.

A.fu : *Aspergillus fumigatus* ; Fu : *Fusarium oxysporum* ; A.f : *Aspergillus flavus*.



Figure 14: Test d'antagonisme de *Trichoderma* après 3 jours.

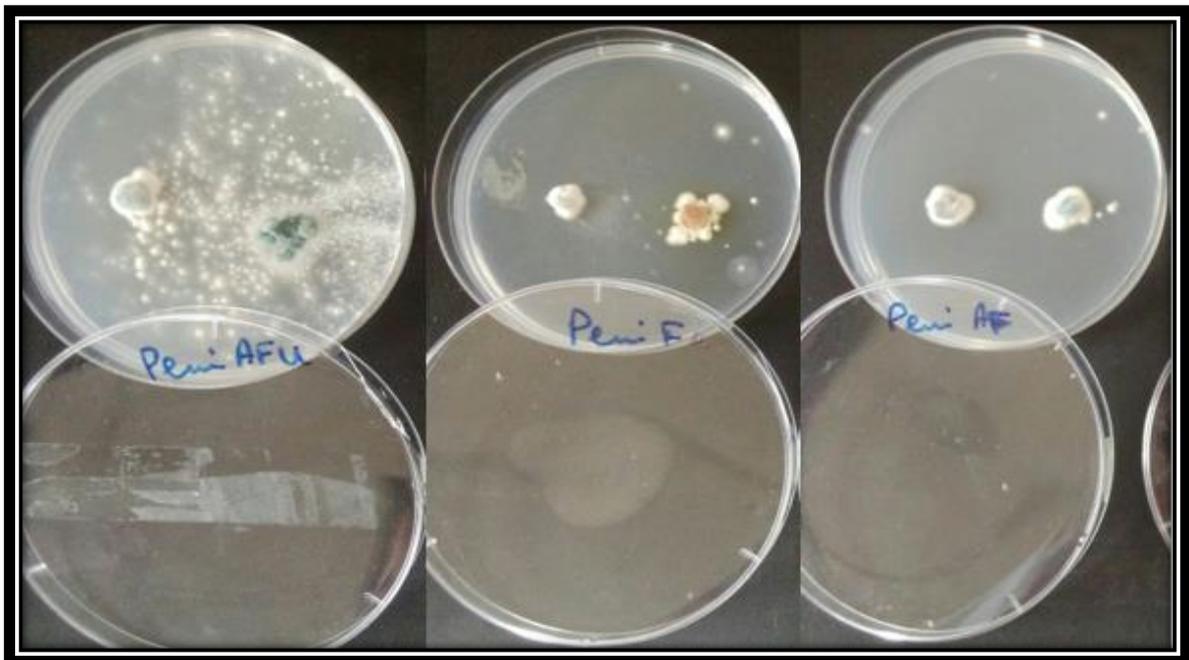
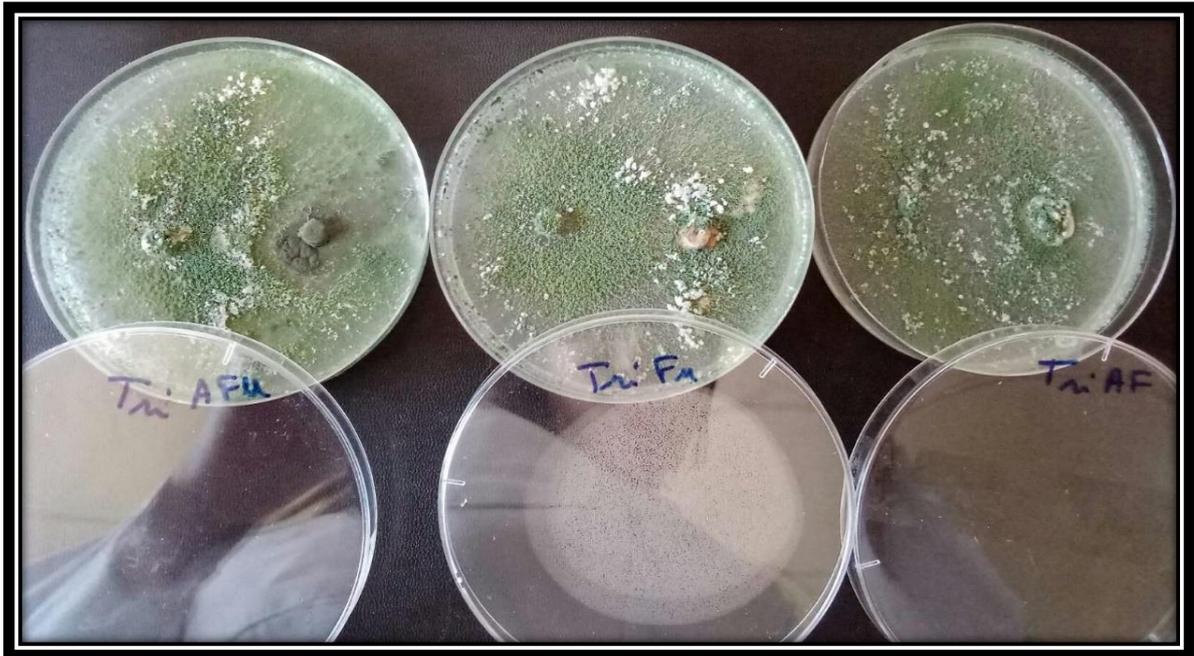


Figure 15: Test d'antagoniste de *Penicillium* après 3 jours.



**Figure 16:** Test d'antagonisme de *Trichoderma* après 7 jours.



**Figure 17:** Test d'antagonisme de *Penicillium* après 7 jours.

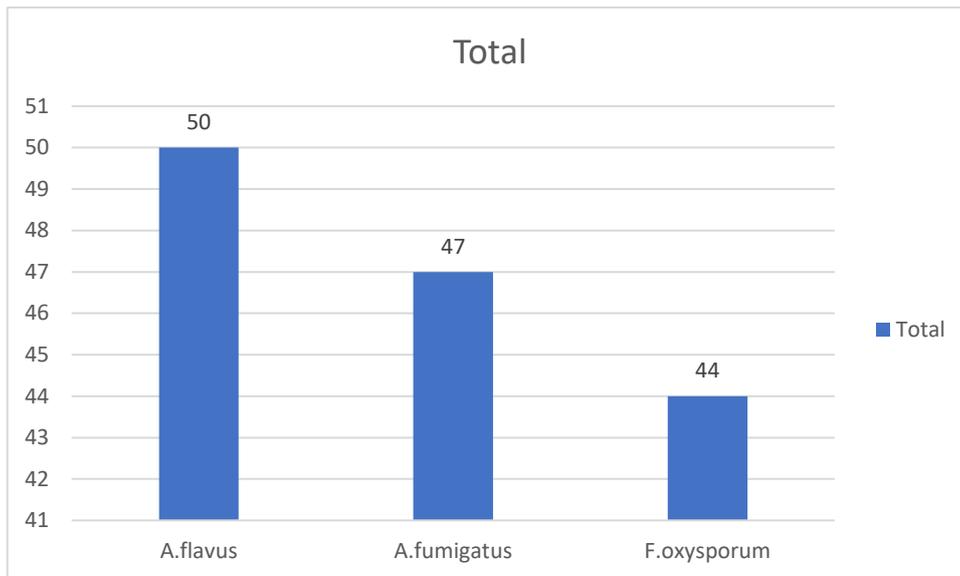
Les tableaux suivants (04,05) et les figures (21,22,23,24) montrent les résultats du test d'antagonisme des deux souches *Trichoderma* et *Penicillium* contre les agents pathogènes par confrontation directe après 3 jours et 7 jours d'incubation :

**Tableau 4:** Les résultats du test d'antagonisme des deux souches *Trichoderma* (E23) et *Penicillium* (E12) après 3 jours.

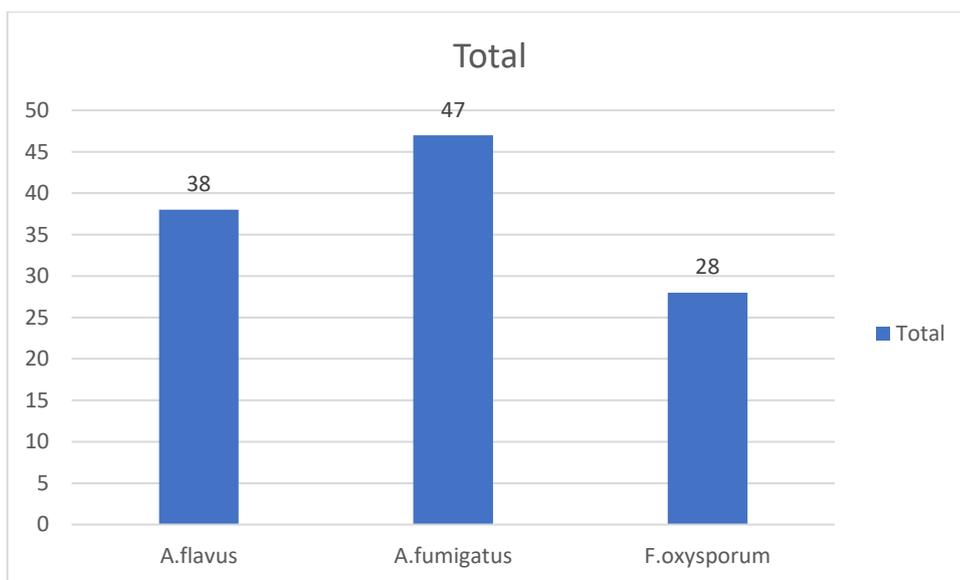
Antagoniste	Souche pathogène	Pourcentage d'inhibition (%)
E23	<i>F.oxysporum</i>	44
	<i>A.flavus</i>	50
	<i>A.fumigatus</i>	47
E12	<i>F.oxysporum</i>	28
	<i>A.flavus</i>	38
	<i>A.fumigatus</i>	47

**Tableau 5:** Les résultats du test d'antagonisme des deux souches *Trichoderma* (E23) et *Penicillium* (E12) après 7 jours.

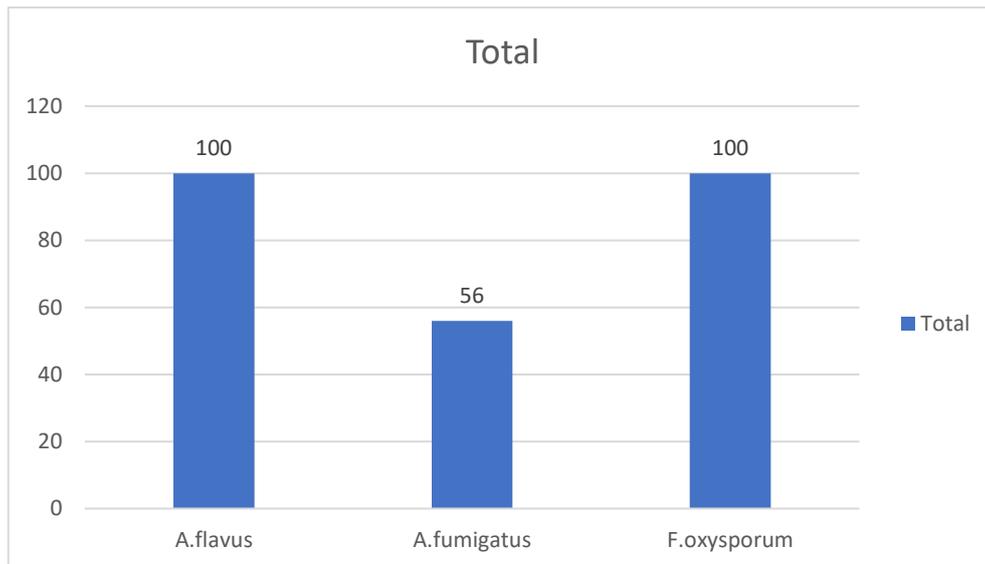
Antagoniste	Souche pathogène	Pourcentage d'inhibition (%)
E23	<i>F.oxysporum</i>	100
	<i>A.flavus</i>	100
	<i>A.fumigatus</i>	56
E12	<i>F.oxysporum</i>	43
	<i>A.flavus</i>	47
	<i>A.fumigatus</i>	68



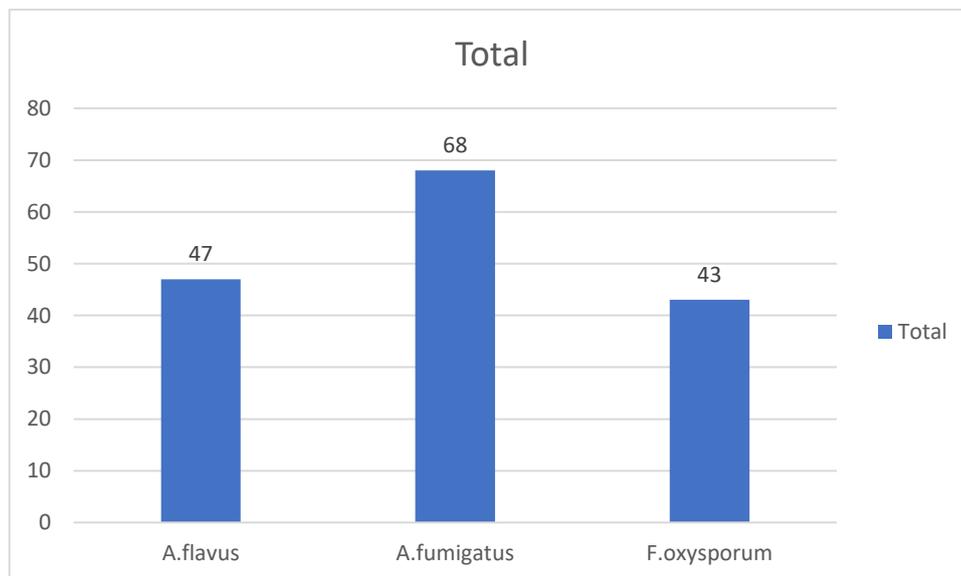
**Figure 18:** Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de *Trichoderma* après 3 jours.



**Figure 19:** Estimation des pourcentages d'inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de *Penicillium* après 3 jours.



**Figure 20:** Estimation des pourcentages d’inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de *Trichoderma* après 7 jours.



**Figure 21:** Estimation des pourcentages d’inhibitions des souches phytopathogènes par la souche de *Penicillium* après 7 jours.

Les résultats de la confrontation directe entre les deux souches isolées (*Trichoderma* et *Penicillium*) et les trois souches pathogènes (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Fusarium oxysporum*), montrent que la croissance mycélienne des souches pathogènes témoins est plus importante en comparaison à ceux obtenus avec les différentes confrontations (Pathogène - Antagoniste)

Après 3 jours d’incubation, la souche de *Trichoderma* a montré une bonne activité inhibitrice vis à vis les souches pathogènes, et ceux par l’apparition d’une zone d’inhibition suivie par un arrêt de croissance pour l’ensemble des souches pathogènes, ce qui correspond à une inhibition de croissance mycélienne supérieure à 44%.

Alors que la souche de *Penicillium* a révélé une activité inhibitrice modéré par rapport à la souche de *Trichoderma*, qui est compatible avec une inhibition de la croissance du mycélium plus importante que 28%.

Après 7 jours d'incubation la souche de *Trichoderma*, on remarque que la croissance mycélienne continue à se développer avec le temps avec un taux supérieur à 56%.

Et la même analyse s'applique à la souche de *Pencillium*, avec un taux supérieur à 43%.

La souche de *Trichoderma* se montre la plus sensible avec un taux d'inhibition de 100% pour *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum* comparativement à la souche de *Penicillium* qui représente un taux tempère de 47% pour *Aspergillus flavus* et de 43% pour *Fusarium oxysporum*. Et exerce une action atténuée d'inhibition de 56% pour *Aspergillus fumigatus*, par rapport à la souche de *Penicillium* avec un taux de 68%.

D'après les deux tableaux (04,05) et les figures (21,23), les pourcentages d'inhibition les plus importants ont été observés contre *Aspergillus flavus* et cela pour la souche de *Trichoderma* (E23 : 50% / E23 : 100 %), suivie par ceux du *Fusarium oxysporum* (E23 : 44 % / E23 : 100 %), et en dernier lieu ceux d'*Aspergillus fumigatus* (E23 : 47 % / E23 : 56 %).

Alors que la souche de *Penicillium*, en suivant les deux tableaux (04,05) et les figures (22,24), les pourcentages d'inhibition les plus importants ont été observés contre *Aspergillus fumigatus* (E12 : 47% / E12 : 68%), suivie par ceux du *Aspergillus flavus* (E12 : 38 % / E12 : 47 %), et en dernier lieu ceux du *Fusarium oxysporum* (E12 : 28 % / E12 : 43 %).

Les taux d'inhibition de *Trichoderma* après 3 jours varient entre 44 % et 50 % et après 7 jours entre 56 % et 100 % selon l'espèce pathogène et en fonction de souche antagonistes testés et pour *Penicillium* après 3 jours varient entre 28 % et 48 % et après 7 jours entre 43 % et 68 %. Chacune des souches de l'antagoniste possède une aptitude particulière pour éliminer l'agent pathogène.

# DISCUSSION

Les résultats d'isolements des champignons à partir du sol d'un site caractérisé par l'absence d'une végétation ont montré que les champignons sont partout. Même avec un nombre et une biodiversité infime.

En effet, Les champignons ont développé des adaptations très diverses, de telle sorte qu'on les trouve dans pratiquement tous les milieux du monde. On les trouve sous tous les climats et sous toutes les latitudes (**Florent, 1993 ; Tachenon, 1999**).

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**).

De ce fait, les champignons colonisent principalement les couches superficielles du sol. La diminution du nombre de champignons dans les couches plus profondes du sol est due à une aération insuffisante et une faible teneur en substance organique. En plus les champignons du sol sont généralement des aérobies, alors ils ont besoin d'un libre accès à l'air pour leur développement normal (**Johanzen, 2019**).

Diverses études ont expliqué l'abondance des espèces de *Penicillium* et *Trichoderma* dans les écosystèmes, par leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes, ils sont de ce fait, un maillon important dans les chaînes biologiques (**Widden et Abitrol, 1980 ; Vining, 1990 ; Kubiceket al., 2003**).

D'après (**Botton et al., 1990**). L'identification reste l'opération la plus difficile dans le domaine de la mycologie, elle a pour but de classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification. Elle est basée sur les deux aspects : microscopiques et macroscopiques. Dont l'aspect macroscopique permet de connaître : les caractères culturaux, la couleur des colonies, la présence ou l'absence de l'exsudat et d'une odeur. Alors que l'aspect microscopique révèle les organes de fructification et la couleur des spores.

En ce qui concerne l'antagonisme entre les champignons. L'inhibition de croissance de ces champignons phytopathogènes est due à sa nature à croissance rapide, sécrétions des

composés extracellulaires néfastes libérées par l'antagoniste (*Trichoderma*, *Penicillium*) (le phénomène d'antibiose) comme des antibiotiques, enzymes dégradantes la paroi cellulaire telles que des gluconases, endochitinases, chitinase, la lipase et la protéase ou des composés phénoliques, la laccase dégradant la lignine et la mélanine (**Khiat, 2014**).

Le genre de *Trichoderma* inhibe efficacement la croissance mycélienne des trois souches phytopathogènes (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Fusarium oxysporium*), à des degrés variables. En plus, il a une action parasitaire, *Trichoderma* se développe plus rapidement par rapport au pathogènes en colonisant le milieu nutritif et en ravissant les éléments nutritifs, c'est le phénomène de compétition (**Alabouvette et al., 1983 ; Dubot, 1985 ; Davet, 1996**).

L'activité antifongique, observée par les souches *Trichoderma* et *Penicillium*, peut être due à la production d'enzymes extracellulaire. Ces enzymes sont responsables de la dégradation des parois cellulaires des agents pathogènes (**Lorito et al.,1993**).

De leurs côté, **Elsas et al., (1997)** considère *Trichoderma* comme un ascomycète cellulotique. L'activité mycoparasitaire de *Trichoderma* contre les sclérotés des champignons phytopathogènes est considérée comme un outil puissant pour la lutte biologique, puisque ces structures végétatives, très résistantes, représentent la forme de survie primaire du pathogène dans le sol (**Fang et al., 2005 ; St Leger et Wang, 2010 ; Sandhu et al., 2012**).

D'après ces chercheurs (**Daami-Remadi et El Mahjoub, 2001 ; Howell, 2003 ; Fang et al., 2005 ; St Leger et Wang 2010 ; Sandhu et al., 2012**), qui travaille sur l'antagonisme entre les mycète ils constate après l'étude microscopique de ces derniers que la zone de contact entre l'agent pathogène et l'antagoniste pendant le test d'antagonisme par confrontation directe, un enchevêtrement est observé entre l'action de mycoparasitisme qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque le *Penicillium* , *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur, et l'action d'antibiose qui se manifeste par l'injection des substances (enzymes ou antibiotiques) qui détruisent le mycélium de pathogène.

D'après les résultats des chercheurs qui travaillent sur l'effet d'antagonisme entre les champignons montrent que *Penicillium* et *Trichoderma* appliquent une activité inhibitrice sur le développement des colonies de champignons phytopathogènes

*Trichoderma* possède une batterie de mécanismes d'attaque potentiellement utilisables mais qui demeurent toutefois complexes (Gaigole et al., 2011, Bhale et al., 2013 et Khang et al., 2013). Il peut employer un ou plusieurs modes d'action en même temps pour maîtriser un agent pathogène.

# CONCLUSION

Ce travail consiste à la conception de la lutte biologique par *Penicillium*, *Trichoderma* contre les champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*.

L'isolement et la purification ont été réalisés sur le milieu PDA à partir du sol prélevée des grottes de la région d'Ain Fezza. L'identification macroscopique et microscopique des champignons ont mis en évidence 2 souches fongiques : *Penicillium* et *Trichoderma*

L'effet de l'activité antagoniste des souches de *Penicillium*, *Trichoderma* contre les trois champignons phytopathogènes *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Fusarium oxysporum* a été étudiée selon la méthode de confrontation directe. Ceci s'explique par l'aptitude d'agent antagonistes à produire des substances volatiles qui provoqueraient la lyse du mycélium et des spores du pathogène et sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.

En résumé, les résultats de cette modeste recherche nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel antagoniste de *Penicillium* et *Trichoderma* à l'égard des champignons phytopathogènes testés.

En se basant sur ces résultats, il est d'intérêt primordial de fixer les points suivants comme perspectives :

- ✓ L'activité d'antagonisme de *Penicillium* et *Trichoderma* isolées sur une gamme plus large de champignons phytopathogènes.
- ✓ L'utilisation d'autres techniques du test d'antagonisme *in vitro*.
- ✓ Tester l'effet *in vivo* des souches *Penicillium* et *Trichoderma* isolées sur la croissance des champignons phytopathogènes.
- ✓ La confirmation de l'identification des souches isolées par voie moléculaire.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- ◆ **Agrios, G.N. (2005).** Plant Pathology. 5 th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- ◆ **Alabouvette, C., Coureaudier, Y., Louvet,J. (1983).** Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, pp 7-16. XXIV.
- ◆ **Almi H. (2016).** Etude des myco-pathogènes de *Lens culinaris* et évaluation de l'effet de deux souches de *Trichoderma harzianum* : cas de la Fusariose et de la Cylindrosporiose. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine P 40.
- ◆ **Ameur, H. (2014).** Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de *Streptomyces* et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Thèse de doctorat en science microbiologique. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- ◆ **Anani B et Bentaleb S. (2016).** Production des protéases extracellulaire des moisissures du sol : effets de pH et de température. Mémoire du master. Sciences de la nature et de la vie. Université des frères Mentouri. Constantine.
- ◆ **Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement, Travail). (2016).** Moisissures dans le bâti. Avis de l'Anses Rapport d'expertise collective. Edition scientifique. Maisons-Alfort.
- ◆ **Aouar Lamia, Sylvain Lerat, Ammar Ouffroukh, Abderrahmane Boulahrouf & Carole Beaulieu. (2012).** Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi- arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. « Canadian Journal of plant Pathology ». 165-176.
- ◆ **Barles, S., Breyse, D., Guillerme, A. & Laeyval, C., (1999) :** Le Sol Urbain. CollectionVILLES, Economica, Paris. 278p.
- ◆ **Bååthe, E., Söderström, B.E. (1980).** Comparaisons of the agar-film and membrane filter methods for the estimation of the hyphal lengths in soil, with particular reference to the effect of magnification. Soil Biol. Biochem. 12 :385-387.
- ◆ **Bekkar A.A. (2016).** Pouvoir antagoniste et mode d'action de *Trichoderma* vis-à-vis de quelques champignons phytopathogènes. Thèse de doctorat eb sciences.phytopathologie. Université Mustapha STAMBULI de MASCARA.

- ◆ **Ben amira, M. (2018).** Etude de la relation mycoparasitaires *Trichoderma harzianum* avec *Fusarium solani* chez l'Olivier ; caractérisations moléculaires et fonctionnelles des aquaporines chez *Trichoderma harzianum*. Génétiques des plantes. Université clermont Auvergne. Français. NNT : 2018 CLFAC009.
- ◆ **Benouzza S. (2012).** Inventaire de la microflore de la rhizosphère de l'olivier et étude de ses potentialités antagonistes vis-à-vis de *Verticillium dahliae* Kleb : agent de la verticilliose de l'olivier. Mémoire de Magister en Biotechnologie. Université d'Oran Es-Senia.
- ◆ **Bensmira, S. (2006).** Isolement et caractérisation de souches fongiques de milieux extrêmes (sol et sebkha de la région de Biskra) productrices de cellulase thermostable à intérêt industriel. Mémoire pour l'obtention de diplôme de magistère en Biochimie – Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine.
- ◆ **Bernard-Cardona M. (2003).** Protéines et paroi chez *Aspergillus fumigatus*. Thèse de doctorat de l'Institut National Agronomique de Paris-Grignon.
- ◆ **Bernard O et Davet P. (1993).** Mise en évidence de souches de *Trichoderma* spp à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. Agronomie, EDP Scinces, pp.413-421. <Hal-00885561>.
- ◆ **Bertrand Yves et De Halleux Ghislain. (2005).** Chevaux et prairies. France Agricole. France. P :205-223.
- ◆ **Bhale, U.N., Wagh,P.M & Rajkonda,J.N.(2013).**Antagonistic confrontation of *Trichoderma* spp against fruit rot pathogens on Sapodilla(*Manilkara zapota* L).Journal of Yeeast and Fungal Research Vol. 4(1), pp. 5-11. DOI : 5897/JYFR 12.029.
- ◆ **Blandeau, E. (2012).** Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Angers.
- ◆ **Boiron, P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. Paris

## Références bibliographiques

---

- ◆ **Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy PH, Larpent JP, Reymond P, Sanglier JJ, Vayssier Y et Veau P (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. 2meEd. Masson. 426p.
- ◆ **Bouchet, P., Guirgnard, J. L. et Pouchus, Y.V. (2005).** Les champignons mycologie fondamentale et appliquée. Masson Paris.
- ◆ **Bouchet, P.H., Guigard, J. L., Madulo Leblond, G. et Regli, P. (1989).** Mycologie générale et médicale Masson Paris p1-2-3-4-5.
- ◆ **Bouchet P H, Guignard J L, Villard J. (1999).** Les champignons, Mycologie fondamental et appliquée. Ed. Masson : Paris. 194 p.
- ◆ **Bovin, G. (2001).** parasitoids et lutte Biologique : paradigme ou panacée , Centre de recherche et de développement en Horticulture, Agriculture et Agrolimentaire. Canada. Vol 2N2. [Http: www.vertigo.Uqam.ca/vol 2N2/art8 vol2N2 / guy bovin. Htlm.](http://www.vertigo.Uqam.ca/vol_2N2/art8_vol2N2_guy_bovin.html)
- ◆ **Chabasse, D. (2008).** Classification des champignons d'intérêt médicale ency med, chir (Edition, scientifiques et médicales elsevier SAS, Paris) maladie infectieuse 8- 088-B-10-9p.
- ◆ **Chabasse, D., Guiguen, C. L. et Audonneau, C. N. (1999).** Mycologie médicale Masson Paris p22.
- ◆ **Christensen M. (1989).** Aview of fungal ecology. Mycologia. 81 :1-19.
- ◆ **Corbaz, R. (1990).** Principe de phytopathogènes et de lutte contre les maladies des plantes. Presse polytechniques et universitaires romandes. D'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Canada, pp56.
- ◆ **Cournut B. (1984).** Le genre *Trichoderma hyphomycètes*. Th : Pharmacie : Marseille : 77 p.
- ◆ **Daami-Remadi M; El Mahjoub M. (2001).** Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. L'INRAT .74 : 167-186.

- ◆ **Davet P et Rouxel F. (1997).** Détection et isolation des champignons du sol., (edn)INRA Paris.
- ◆ **Davet P. (1996).** Vie Microbienne Du Sol Et Production Végétales, (edn) INRA.Paris.
- ◆ **Deacon J.W (2005)** Fungal Biology, 4th edition (wileyblackwell, 384 pages).
- ◆ **Defrense, O. (2018).** Identification des champignons d'importance médicale. Stage de laboratoire. Institut national de santé publique Québec.
- ◆ **De Kouassi., (2001).** Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. Vertigo 2 :2.
- ◆ **Dendouga, W. (2006).** Isolement et identification de moisissures productrices de protéases à partir de milieux extrêmes. Extraction et étude des propriétés de la protéase produite. Diplôme de Magister. Université de Mentouri, Constantine, Algérie.
- ◆ **Dubot B., (1985).** L'utilisation des *Trichoderma* comme agent de lutte biologique à l'égard de deux parasites aériens : *Chondrotereum purpureum* (Pers. Ex. fr.) pouzar (plomb des arbres fruitiers) et *Botritis cinerea* pers. (pourriture grise de la vigne. L'emploi des ennemis naturels dans la protection des cultures, pp 35-49. INRA, Paris (FR).
- ◆ **Duchaufour, Ph., (1997) :** Abrégé de Pédologie. Sol, végétation, environnement. Masson, Paris. 291p.
- ◆ **Elsas, J., Trevors, J. & Wellington,E.(1997).**Modern Soil Micobiology.Marcel Dekker, Inc ; New York, p.250.
- ◆ **Fang, W., Leng, B., Xiao, Y, Jin, K., Ma, J., Fan, Y, Feng, J., YANG, X., ZHANG, Y., PEI, Y., (2005).** Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene *Bbchit1* and its application to improve fungal strain virulence. Applied and Environmental Microbiology 71, 363–370.
- ◆ **Fillaux J. (2013).** Evaluation de la sensibilisation à *Aspergillus fumigatus* et du portage persistant comme facteurs de détérioration de la fonction respiratoire de patients atteints de mucoviscidose au CHU de Toulouse. Thèse de doctorat en Immunologie. Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier).

## Références bibliographiques

---

- ◆ **Florent J (1993).** Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêts industriels. Ed. Lavoisier Tec et Doc. 612 p.
- ◆ **Gaigole, A. H., Wagh,G. N., Khadse, A. C.(2011).** Antifungal activity of *Trichoderma* species against soil borne pathogen. Asiatic Journal of Biotechnology Resources, 2 : 461-465.
- ◆ **Gauthier, A. (2015).** Les mycotoxines dans l'alimentation et leur incidence sur la santé. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux U.F.R. Des Science Pharmaceutiques.
- ◆ **Gerhardson B. (2002).** Biological substitutes for pesticides. Trends in Biotechnology.20. (8) : 338-343.
- ◆ **Ghorri S. (2015).** Isolement des microorganismes possédant une activité anti *Fusarium*. Thèse présentée pour l'obtention du Diplôme de Doctorat En Bioprocédés et Biotechnologies, Applications Mycologiques. Université frères Mentouri Constantine.
- ◆ **Ghosh, N., Kuisiene, N. (2016).** Cheeptham, The cave microbiome as a source for drug discovery: reality or pipe dream, Biochemical Pharmacology.
- ◆ **Gillieson D. (1996).** Caves: processes, development, and management. Oxford: Blackwell Publishers Ltd., 324 p.
- ◆ **Grigoriu, D. et Delacretaz, B. D. (1984).** Traité de Mycology Medicale Doin editeurs Paris edition Payot Lausanne suisse p 21.
- ◆ **Grison P. (1991).** Chronique historique de la zoologie agricole française. INRA. Paris.
- ◆ **Grosbellet C., (2008) :** Evolution et effets sur la structuration du sol de la matière organique apportée en grande quantité, thèse de doctorat, Université d'Angers, Spécialité : Sciences Agronomiques, École Doctorale d'Angers.
- ◆ **Guiraud, J. P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Paris : Dunod, Chapitre, Milieu et réactif.P : 522. ISBN : 2 10 003666 1-Chabasse D., Bouchra J.P., Gentile L., Brun S and Penn P. (2002). Cahier de formation biofarma : les moisissures d'intérêt medical. Labo Analy De Biomédicale.

- ◆ **Harris, A. W., Young, J. W., Bowell, E., Martin, L. J., Millis, R. L., Poutanen, M., ... & Zeigler, K. W. (1989).** Photoelectric observations of asteroids 3, 24, 60, 261, and 863. *Icarus*, 77(1), 171-186.
- ◆ **Helluy, S. and Holmes, J. C. (2005).** Parasitic manipulation: further considerations. *Behav. Processes*. 68, 185-99.
- ◆ **Hennequin C., Lavarde V. (1998).** Infections à *Penicillium*, *Encycl. Med. Chir.* (Elsevier, Paris) Maladies Infectieuses 8-580-A-10.
- ◆ **Hibar K., Daami-Remadi M., Khiareddine H., El Mahjoub M. 2004.** Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum f. sp. radicislycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2005 9 (3), 163–171.
- ◆ **Hill CA, Forti P. (1997).** Cave minerals of the world, 2nd ed. Huntsville, AL: National Speleological Society. 463 p.
- ◆ **Hmouni, A., Hajlaoui, M. R., & Mlaiki, A. (1996).** Résistance de *Botrytis cinerea* aux benzimidazoles et aux dicarboximides dans les cultures abritées de tomate en Tunisie. *EPPO Bulletin*, 26(3-4), 697–705. DOI :10.1111/j.1365- 2338. 1996.tb01513.x
- ◆ **Jijakli M.H. (2003).** La lutte biologique en phytopathologie. In : *Phytopathologie. Le poivre P* (eds). Bruxelles, Belgique : De Boeck. 289-317.
- ◆ **Jim Deacon. (2005).** « Chapter 14 : Fungi as plant pathogens », Blackwell Publishing (Consulté le 25 mars 2014).
- ◆ **Johanzen B.G. (2019).** Habitat du sol. Le sol et son role dans la vie des plantes. Littérature utilisée : *Notions fondamentales d'écologie : Manuel.litre.* /Sous Ed : A. V. Kovalenok, -T.Imprimerie numéro1,-58.
- ◆ **Kachour. L., (2005).** Identification des moisissures isolées à partir des eaux du lac Oubeira (PNEK) et impact des eaux usées sur leur diversité, thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba, p (203).
- ◆ **Khang, V.T., Anh, N.T.M., Tu, P.H. 1 Tham, N.T.H. (2013).** Isolation and selection of *Trichoderma spp.* Exhibiting high antifungal activities against major pathogens in Mekong Delta. *Omonrice*, 19, pp.159-171.

- ◆ **Khiat I. (2014).** Etude de la confrontation des souches fongiques isolées à partir du sol de forêt brûlée de la région de Mila. Mémoire en Master. Université Frères Mentouri Constantine 1 Page 39.
- ◆ **Kirk M. P., Cannon P. F., Minter D. W. ET Stalpers J. A., 2008** -Dictionary of the Fungi, 10ème édition. Edited by P M Kirk, International Mycological Institute, Egham, UK, P F Cannon, CABI, UK, J A Stalpers, CBS, The Netherlands. September 2008 / Hardback / 784 Pages / 9780851998268.
- ◆ **Kubicek, C.P., Bissett, J., Druzhinina, I., Kullinig-Gradinger, C. et Szakacs, G. (2003).** Genetic and métabolic diversity of *Trichoderma sp.*; a case study on south-east asian isolates Fungal Genet. Biol., 38 (3) : 310-319.
- ◆ **Lacellier, A. (2013).** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle, Thèse de doctorat. Biologie-biophysique. Université de REIMS CHAMPAGNE-ARDENNE école doctorale science technologie santé.
- ◆ **Landreau A. (2001).** Importance de la fonte de semis du pin d'Alep (*Pinus Izalepensis* MIIL) dans lerd-Ouest Alagérien : Identification morphologique et moléculaires des espèces du genre *Fusarium* et *Globisporangium*, pouvoir pathogène et moyens de lutte. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- ◆ **Larpent, J.P. et Larpent, G.M. (1997).** Mémoire technique de microbiologie. 3ème édition, technique et documentaire Lavoisier, Paris. PP : 217-240.
- ◆ **Le calvez T. (2009).** Diversité et fonctions écologiques des champignons en Écosystème hydrothermal marin profond. Interactions entre organismes. Université Rennes 1. Français
- ◆ **Leghlimi H. (2013).** Cellulase de souches fongiques issue du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes. Thèse de doctorat en CO –TUTELLE. Biotechnologie Génie microbiologique- Science Technologie et santé. Université de constantine 1 et Université de Reims Champagne-Ardenne.
- ◆ **Locquin M. (1984).** Mycologie générale et structurale. Bd. Masson. P. 551.

- ◆ **Lorito, M., Harman, G.E., Hayes, C.K., Broadway, R.M., Tronsmo, A., Woo, S.L., and Pietro, A.D. (1993).** Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathology* 83 : 302-307.
- ◆ **Luis P. (2004).** Etude de la diversité génétique et fonctionnelle de champignons du sol présentant une activité laccasique : mise au point d'outils moléculaires et application à l'étude comparative de sols agricoles et forestiers. Thèse de doctorat en Biologie Végétale et Forestière.
- ◆ **Madigan M.T., Matinko J.M and Parker J. (1997).** Brok biology of microorganisms, 8 th edn. USA.
- ◆ **Mebarki, L. (2016).** Recherche d'activité biologique de molécules végétales pour la lutte contre *Fusarium oxyporum f.sp. Albedinis*. Thèse de doctorat en sciences en biotechnologie. Université des sciences et de la technologie d'Oran Mohamed Boudiaf.
- ◆ **Mhamdi N. (2011).** Etude d'un mélagne *Sinorhizobium meliloti-Trichoderma viride* produit dans les eaux usées d'amidon : optimisation et effet sur la luzerne. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maitre és sciences (M.Sc.). Université du Québec.
- ◆ **Mohamed-Benkada M. (2006).** Evaluation de risque fongique en zones conchylicoles substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Sciences pharmaceutiques. Université de Nantes. Français
- ◆ **Mouria, B., Ouazzani-touhami, A., Douira, A. (2013).** Isolement et identification de la microflore du compost des déchets urbains solides. « Nature & Technologie ». C-Sciences de l'Environnement, n° 09. Pages 13 à 28.
- ◆ **Moussaoui A. (1994)**
- ◆ دراسات ميكروبيولوجية على الذرة (*Zea may L*). في مختلف مراحل تحويلاتها الصناعية في معمل مغني  
These de magister. Algerie, Institut de Biologie –Faculté des Sciences, Université  
Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. 148 pages.

- ◆ **Northup E D, Kathleen H. (2001).** Geomicrobiology Journal, 18 :199–222, Geomicrobiology of Caves: A Review.
- ◆ **Palmer AN. (1991).** Origin and morphology of limestone caves. Geol Soc Am Bull 103 :1–21.
- ◆ **Pasqualotto A.C. (2009).** Différences de patogénicité et de syndromes cliniques dus à *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. Médical Mycolgy , Volume 47, Issue supplement\_1, Pages S271 à S27 . DOI :10.1080/13693780802247702.
- ◆ **Ponchet, P. (1982).** Réalités et perspectives de la lutte biologique contre les maladies des plantes (\*). Agronomie, EDP Sciences2 (4), pp.305-314. Hal-00884386.
- ◆ **Porca, E., Jurado, V., Martin-Sanchez, P. M., Hermosin, B., Bastain, F., Alabouvette, C., & Saiz-Jimenez C. (2011).** Aerobiology: An ecological indicator for early detection and control of fungal outbreaks in caves. Ecological Indicators, 11(6), 1594–1598.
- ◆ **Prapagdee B., Kuekulvong C. and Mongkolsuk S. (2008).** Antifungal potential of extracellular metabolite produces by *Streptomyces hygrosopicus* against phytopathogenic fungi. Int. J. Biol. Sci. 4, 330-337.
- ◆ **Prescot, harly, klein. (1995).** Microbiologie .2th ed.dobroeck-wesmael.bruxelles.
- ◆ **Quatreasous, N. (2011).** Aspergillose humaine épidémiologie, diagnostic biologique, controle. Thèse de doctorats en pharmacie, Université de Limoges.
- ◆ **Raven, P. H., Evert, R. F. et Eichhorn. (2007).** Biologie végétale. Boeck université édition p261-286.
- ◆ **Rurak 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.
- ◆ **Sadfi-Zouaoui, N., Eouaissi,M., Essghaier,B., Hajlaoui,M.R., Hermosa,M.R et Boudabous,A.(2008).** Identification moléculaire et morphologique d'espèces du genre *Trichoderma* isolées de différents sol Tunisien, Microbiol. Hyg. Alim. -Vol 20, N° 57.

- ◆ **Sandhu, Ss., Sharma, Ak., Beniwal, V., Boel, G., Batra, P., Kumar, A., Jaglan, S., Sharma, Ak., Malhotra, S., (2012).** Myco-biocontrol of insect pests, factor involved mechanism, and regulation. *Journal of Pathogen*. 2012,126819.
- ◆ **Samson, R.A. Aan Pitt, J.I. (1985).** *Advances in Penicillium and Aspergillus Systematics*.
- ◆ **Schabereiter-Gurtner, C., Senzjimenez, C., Pinar, G., Lubitz, W., Ro Lleke, S. (2003).** Phylogenetic diversity of bacteria associated with Paleolithic paintings and surrounding rock in two Spanish caves (Llonin and la Garma). *Microbiology ecology* 47 (2004). Pp235-247.
- ◆ **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.
- ◆ **Senal J., Fraselle J., Impense R., Kummert J., Le poire Rh., Meulmans M., Seilleur P., Vandevcken J., viseur. (1993).** *Traité de pathologie végétal*. Gembloux. Belgique.
- ◆ **St Leger RJ, Wang C., (2010).** Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85, 901– 907.
- ◆ **Subler S. And Kirsh K.S. (1998).** Spring dynamic of soil carbon, nitrogen and microbial activity in earthwarm middens in no-tillcornfield. *Bio. Fert. Soils.* 26 :243- 249.
- ◆ **Tabuc C. (2007).** Incidence of *Fusarium* species and of their toxins in the compound feeds for poultry. In *International Scientific symposium “Performances and competitiveness in animal production* (pp.26-27).
- ◆ **Tabuc, C. (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines. Thèse de docteur de l’institut national polytechnique de Toulouse et de l’université de Bucarest. Thèse présentée à l’université de Montpellier science et techniques du Languedoc pour obtenir le diplôme de doctorat.
- ◆ **Tabuc, C. (2007).** Flore fongique de différents substrats et conditions optimales de productions des mycotoxines. UPSP de mycotoxicologie : Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. Laboratoire Biologie Animale, IBNA Balotesti.

- ◆ **Tachenon, A. (1999).** LA science des champignons. <http://www.Tachenon.com>.
- ◆ **Tondje, P.R., Roberts, D.P., Bon, M.C., Winder, T., Samiels, G.L., Ismaiel, A., Begoude, A.D., Tchana, T., Nyemb-Tshomb, E., Ndounbe-Nkeng, M., Nateman, R., Fontem, D. and Hebbar, K.P. (2007).** Isolation and identification of mycoparasitic isolates of *Trichoderma asperellum* with potential for suppression of black pod disease of cacao in cameroon. *Biological Control*. 43 : 202-212.
- ◆ **Thierry S. (2011).** Etude de la diversité génétique d'*Aspergillus fumigatus* et de *Chamydophila psittaci* chez les oiseaux et mise au point de modèles expérimentaux aviaires. Thèse de doctorat. Microbiologie et Parasitologie. Agro Paris Tech. Français. NNT : 2011AGPT0015. Pastel-00603770.
- ◆ **Tschen, J. S. M., & Kuo, W. L. (1985).** Antibiotic inhibition and control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. *Chih wu pao hu hsueh hui hui kan*= Plant protection bulletin.
- ◆ **Yajuan J L., Matthew C., Hodson, Benjamin D H. (2006)** BMC Evolutionary Biology Research Article Open Access Loss of the flagellum happened only once in the fungal lineage: Phylogenetic structure of kingdom Fungi inferred from RNA polymerase II subunit genes 1471-2148-G-74.
- ◆ **Valdes, I.D., Berg, J., Haagsman, A., Escobar, N., Meis, J.F., Hagen, F., Hass.P.J., ...& Cock, H. (2018).** Comparative genotyping and phenotyping of *Aspergillus fumigatus* isolates from humans, dogs and the environment. *BMC Microbiolgy*. 18 :118.
- ◆ **Vander Pulten, W.H. (2003).** Plant defense belowground and spatiotemporal processes in natural.
- ◆ **Vining, I.C., (1990).** Fonctions of secondary metabolites, *Annu.Rev.Microbiol.*, 44 : 395-427.
- ◆ **Widden, p. et Abitbol, J.J. (1980).** Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce-fprest soil. *Mycologie*, 72 : 775-784.
- ◆ <https://www.flickrriver.com/photos/scotnelson/sets/72157687308727691/>