



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Amina BEZIANE

Le : mardi 9 juillet 2019

Thème

**Activité antifongique et
antibactérienne des extraits bruts de
*Trichoderma atroviride***

Jury :

Mme. Manel DJOUAMA	M.A.A	Université de Biskra	Président
Dr. Wassila DANDOUGA	MCB	Université de Biskra	Rapporteur
Mme. Rima ABSI	MAA	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018/2019

Remerciements

Dieu

Le tout puissant qui nous a dotées de volonté

De patience pour ce travail

*Nous remercions madame **Wassila DANDOUGA** d'avoir accepté de diriger ce
travail*

*Nos remerciements vont également à **Manel DJOUAMA** d'accepté de présider
le jury. Nous remercions Mme **Rjma ABSI** de nous avoir fait l'honneur
d'examiner le travail.*

Je remercie aussi tous les personnels du laboratoire pédagogique.

*En fin nous tenant à exprimer notre profonde sympathie à tous ceux qui ont
contribué de près ou de loin au bon déroulement de nos études et tout
particulièrement aux enseignants de la spécialité et le docteur **Abed Arahmen**.*

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers,
À mon père « **Mohamad** » et ma mère « **Aïcha** », pour tout l'amour et
le soutien qu'ils m'ont donné.*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer ma reconnaissance, mon respect,
mon amour et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis.*

*Mon instruction et mon bien être. Puisse dieu le tout puissant vous
accorde sante et longue vie.*

*Mes chères sœurs : **Imane, Fatima***

*A mes chères frères : **Imade, Zakaria, Monib***

*A mes amis (es) : **Hanane, Salîha, Farida, Asma, Nadjete, Hizia,***

Omayma, Sara, Widade, Nour, Fatoum, Rabah et Rami

A tous mes collègues de la promotion.

Sommaire

<i>Remerciements</i>	III
<i>Dédicace</i>	III
Sommaire	
Liste des tableaux.....	I
Liste des figures.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	1

Première partie: SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre1: LE GENRE *TRICHODERMA*

1.1. Généralités sur les moisissures.....	2
1.1.1. Mode de reproduction.....	2
1.1.1.1. La Reproduction sexuée.....	3
1.1.1.2. La reproduction asexuée.....	3
1.2. Généralités sur <i>Trichoderma</i>	3
1.2.1. Morphologie.....	4
1.2.2. L'abondance.....	4
1.2.3. Ecologie.....	5

Chapitre 2 : POUVOIR ANTAGONISTE DE *TRICHODERMA*

2.1. Pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i>	6
2.2. Mode d'action de <i>Trichoderma</i>	6
2.2.1. Antibiose.....	6
2.2.2. Compétition.....	6
2.2.3. Mycoparasitisme.....	7
2.3. Les métabolismes secondaires.....	7
2.3.1. Production des enzymes.....	7
2.3.2. Production de substances bioactives.....	7

Deuxième partie: PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre 3 : MATERIEL ET METHODES

3.1. Présentation de la région d'étude.....	8
3. 2. Matériel biologique.....	9
3.2.1. Les souches bactériennes testées.....	9

3. 2.2. Isolats fongiques testés	9
3. 3. Les milieux de culture utilisés.....	10
3. 4. Échantillonnage	10
3.5. Analyses physicochimiques du sol.....	10
3. 5.1 pH	10
3. 5. 2 Conductivité électrique.....	10
3. 5.3 Humidité	10
3. 5.4. Dosage de chlorure	10
3. 5.5. Dosage du carbone et matière organique.....	11
3. 6. Isolement des champignons filamenteux à partir du sol	11
3. 6.1. Préparation d'une série de dilution décimale	11
3. 6.2. Ensemencement	11
3. 6.3. Purification	12
3. 6.4. Identification.....	12
3. 6.4.1. Identification macroscopique.....	12
3.6.4.2. Identification microscopique	12
3. 7. L'activité antifongique et anti bactérienne.....	12
3. 7 .1. Préparation d'inoculum fongique	12
3. 7.2. Préparation des bactéries d'essai	12
3.7.3. Méthode de diffusion sur disques.....	13

Chapitre 4: RESULTATS ET DISCUSSION

4.1. Analyses physicochimiques du sol	14
4.2. Obtention des isolats fongiques pures	15
4.3. Identification des isolats fongiques	18
4.4. Abondance relative des champignons filamenteux dans les deux régions d'étude	24
4.5. L'activité antifongique de <i>Trichoderma atroviride</i> B18.P	25
4.6. Activité antibactérienne de <i>Trichoderma atroviride</i> B18.P	27
Conclusion.....	29
Bibliographie.....	30
Annexes	
Résumés	

Liste des tableaux

Tableau 1. Les souches bactériennes testées	9
Tableau 2. Analyses physico-chimiques du sol	14
Tableau 3. Echelle de salure des sols	14
Tableau 4. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Chott Merouane sur TSM	15
Tableau 5. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Biskra sur TSM.....	16
Tableau 6. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Chott Merouane sur PDA	16
Tableau 7. Résultats de l'ensemencement des échantillons de biskra sur PDA.....	17
Tableau 8. Aspects macroscopique et microscopique des champignons filamenteux isolés du sol collectés de Biskra et Chott Merouane	18
Tableau 9. L'activité antifongique de l'extrait bioactif de <i>Trichoderma atroviride</i> B18.P.....	26
Tableau 10. Activité antibactérienne de l'extrait bioactif de <i>Trichoderma atroviride</i> B 18.P.	28

Liste des figures

Figure 1. Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure	3
Figure 2. Aspect microscopique de <i>Trichoderma</i>	4
Figure 3. Localisation géographique de région de biskra et Chott Merouane	8
Figure 4. Présentation des régions d'étude. A: Chott Merouane, B: Biskra (Photo originale)..	9
Figure 5. Distribution des Champignons filamenteux dans la région de Biskra.....	24
Figure 6. Distribution des champignons filamenteux dans la région de Chott Merouane	25
Figure 7. Activité antifongique de l'extrait bioactif de <i>Trichoderma atroviride</i> testé à l'égard de A: <i>Fusarium graminearum</i> , B: <i>penicillium sp.1 O20.P</i> , C: <i>Aspergillus sp.1.O15.T</i> , D: <i>Alternaria alternata. O14.P</i>	26
Figure 8. Activité antibactérienne de l'extrait bioactif de <i>Trichoderma atroviride</i> testé à l'égard de <i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>pseudomonas aeruginosa</i>	27

Liste des abreviations

ATCC : American Type Culture Collection.

PDA : Potato Dextrose Agar.

TSM : Trichoderma selective medium.

SDA : Sabouraud dextrose agar.

MO : Matière organique.

CE : conductivité électrique.

H : humidité.

Cl : Ion de chlorure.

MH : Mueller-Hinton.

PH : poids humide

PS : poids sec.

GN : gélose nutritive

n : volume de nitrate d'argent (AgNO_3) mesuré après titrage.

n' : volume de nitrate d'argent (AgNO_3) prendre pour le titrage.

V : volume de filtrat.

v : volume d'échantillon.

p : poids du sol.

EB : échantillons de Biskra.

EO : échantillons de chotte Merouane.

Introduction

Introduction

Les champignons filamenteux représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre jouant un rôle majeur à la fois dans le fonctionnement des écosystèmes et également dans les applications biotechnologiques qu'ils peuvent potentiellement leur offrir. En effet, c'est la capacité des champignons filamenteux à produire des métabolites secondaires qui a favorisé en particulier leur utilisation biotechnologique (Thomas, 2010).

La lutte biologique est l'utilisation d'organismes vivants ou de leurs produits, pour empêcher ou réduire la croissance d'un autre organisme phytopathogène (Maroua, 2018). Elle est utilisée de plus en plus en agriculture pour remplacer les pesticides chimiques. En comparaison à ces derniers qui ont des effets nocifs sur la santé humaine et les écosystèmes, la lutte biologique est beaucoup plus avantageuse pour l'environnement (Noémie, 2010).

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* spp. ont été mentionnées la première fois en 1887 par Vuillemin. Actuellement, *Trichoderma* est considéré comme l'agent antagoniste le plus exploité en agriculture, où plusieurs souches présentent l'aptitude à parasiter une large gamme de champignons phytopathogènes (Fadwa, 2009). En effet, l'efficacité écologique de *Trichoderma* est dû à la combinaison de ses divers mécanismes d'action à savoir ; l'antibiose, la sécrétion des enzymes hydrolytiques, la compétition pour l'espace et les nutriments, ainsi que leur capacité à stimuler la croissance végétale après une colonisation racinaire rapide (Alabouvette., et al 1983).

Dans ce contexte, la présente étude est réalisée dont l'objectif principal est d'isoler des souches de *Trichoderma* à partir du sol salin et aride, et de mettre en évidence leur activité antifongique et antibactérienne.

Première partie
Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Le genre *Trichoderma*

1.1.Généralités sur les moisissures

Les moisissures sont des champignons microscopiques, ubiquistes à croissance filamenteuse qui regroupent des milliers d'espèces (Bush ; 2004). Elles sont omniprésentes dans notre environnement. La plupart sont phytopathogènes et se développent en saprophyte dans la terre et sur les plantes ou les débris végétaux en voie de putréfaction, elles se retrouvent aussi bien dans l'air que sur le sol et les surfaces, dans l'alimentation et parfois dans l'eau (Meghazi, 2015).

L'appareil végétatif des moisissures est constitué de filaments ou d'hyphes qui s'accroissent par leur sommet et dont l'ensemble constitue de façon harmonieuse et centrifuge un réseau appelé mycélium. Cet appareil se développe après qu'une spore se soit fixée sur un substrat nutritif ; se gonfle, se modifie et émet un filament appelé tube germinatif qui devient par la suite filamenteux. Les taches ou colonies que l'on voit à la surface des matériaux moisissés sont essentiellement constituées d'un réseau mycélien très développé (Boudih, 2011).

Les produits du métabolisme secondaire non indispensables au fonctionnement de la cellule sont plutôt stockés en région subapicale. Les métabolites secondaires les plus connus sont les pigments, les antibiotiques, les mycotoxines...etc. Une carence nutritive, une compétition, et d'autres types de stress métabolique limitent la prolifération des mycètes et favorisent la formation et la sécrétion de ces métabolites secondaires (Verscheure, 2002).

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématique homogène, mais se situent en diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction (Davet, 1996). Les Eumycètes forment un groupe très vaste, incluant les classes principales des moisissures, à savoir les Zygomycètes, les Ascomycètes, les Basidiomycètes et les Deutéromycètes. Les Zygomycètes possèdent des spores contenues à l'extérieur d'une cellule renflée, les Ascomycètes ont des spores regroupées dans des sortes de sacs, les Basidiomycètes qui ont des spores portées par des basides, et les Deutéromycètes. Ces derniers sont un groupe hétérogène dont on ne connaît pas actuellement, pour la plupart, la forme de reproduction sexuée (Nguyen, 2007).

1.1.1. Mode de reproduction

Ils se reproduisent grâce à des spores, qui sont issues soit d'une reproduction sexuée (champignon téléomorphe) ou d'une multiplication asexuée (champignon anamorphe). Certains champignons, chez lesquels, les deux formes coexistent sont appelés holomorphes.

1.1.1.1. La Reproduction sexuée

La reproduction sexuée se base sur la fusion de deux gamètes haploïdes (n) donnant un zygote diploïde ($2n$). Une structure (+) à n chromosomes rencontre un autre structure (-) et la fusion des cytoplasmes donne naissance à un nouveau mycélium à $2n$ chromosomes (Lecellier, 2013), (Figure1).

1.1.1.2. La reproduction asexuée

Se fait sans fusion de gamètes. Elle correspond majoritairement à la dispersion de spores asexuées, permettant la propagation des moisissures afin de coloniser d'autres substrats. Cette forme de reproduction asexuée est appelée la sporulation (Lecellier, 2013)

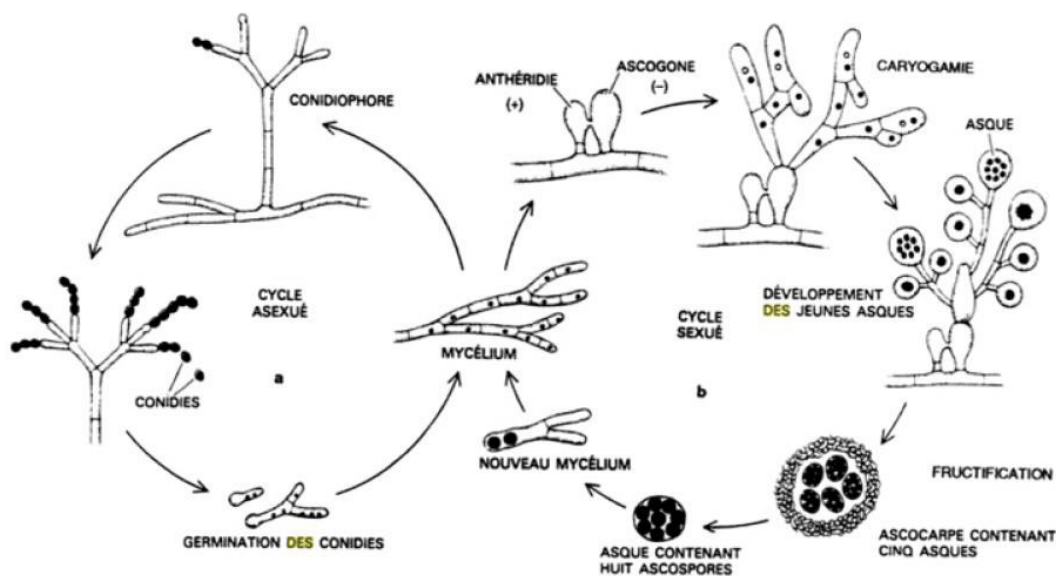


Figure 1. Schématisation de la reproduction asexuée et sexuée d'une moisissure (Lecellier, 2013)

1.2. Généralités sur *Trichoderma*

Le terme « *Trichoderma* » a été introduit dans la mycologie en 1794 par Person (Bissett, 1991). Ces organismes cosmopolites appartiennent à un grand ensemble de champignons sans reproduction sexuée connue. En milieu terrestre, leur production d'enzymes, de substances bioactives et leur développement rapide font des *Trichoderma* sp. des agents potentiels en agro-alimentaire et une matière de choix pour l'exploitation industrielle (Benkada, 2006).

Selon la taxonomie effectuée par Bissett, (2004) *Trichoderma* est classé comme suit :

Règne : Fungi

Embranchement : Amastigomycota et/ou Eumycètes

Division : Ascomycota

Sous division : Pezizomycotina

Classe : Sordariomycètes

Sous classe : Hypocreomycetidae

Ordre : Hypocréales

Famille : Hypocraceae

Genre : *Trichoderma*

1.2.1. Morphologie

L'aspect macroscopique des *Trichoderma sp.* est apprécié à partir de cultures sur géloses nutritives appropriées, réparties en boîtes de Pétri. Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. Cinq jours après sa germination, la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogénèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16^{ème} et le 20^{ème} jour un feutrage épais se superpose à la culture (Benkada, 2006).

Au microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes jaunes, septés, ramifiés à parois lisses. Les conidiophores (Figure 1) ont une forme conique ou pyramidale. Très ramifiés, ils portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (Benkada, 2006).

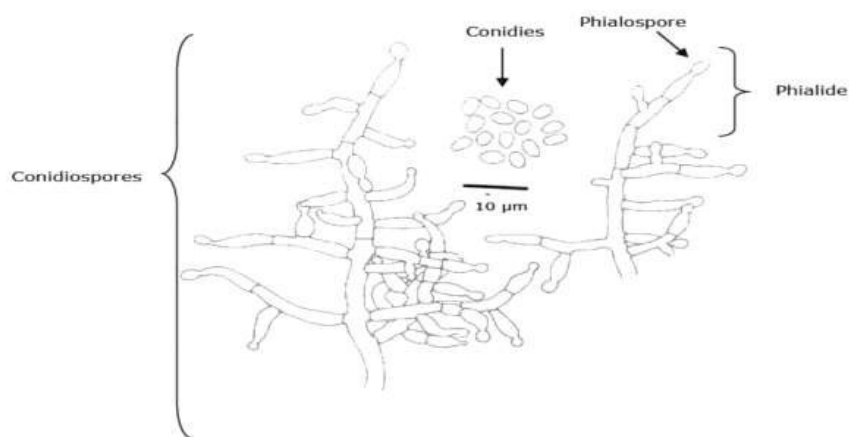


Figure 2. Aspect microscopique de *Trichoderma* (Samuels et al., 1994).

1.2.2. L'abondance

Le genre *Trichoderma* vient à la 3^{ème} position après les genres *Penicillium* et *Aspergillus* en importance numérique.

L'abondance des *Trichoderma sp.* Dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes. Ils sont de ce fait un maillon important dans les chaînes biologiques (Leghlimi, 2013).

1.2.3. Ecologie

Grâce à sa grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques, le genre *Trichoderma* est très répandu dans la nature, aussi bien en milieu terrestre que marin

En effet, les *Trichodermasp.* sont remarquables pour leur croissance rapide et leur capacité à utiliser différents substrats et sont, par conséquent, l'élément majeur dans la mycoflore terrestre et marine.

Les *Trichoderma sp.* Terrestres se développent quasiment dans tous les sols (forestiers ou cultivés) et sur les végétaux en décomposition. Ils contaminent fréquemment le compost de la culture industrielle des champignons comestibles, mais sont rarement parasites de plantes vivantes (Benkada, 2006).

Chapitre 2
Pouvoir antagoniste de
Trichoderma

2.1. Pouvoir antagoniste de *Trichoderma*

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. Cependant, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales.

Les *Trichoderma* sont très efficaces pour la lutte contre les maladies des plantes reliées aux sols, Les souches de *Trichoderma* peuvent influencer la croissance de la plante, augmenter la disponibilité des nutriments, améliorer la production au champ et augmenter la résistance vis à vis de la maladie. (Cutler *et al.*, 1986), aussi bien que pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols. Les sols inoculés protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Harman, 2000).

En effet, ce champignon secrète de multiples enzymes, antibiotiques, hormones qui sont utiles pour la croissance des plantes et leur confèrent une protection contre les pathogènes. Il en résulte aussi une amélioration du contenu du sol en nutriments. La présence de *Trichoderma* dans le sol joue à la fois un rôle préventif et curatif (Harman *et al.*, 2004).

2.2. Mode d'action de *Trichoderma*

Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade la pectinase et d'autres enzymes qui sont essentiels pour les phytopathogènes. En plus de son effet inhibiteur des phytopathogènes, *Trichoderma* est aussi capable d'induire une résistance localisée et systématique. L'amélioration de la croissance des plantes par *Trichoderma* peut prendre lieu soit au niveau de la plante, soit au niveau du sol (Yedida *et al.*, 2001).

Trichoderma a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action. Il peut utiliser :

2.2.1. Antibiose

L'antibiose repose sur la production par un antagoniste, de substances métaboliques ayant un effet toxique sur un agent pathogène (antibiotique). C'est un mode d'action utilisé par les souches de *Trichoderma* pour inhiber la croissance des champignons phytopathogènes. La production des antibiotiques (trichodermine, harziamine, trichodermal, etc.) dépend des conditions physico-chimiques du milieu. Etant donné que *Trichoderma* peut produire des centaines de métabolites secondaires, (Sivasithamparam et Ghisalbert, 1998).

2.2.2. Compétition

La compétition se manifeste par l'aptitude des souches de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu que les agents phytopathogènes. Elles utilisent ce mode d'action

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

2.2.3. Mycoparasitisme

Trichoderma peut utiliser le parasitisme pour maîtriser les agents pathogènes. Il les reconnaît grâce à des molécules peptidiques libérées par ce dernier, ce qui provoque l'activation d'une cascade de signalisation qui induit la synthèse de métabolites secondaires et d'enzymes de dégradation. *Trichoderma* s'enroule ensuite autour de l'agent pathogène, pénètre à l'intérieur puis injecte des enzymes (protéases et lipases) qui lysent le contenu cellulaire de l'hôte (Leghlimi, 2013).

2.3. Les métabolismes secondaires

La production de métabolites secondaires par les *Trichoderma sp* est rapportée pour la première fois par Weidling, (1934), où la production d'un antifongique a été décrite (Papavizas, 1985). Les études successives ont démontré que ces micromycètes étaient virtuoses dans la biosynthèse de métabolites secondaires les métabolites importants de *Trichoderma sp* sont principalement des enzymes et des molécules bioactives :

2.3.1. Production des enzymes

Est variable d'une souche à l'autre, principalement les xylanases ou les cellulases exploités dans divers domaines biotechnologiques.

2.3.2. Production de substances bioactives

- Les métabolites volatils (6-pentyl- α pyrone, éthylène, cyanure d'hydrogène, alcools, aldéhydes)
- Les métabolites non volatils diffusibles polyacétates (antifongiques, antibiotiques), trichotécènes (variété de toxines actives sur microorganismes et mammifères) notamment les trichodermines.
- Les métabolites polypeptidiques ciclosporines immunosuppresseurs anti- inflammatoire (Leghlimi, 2013).

**Deuxième
Partie
expérimentale**

Chapitre 3

Matériel et méthodes

3.1. Présentation de la région d'étude

Les échantillons sont prélevés à partir des sols non cultivés de deux régions différentes (situées dans le sud de l'Algérie), la première à Biskra et l'autres à chotte Merouane (figures 3 et 4).

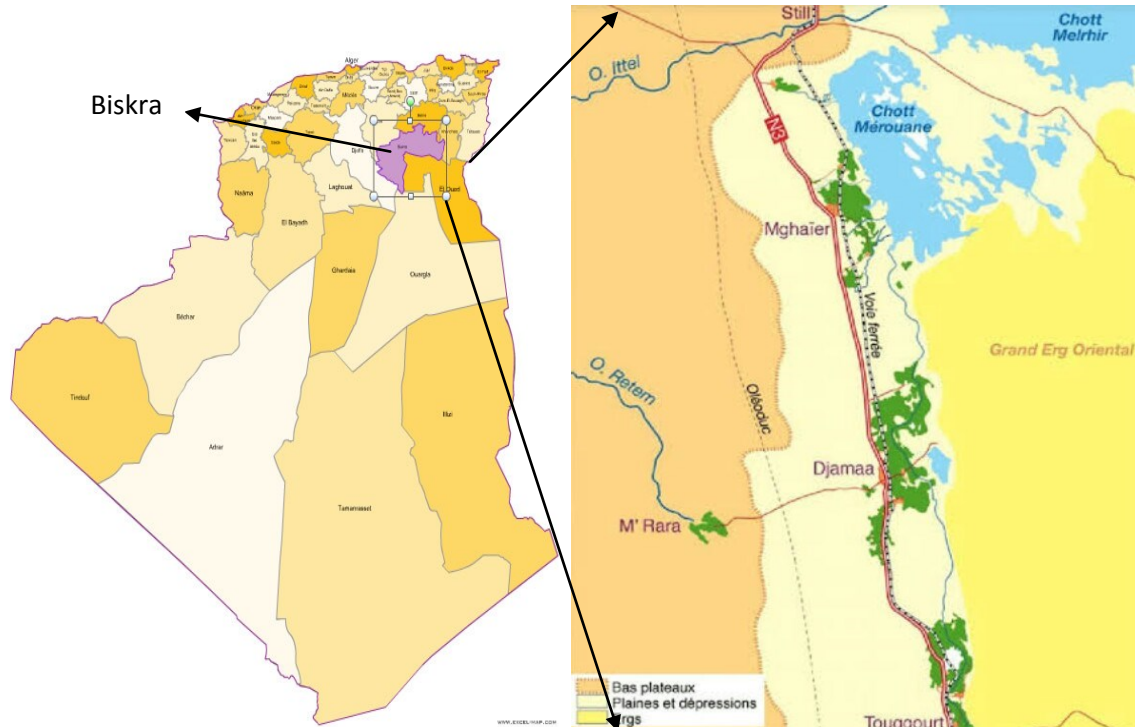


Figure 3. Localisation géographique de région de biskra et Chott Merouane (1).

La wilaya de Biskra est située au Sud-est de l'Algérie. Elle s'étend jusqu'à la zone du Chott Melghir au Sud-Est et jusqu'à l'Erg oriental au Sud-Ouest.

Ses limites territoriales se résument comme suit (Figure 01) :

- Au Nord : La Wilaya de Batna.
- Au Nord Ouest : La Wilaya de M'Sila.
- Au Sud Ouest : La Wilaya de Djelfa.
- Au Sud : La Wilaya d'El-Oued.
- Au Nord Est : La Wilaya de Khenchela.

Son altitude est de 125 mètre/au niveau de la mer. Biskra occupe une superficie de 21.671.2 Km² (Sedrati, 2011).

Chott Merouane 33°55'N et 06°10'E est situé au Nord-est du Sahara septentrional, qui fait partie administrativement de la Wilaya d'El-Oued et la Daira d'El-Maghaire, situé à environ 9 Km du chef lieu de la daira, dans le village de N'sigha.

Il est considéré comme la plus basse altitude du nord de l'Afrique (40m au dessous du niveau de la mer). Ce chott est classé parmi les zones humides d'importance internationale, avec une superficie de l'ordre de 333, 700 ha (Merabet, 2011).



Figure 4. Présentation des régions d'étude. A: Chott Merouane, B: Biskra (Photo originale)

3. 2. Matériel biologique

3.2.1. Les souches bactériennes testées

Les bactéries utilisées pour le test de l'activité antibactériennes sont ; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (voire tableau 1)

Tableau 1. Les souches bactériennes testées

Souche	Référence	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	Positif

3. 2.2. Isolats fongiques testés

Pour tester l'activité antifongique et antibactérienne de notre isolat de *Trichoderma atroviride*, 4 espèces fongiques sont utilisés ; *Aspargillus sp1* B15.T, *Penicillium sp1* O20.P et *Alternaria allernata*O14.P.

Pour le genre *Fusarium graminearum* utilisé il été isolé à l'université d'Adrar.

3. 3. Les milieux de culture utilisés

Plusieurs milieux de cultures ont été utilisés, au cours de nos différentes expérimentations. Pour les manipulations de l'activité antifongique on utilise 2 milieux (PDA et TSM) (voir annexe2 et 3) et pour l'activité antibactérienne on utilise (GN et MH) (voir annexe4), tous les milieux sont autoclavés à 121°C pendant 20 minutes avant leurs utilisations

3. 4. Échantillonnage

Les prélèvements de sol de 2 régions (Biskra et Chotte Merouane) (au nombre de six prélèvements/ site) sont réalisés à l'aide d'une tarière stérilisé par l'alcool (pour éviter tout risque de contamination), tout en écartant la couche supérieure, puis on a prélevé les échantillons à partir d'une profondeur de 10 cm. Les sols prélevés sont ensuite recueillis dans des flacons en verre stérile pour les analyses physico-chimiques et biologiques.

3.5. Analyses physicochimiques du sol

3. 5.1 pH

Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH mètre. La méthode repose sur la préparation d'une solution de 10 g de sol et 25 ml d'eau distillé, Après une agitation magnétique, le pH est mesuré à la température ambiante (Aubert, 1978).

3. 5. 2 Conductivité électrique

Une quantité de 20 g du sol de chaque échantillon est dilué dans 100 ml d'eau distillée. Puis une agitation rigoureuse pendant 1 h à l'aide d'un agitateur magnétique permet l'obtention d'un homogénat du sol. La suspension est laissée pendant 30 min à une température ambiante Ensuite la conductivité électrique est mesurée à l'aide d'un conductimètre (Aubert, 1978)

3. 5.3 Humidité

La méthode décrite par Denis, (1988) consiste à sécher 1g du sol pendant 2 jours dans un dessiccateur à 105°C, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Le pourcentage d'humidité est calculé selon la formule suivante:

$$H\% = \left[\frac{(PH-PS)}{PH} \right] \times 100$$

H% : **PH**: poids humide, **PS**: poids sec.

3. 5.4. Dosage de chlorure

Selon Aubert (1978) la méthode consiste à diluer 10 g de sol dans 50 ml d'eau distillée, après une filtration 5 ml de filtrat et rajouter 3 goutte de bichromate de potassium(K₂CrO₄) avec une agitation jusqu'à l'obtention d'une couleur verte. Le titrage est effectuée par le nitrate d'argent (AgNO₃) à 0.1 N jusqu'à l'obtention d'une couleur rouge brique et prendre le

volume (n).le témoin est préparé en remplaçant prendre le filtrat par l'eau distillée. La concentration du chlore est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{Cl mg/l} = [(n-n') 0,1 V/v]. 100/p$$

n : volume de nitrate d'argent (AgNO₃) mesuré après titrage.

n' : volume de nitrate d'argent (AgNO₃) prendre pour le titrage.

V : volume de filtrat.

v : volume d'échantillon.

p : poids du sol 1 g.

3. 5.5.Dosage du carbone et matière organique

Le carbone organique est dosée selon la méthode de Anne, il est oxydé par le bichromate de potassium en milieu sulfurique, Le bichromate doit être en excès, et titré par une solution de sel de Mohr, en présence de diphénylamine dont la couleur passe du bleu foncé au bleu vert (Mathieu, 2003) (Annexe1).Le témoin est préparé en remplaçant prendre le filtrat par l'eau distillée.

$$\text{CO\%} = 3 (A-B)/A.$$

$$\text{MO\%} = [(A-B)/A].6, 896.$$

- Soit **B** le volume de la solution consommée.

- Soit **A** le volume de la solution consommé par le témoin (Aubert, 1978).

3. 6. Isolement des champignons filamenteux à partir du sol

L'isolement des mycètes à partir du sol, est réalisé selon la méthode de suspension dilution « Dilution plates » décrite par Davet et Rouxet, (1997) sur deux milieux gélosés ; PDA et TSM (voir annexe2et 3).

3. 6.1. Préparation d'une série de dilution décimale

Une quantité de 10 g du sol de chaque échantillon sont est suspendues dans 90 ml d'eau distillée stérile. Le mélange est agité pendant 30 minutes.

Puis une série de dilution décimale est effectuées ($10^{-1} \dots 10^{-3}$), (Leghlimi, 2013).

3. 6.2. Ensemencement

Un volume de 1 ml de chaque dilution est étalé à la surface des milieux gélosés, additionnés d'un antibiotique, la gentamicine (50ppm) pour inhiber les croissances bactériennes. Les boîtes de Pétri sont incubées à 30°C pendant 7 jours (Leghlimi, 2013).

3. 6.3. Purification

La purification a concerné principalement les colonies dont les caractères cultureux sont différents. Il s'agit donc de prélever quelques spores ou une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et de l'ensemencer de manière aseptique dans des boîtes de Pétri contenant le PDA ou TSM. Afin d'obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en un seul point au centre de la boîte (Almi, 2016).

3. 6.4. Identification

3. 6.4.1. Identification macroscopique

L'examen macroscopique des souches isolées, permet de déterminer les caractères cultureux suivants : La croissance du champignon, Le développement du champignon, Le diamètre de la colonie, La texture, La couleur du thalle, La couleur du revers et l'odeur (Lecellier, 2013).

3.6.4.2. Identification microscopique

L'observation microscopique a été effectuée eu examinassions d'un petit fragment mycélien prélevé soigneusement à la marge du thalle à l'aide d'une anse de platine stérile. Le fragment prélevé est ensuite coloré avec de Lactophénole Bleu, ce qui permet ainsi de détecter la présence et la nature du mycélium, la présence ou l'absence du septum, les caractéristiques des fructifications et spores, etc. (Almi, 2016).

3. 7. L'activité antifongique et anti bactérienne

3. 7 .1. Préparation d'inoculum fongique

Après la période d'incubation, un aliquote de 10 ml d'eau peptoné stérile est ajouté à chaque boîte de Pétri. Le mycélium est ensuite raclé à l'aide d'une spatule stérile jusqu'à la libération totale du mycélium. La suspension obtenue est filtrée (Almi, 2016).

3. 7.2. Préparation des bactéries d'essai

Les souches sélectionnées ont été revivifiées dans des tubes contenant 9 ml de bouillon nutritif « Nutrient broth » à l'aide d'une pipette Pasteur flambée et incubées à 37°C pendant 24 heures avant d'être testées. A partir de chaque tube de bouillon nutritif mentionnant un trouble, on a ensemencé par stries une boîte de Pétri contenant la gélose nutritive puis incubées à 37°C pendant 18 heures.

Après incubation on a raclé à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, puis on a déchargé la pipette dans 5 ml d'eau peptoné

stérile. La suspension bactérienne doit être bien homogénéisée et la turbidité après a été ajusté pour correspondre à 0.5 McFarland (Zerroug, 2018).

3.7.3. Méthode de diffusion sur disques

Le milieu Muller-Hinton (MH) et Sabouraud dextrose agar (SDA), (Annex 5) ont été inoculées respectivement avec 100 µl de la suspension bactérienne et fongique.

10 µl de l'inoculum (l'extrait) de *Trichoderma atroviride* ont été déposé à laide d'une pipette sur les disques stériles (6 mm de diamètre) placés à la surface des géloses préalablement inoculés avec les bactéries et les champignons, l'eau peptoné a aussi été utilisée en tant que contrôle négatif.

Les cultures sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, 30°C pendant et 72 heures pour les champignons.

Le diamètre des zones claires autour des disques révélant l'activité antimicrobienne des extraits ont été mesuré, les tests ont été effectués 3 fois (Zerroug, 2018).

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1. Analyses physicochimiques du sol

Les résultats des analyses physicochimiques des différents échantillons du sol de deux régions ; Biskra et Chotte Merouane sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2. Analyses physico-chimiques du sol

Echantillons	pH	CE (ms/cm)	H(%)	CL-(mg/l)	MO(%)	C(%)
EO 1	7,85	26,2	10	80	0,86	1,36
EO 2	7,72	23,3	10	36		
EO 3	7,53	25,2	10	47		
EB 1	7,62	16,5	10	10	2,15	0,54
EB 2	7,59	12,8	10	9,5		
EB 3	7,44	15,4	10	9		

Concernant le pH du sol de la région de Chott Merouane, leurs valeurs sont comprises entre 7,85 et 7,53. Pour la région de Biskra, les valeurs du pH sont entre 7,62 et 7,44. Ces valeurs nous permettent de conclure que le sol de nos échantillons est légèrement alcalin. Des résultats similaires sont trouvés par Dendouga *et al.*, (2015).

Les valeurs de la conductivité électrique de la région de Chott Merouane, sont comprises entre 26,2 et 23,3mms/cm. Pour la région de Biskra, les valeurs de la conductivité électrique sont entre 16,5 et 12,8mms/cm. La conductivité électrique est la mesure primordiale utilisée pour définir la salinité du sol. Selon l'échelle de salure des sols présentée par Benabadji *et al.*,(1996)le sol de Chott Merouane est classé comme très salé, et ce de la région des Ziban est peu salé.

Tableau 3. Echelle de salure des sols

CE mms/cm	[0 – 0,6]	[0,6 – 1,2]	[1,2-2,4]	Plus de 2,4
Salinité	Non salé	Peu salé	Salé	Très salé

Le taux d'humidité H(%) est lié aux facteurs climatiques du milieu, nous avons enregistré une moyenne d'humidité de 10% pour les deux régions.

Les résultats de l'analyse physicochimiques révèlent que les sols de Biskra sont moyens à riches en matière organique (MO supérieure à 1%), en comparaison avec ceux de Chott Merouane. Les teneurs de matière organique dans les échantillons examinés rentrent dans l'intervalle des taux normaux (1.5-2.5%) décrites par Duthil, (1970) in Almi, (2016).

Concernant la teneur du chlore, les valeurs les plus élevées sont enregistrées dans le solde Chott Merouane, les valeurs sont comprises entre 80 et 47 mg/l. Pour la région de Biskra, les valeurs sont entre 10 et 9 mg/l. Des résultats similaires sont rapportés par un travail effectué dans la même région pendant trois ans (Dendouga *et al.*, 2015).

4.2. Obtention des isolats fongiques pures

Les cultures des prélèvements du sol dilués sur les milieux PDA et TSM ont permis l'apparition de 18 isolats différents de champignons filamenteux. Les résultats des observations quotidiennes des boîtes ensemencées sont présentés dans les tableaux 4, 5, 6 et 7.

Tableau 4. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Chott Merouane sur TSM

Région	Echantillons	Dilution	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	
Chott Merouane	1	10 ⁻¹	-	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	
		10 ⁻²	-	-	-	-	+	+	+	++	++	+++	
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	+	+	+	++	++	
	2	10 ⁻¹	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
		10 ⁻²	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
	3	10 ⁻¹	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	
		10 ⁻²	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
	4	10 ⁻¹	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		10 ⁻²	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	5	10 ⁻¹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10 ⁻²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 5. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Biskra sur TSM

Région	Echantillons	Dilution	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	
Biskra	1	10^{-1}	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++	
		10^{-2}	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	
		10^{-3}	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	
	2	10^{-1}	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++	++
		10^{-2}	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++
		10^{-3}	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	3	10^{-1}	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++
		10^{-2}	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		10^{-3}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	10^{-1}	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		10^{-2}	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		10^{-3}	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	5	10^{-1}	-	-	-	-	+	+	++	++	+++	+++	+++
		10^{-2}	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++
		10^{-3}	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Tableau 6. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Chott Merouane sur PDA

Région	Echantillons	Dilution	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
Chott Merouane	1	10^{-1}	-	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
		10^{-2}	-	-	-	-	+	+	+	++	++	++
		10^{-3}	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	2	10^{-1}	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		10^{-2}	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
		10^{-3}	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	3	10^{-1}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^{-2}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		10^{-3}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	10^{-1}	-	-	-	-	-	+	+	++	+++	+++
		10^{-2}	-	-	-	-	-	-	+	+	++	++
		10^{-3}	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++

	5	10 ⁻¹	-	-	-	-	-	-	+	+	+	++	+	
		10 ⁻²	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Tableau 7. Résultats de l'ensemencement des échantillons de Biskra sur PDA

Région	Echantillons	Dilution	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10
Biskra	1	10 ⁻¹	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++
		10 ⁻²	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++
	2	10 ⁻¹	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++
		10 ⁻²	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++
		10 ⁻³	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	3	10 ⁻¹	-	-	-	+	+	++	++	++	++	++
		10 ⁻²	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	10 ⁻¹	-	-	-	-	+	++	++	++	++	++
		10 ⁻²	-	-	-	-	-	+	++	++	++	++
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	5	10 ⁻¹	-	-	-	-	+	+	++	++	+++	+++
		10 ⁻²	-	-	-	-	+	+	++	++	++	++
		10 ⁻³	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

J : jour, + :10 isolats, ++ :10-20 isolats,+++ :20-30 isolats.

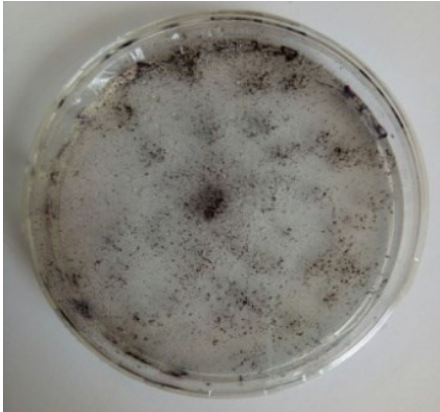
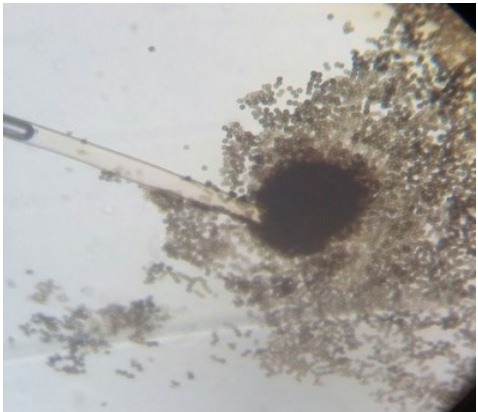
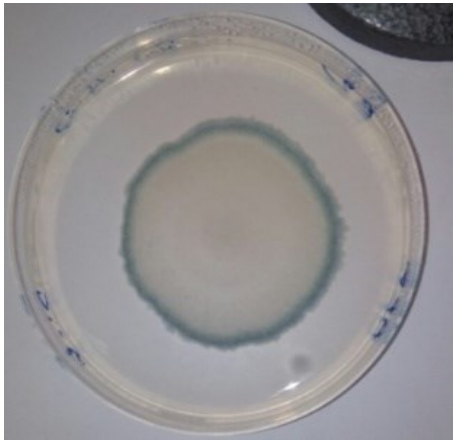

Selon ces résultats, on peut observer clairement que les échantillons du sol de la région de Biskra sont plus chargés en biomasse fongique que les échantillons de Chott Merouane.

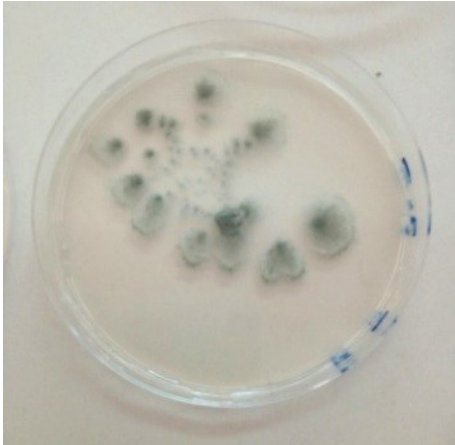



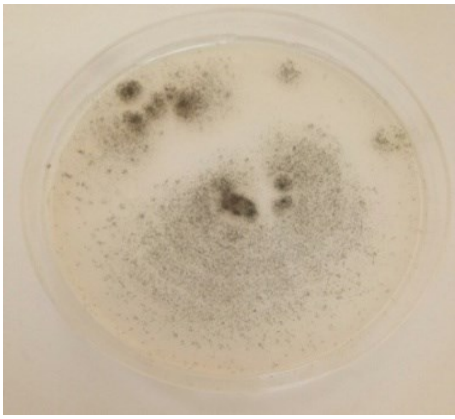

Les facteurs écologiques et la composition du sol en matière organique influencent d'une manière importante l'occurrence et la distribution des microorganismes dans le sol (Dendouga et al; 2015), (Roy, 2014).

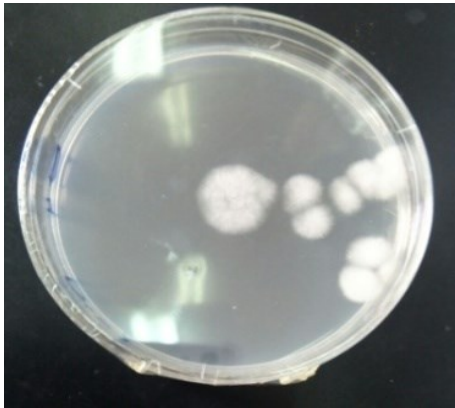

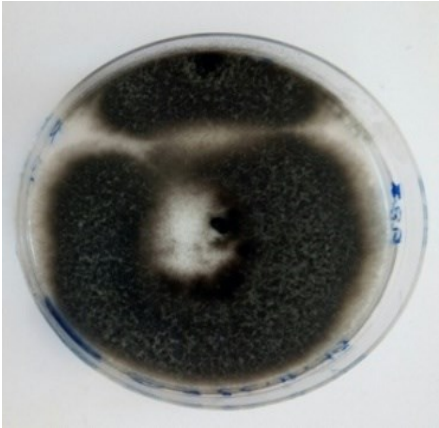
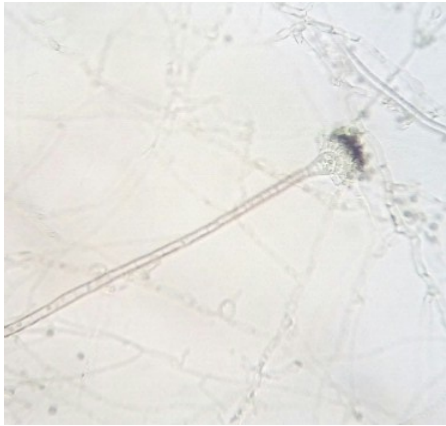
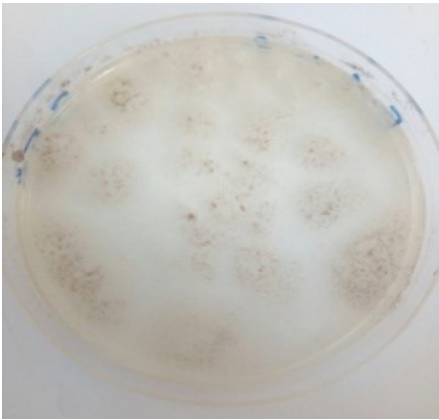
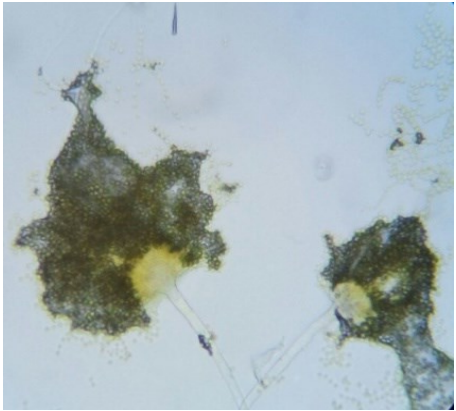
4.3. Identification des isolats fongiques

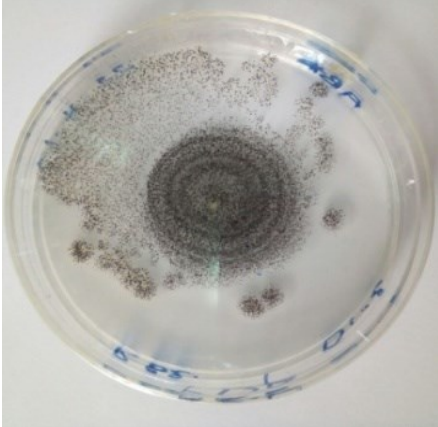

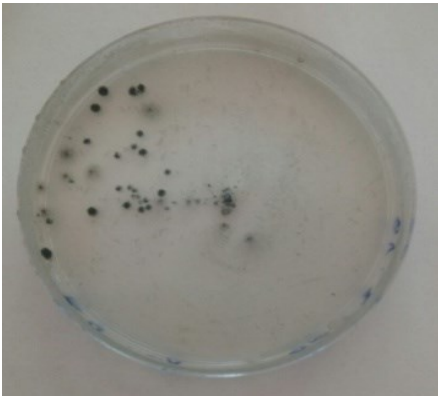


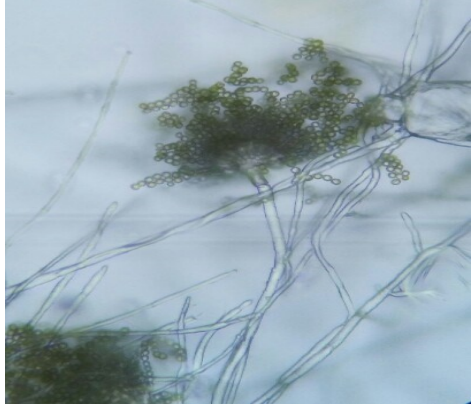
L'identification des isolats fongiques (cultures de 7 jours) est réalisée en tenant compte de leurs caractères macroscopiques (couleur, aspect de colonie de son revers) sur deux milieux (PDA et TSM) et microscopiques (forme de thalle et des spores). Les isolats fongiques caractérisés sont consignés dans le tableau 8.



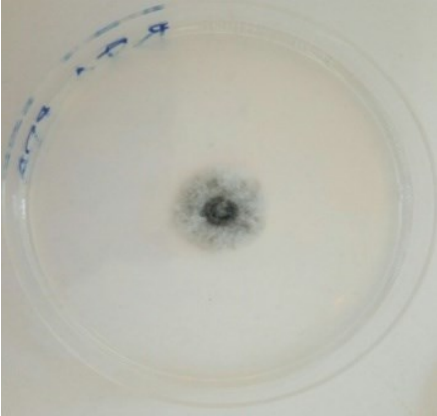
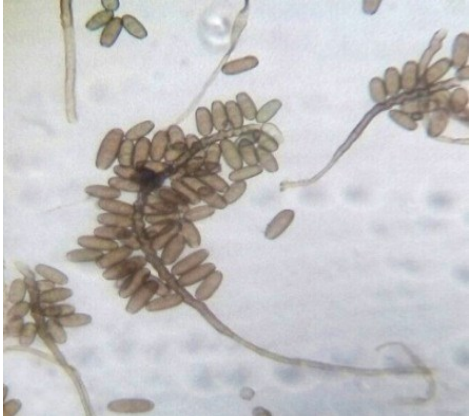
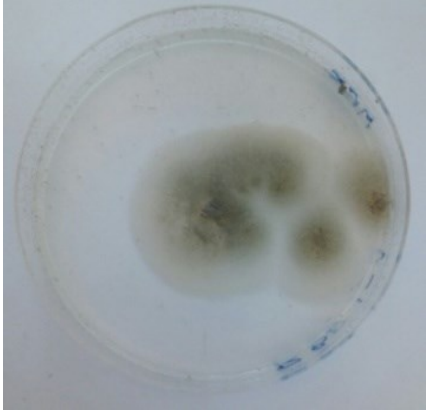

Tableau 8. Aspects macroscopique et microscopique des champignons filamenteux isolés du sol collectés de Biskra et Chott Merouane


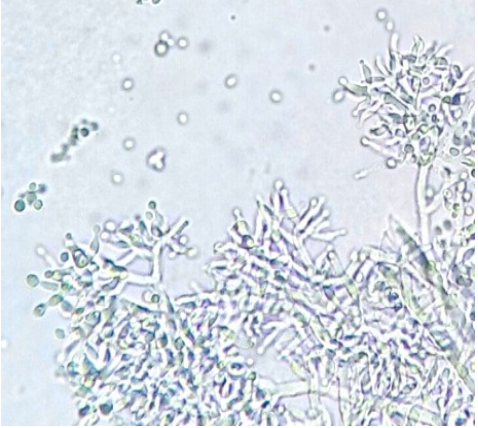

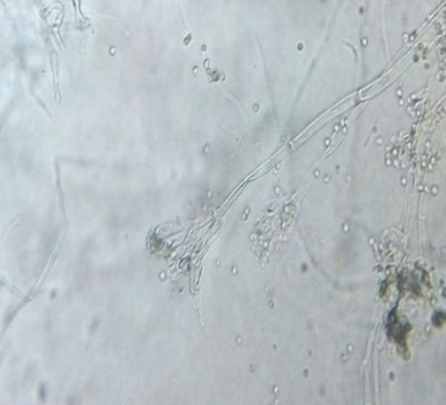


N°	Photo macroscopique	Photo microscopique
B3.P		
<i>Aspergillus niger</i>		
B15.T		
<i>Aspergillus sp.1</i>		

<p>O20.P</p>		
<p><i>Penicillium</i> sp. 1</p>		
<p>B14.P</p>		
<p><i>Alternaria alternata.</i></p>		
<p>O2.P</p>		
<p><i>Aspergillus fumigatus</i></p>		

<p>O19.T</p>		
<p><i>Aspergillus sp.2</i></p>		
<p>B6.P</p>		
<p><i>Aspergillus sp.3</i></p>		
<p>B21.P</p>		
<p><i>Aspergillus terreuse</i></p>		

<p>O15.T</p>		
<p><i>Aspergillus niger</i></p>		
<p>B7.T</p>		
<p><i>Aspergillus sp.4</i></p>		
<p>B8.P</p>		
<p><i>Aspergillus sp.5</i></p>		

<p>O13.P</p>		 <p><i>Aspergillus</i> sp.6</p>
<p>B5.P</p>		 <p><i>Bipolaris</i> sp.1</p>
<p>O7.P</p>		 <p><i>Aspergillus fumigatus</i></p>

<p>B18.P</p>		
<p><i>Trichoderma atroviride</i></p>		
<p>B16.P</p>		
<p><i>Penicillium chrysogenum</i></p>		
<p>B4.P</p>		
<p><i>Aspergillus ochraceuse</i></p>		

La comparaison de nos résultats de la caractérisation morphologique avec les clés d'identification ont permis de déterminer le genre de chaque isolat, et de rapprocher à l'espèce pour d'autres cas. En effet, l'identification phénotypique est insuffisante pour la détermination de certaines espèces de champignons filamenteux, il y a des tendances aujourd'hui à développer des méthodes plus rapides d'identification reposant sur l'étude des acides nucléiques (Almi, 2016).

On observe l'apparition du *Trichoderma* uniquement dans le sol de la région de Biskra. Selon Dendouga *et al.*, (2016), la présence de *Trichoderma* spp. est associée à un taux de matière organique élevé et une faible salinité.

Dans notre expérience pour l'isolement spécifique de *Trichoderma*, on a utilisé deux milieux gélosés le PDA et le TSM, malgré que ce dernier est un milieu sélectif pour les espèces de *Trichoderma*, dans la présente étude notre isolat est apparu sur PDA. Un résultat similaire est rapporté par Mouria (2012), dont la densité de la population fongique la plus élevée est enregistrée sur PDA par rapport aux milieux sélectifs. Ghorri, (2015) a décrit que la composition simple et riche en matière glucidique de PDA le rend un milieu favorable pour l'isolement et la prolifération de tous les types de champignons filamenteux.

4.4. Abondance relative des champignons filamenteux dans les deux régions d'étude

L'abondance relative des champignons filamenteux isolés du sol collectés de deux régions Biskra et Chott Merouane est présentée dans les figures 5 et 6. L'abondance relative représente le nombre des isolats de la même espèce (*100) sur le nombre total des isolats apparus dans le même site.

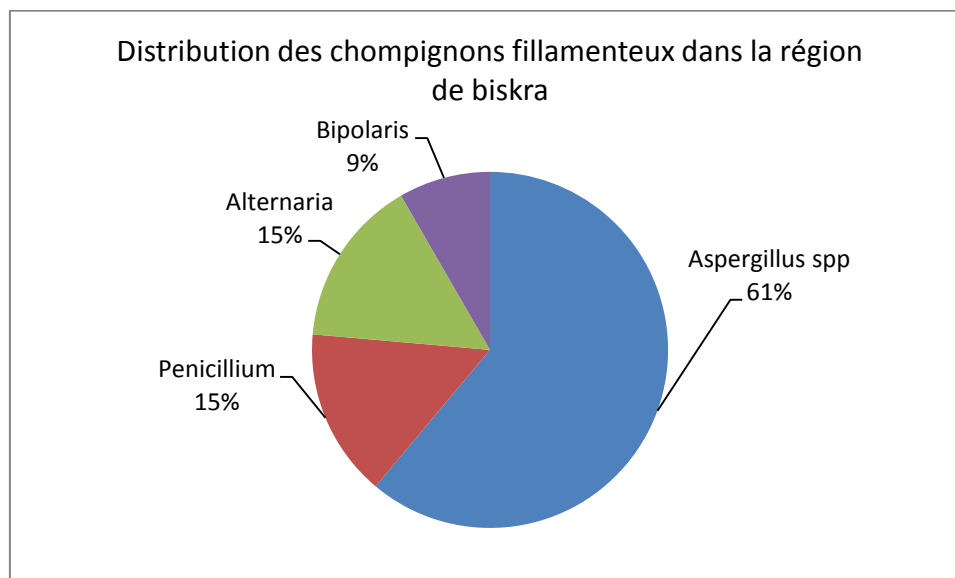


Figure 5. Distribution des Champignons filamenteux dans la région de Biskra

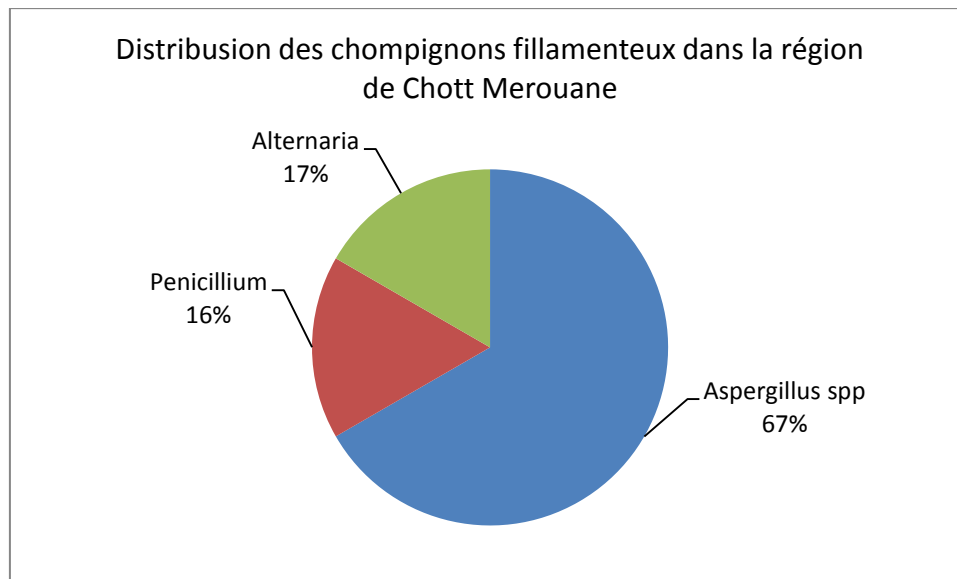
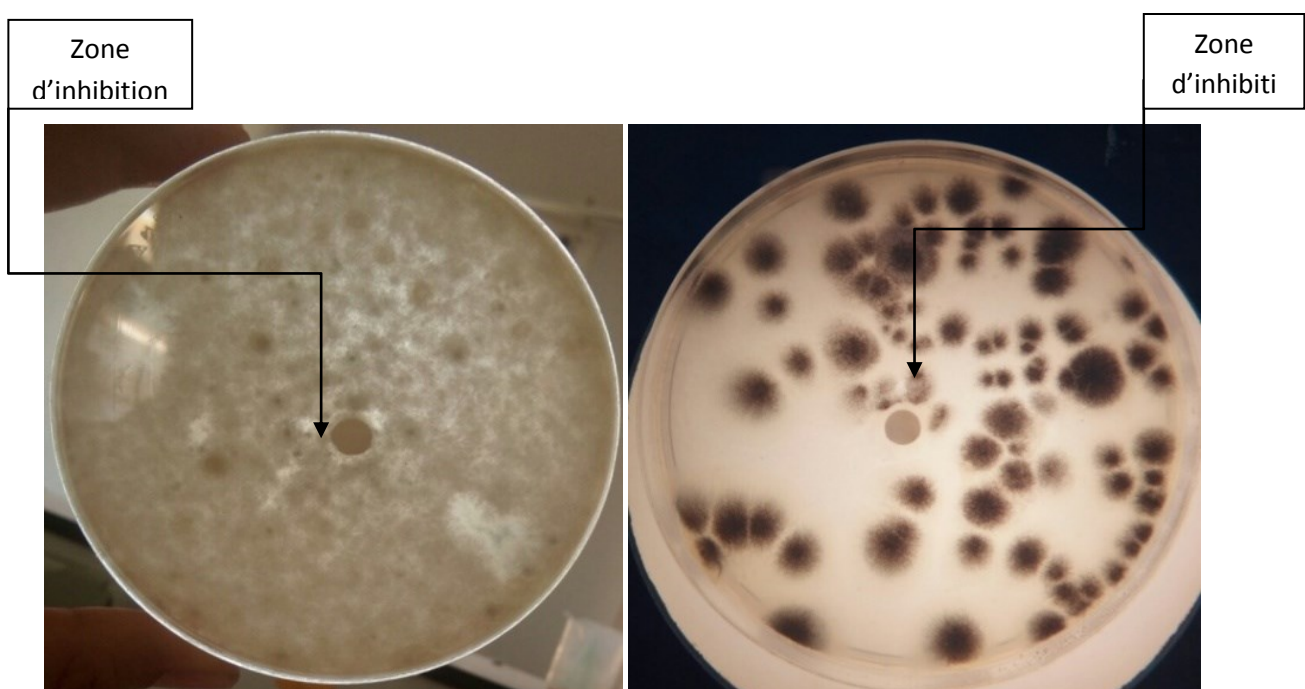


Figure 6. Distribution des champignons filamenteux dans la région de Chott Merouane

Ces résultats ont permis d'enregistrer la dominance des espèces du genre *Aspergillus*. Ces espèces fongiques sont présentes dans la majorité des sols de toutes natures (Alvarez-Rodriguez *et al.*, 2003). Plusieurs travaux ont rapporté la dominance du genre *Aspergillus* dans les sols des régions arides, les espèces appartenant à ce genre se caractérisent par leur grand taux de production et de dispersion des spores (Tabuc, 2007).

4.5. L'activité antifongique de *Trichoderma atroviride*B18.P

Les résultats de l'activité antifongique des extraits actifs de l'isolat *Trichoderma atroviride* B18.P testé sur milieu gélosé sont présentés dans le tableau 9 et la figure 7.



A : *Fusarium graminearum*

B: *Penicillium* sp.1 O20.P

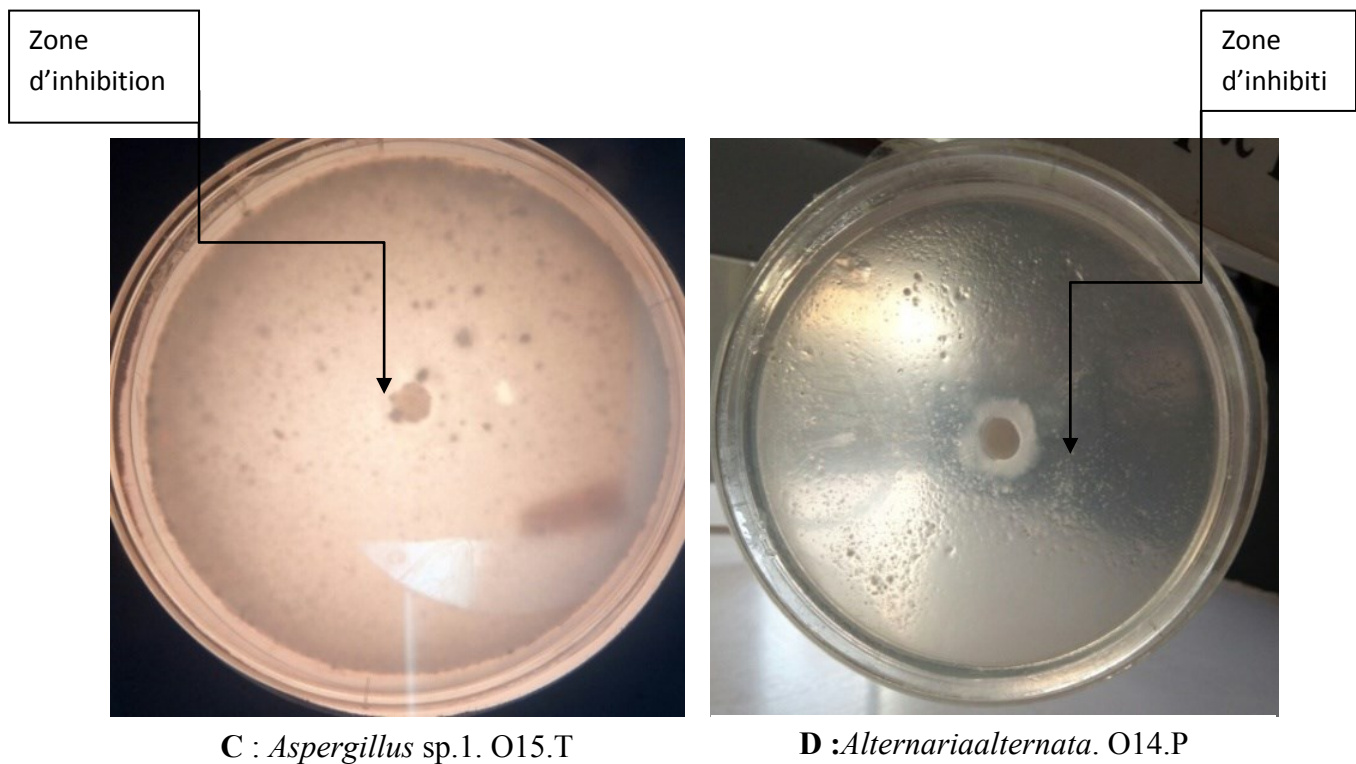


Figure 7. Activité antifongique de l'extrait bioactif de *Trichoderma atroviride* testé à l'égard de A: *Fusarium graminearum*, B: *penicillium* sp.1 O20.P,C: *Aspergillus* sp.1.O15.T, D: *Alternaria alternata*. O14.P

Tableau 9. L'activité antifongique de l'extrait bioactif de *Trichoderma atroviride* B18.P

Isolat fongique testé	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.1	<i>Alternaria alternata</i> .	<i>Aspergillus</i> sp.1
Diamètre de la zone d'inhibition	10 mm	13 mm	22 mm	9 mm

Après trois jours d'incubation, on a observé l'apparition d'une zone claire autour des disques, dont le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon l'isolat fongique testé. Le diamètre le plus grand correspond à *Alternaria alternata*. O14.P avec une zone d'inhibition de 22 mm, le plus petit est enregistré dans le cas d'*Aspergillus* sp.1 B15. T avec une zone d'inhibition de 9 mm.

Les moisissures qui ont un potentiel antagoniste montrent une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des souches tests et ce, par l'apparition d'une zone d'inhibition (Ghorri, 2015). Plusieurs travaux ont rapporté le rôle des souches de *Trichoderma* spp. comme agent antagoniste soit à l'égard des espèces de *Fusarium* ou d'autres phytopathogènes (*Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*). Cette action inhibitrice est due à des substances bioactives, libérées par les souches

de *Trichoderma* (phénomène d'antibiose). La capacité à produire de telles substances varie selon les isolats d'une même espèce. En plus de son action parasitaire, *Trichoderma* se développe plus rapidement par rapport aux autres champignons colonisant le milieu nutritif et en ravissant les éléments nutritifs, c'est le phénomène de compétition (Alabouvette, 1983).

4.6. Activité antibactérienne de *Trichoderma atroviride*B18.P

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits actifs de l'isolat *Trichoderma atroviride*B18.P testé sur milieu gélosé sont présentés dans le tableau 10 et la figure 8.

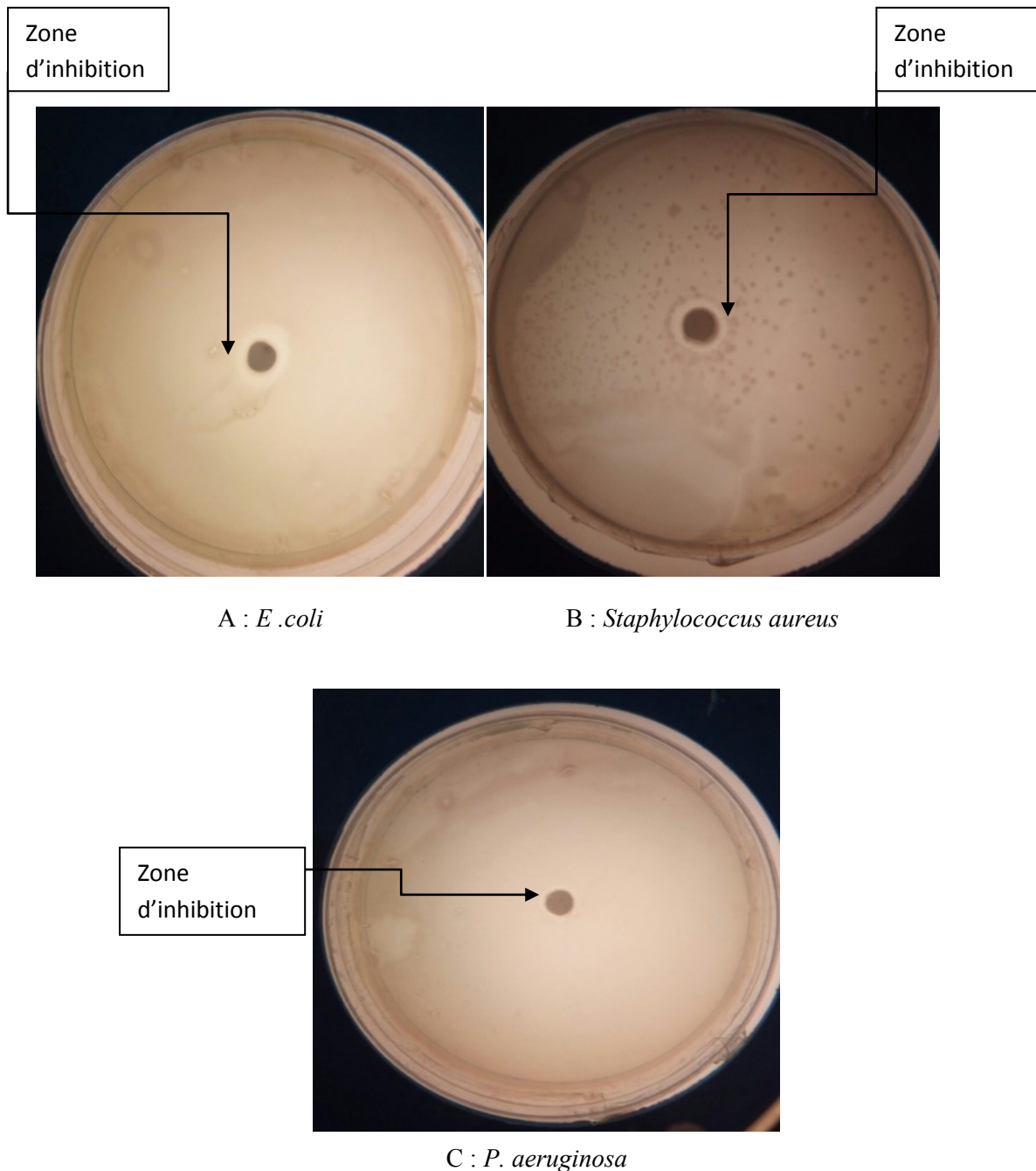


Figure 8. Activité antibactérienne de l'extrait bioactif de *Trichoderma atroviride* testé à l'égard de *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa*

Tableau 10. Activité antibactérienne de l'extrait bioactif de *Trichoderma atroviride* B 18.P

Souches bactériennes testée	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>E .coli</i>
Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	9 mm	12 mm	16 mm

Après un jour d'incubation, on a observé l'apparition d'une zone claire autour des disques, imbibés par l'extrait bioactif de *Trichoderma atroviride* B18.P, dont le diamètre de la zone d'inhibition diffère selon l'isolat fongique testé. Le diamètre le plus grand est dans le cas d'*E.coli*(14mm), le plus petit est dans le cas de *P. aeruginosa* (9 mm).

Le genre *Trichoderma* est réputé pour sa production d'un large panel de métabolites secondaires estimé à plus de 100 composés dotés d'activités antibiotiques (Aitecheet al 2018). Plusieurs espèces du genre *Trichoderma* produisent une grande variété de peptaïbols, qui sont des molécules d'antibiotiques. Grâce à leurs charges positives, ces molécules se déposent facilement à la surface négativement chargée des bactéries, certains sont actifs sur les bactéries Gram positif, d'autres sur les bactéries Gram négatif, tandis que d'autres sont actifs sur les deux types (Cosette et al; 1999).

Conclusion

Conclusion

L'objectif principal de la présente étude est d'isoler des souches de *Trichoderma* spp. Halotolérants et de tester leur activité antagoniste à l'égard des souches fongiques et bactériennes.

Les analyses physicochimiques des échantillons du sol collectés de deux régions ; Biskra et Chott Merouane a montré que la région de Biskra se caractérise par un sol à pH neutre, peu salé. Alors que, Chott Merouane se caractérise par un pH légèrement alcalin, une conductivité électrique élevée, avec une teneur importante en sel. Ces résultats nous permettent de conclure que le Chott représente vraiment un milieu extrême par rapport en particulier sa salinité.

L'analyse mycologique a confirmé la conclusion tirée des analyses physicochimiques, dont le nombre en isolats de moisissures le plus élevé est enregistré dans le cas des échantillons collectés de la région de Biskra, alors que, uniquement 6 isolats sont obtenus de Chott Merouane. D'une autre part, ces analyses ont montré la dominance des espèces appartenant au genre *Aspergillus* dans les deux régions d'étude, ce résultat peut servir à l'éclaircissement de la compréhension d'adaptation écologique de ces espèces aux conditions environnementales caractérisant ces deux régions.

Le test de diffusion sur disques de l'extrait brute produit par notre isolat *Trichoderma atroviride* B18.P a révélé son action inhibitrice à l'égard de toutes les souches fongiques et bactériennes testées. Cela peut s'expliquer par les mécanismes de détoxification qui diffèrent d'une espèce microbienne à une autre à l'égard du même agent antagoniste. Ces résultats reflètent l'importance de *Trichoderma atroviride* B18.P pour empêcher ou réduire la croissance d'un autre organisme, qui peut servir à une éventuelle application biotechnologique comme agent de biocontrôle.

Bibliographie

Bibliographie

Aiteche H., & Benzid K. 2018. Activité antagoniste de la souche *Trichoderma asperellum* (T34) sur demi-tubercules

Alabouvette C., Couteaudier Y. et Louvet J. 1983. Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, pp 7-16.

Alabouvette C., Couteaudier Y., & Louvet J. 1983. Importance des phénomènes de compétition nutritive dans l'antagonisme entre microorganismes, 7-16. In «Les antagonismes microbiens. Modes d'action et application à la lutte biologique contre les maladies des plantes». 24e Coll. soc. *Fr. Phytopathol., Bordeaux*.

Almi, H. 2016. Etude des myco-pathogènes de *Lens culinaris* et évaluation de l'effet de deux souches de *Trichoderma harzianum*.

Alvarez-Ropdriguez M.L., Lopez-Ocana L., Lopez C., Rodriguez N.E., Martinez M.J., Larriba G & Coque J-J.R. 2002. Cork taint of wines: role of filamentous fungi Isolated from rock in the function of 2,4,6- Trichloroanisol by O methylation of 2,4,6 – Trichlorophenol. *Applied and Environmental Microbiology* 68 (12): 5860-5869.

Aubert G. 1978. *Méthodes d'analyses des sols*. Centre national de documentation pédagogique, Centre régional de documentation pédagogique de Marseille.

Baize D. 1995. Les sols argileux appauvris en argile sous climat tempéré humide. *Étude et gestion des sols*, 2(4): 227-240.

Benabadji N., & Bouazza M. 1996. Description et aspects des sols en région semi-aride et aride au sud de Sebdou. *Bull, Inst. Sci*, (20) : 77-86.

Bissett J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. III. Section *Pachybasium*. *Canadian journal of botany*, 69(11): 2373-2417.

Boudih S. 2011. Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers: évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. Thèse de doctorat d'état, université Paris-Est.

Dendouga W., Boureghda H., Belhamra M. 2015. Edaphic factors affecting distribution of soil fungi in three chotts located in Algeria desert. *Courrier du Savoir* (19) : 147-152

Dendouga, W., Boureghda, H., & Belhamra, M. (2016). Biocontrol of wheat Fusarium crown and root rot by *Trichoderma* spp. and evaluation of their cell wall degrading enzymes activities. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 51(1), 1-12.

Davet P. 1996. *Vie microbienne du sol et production végétale*. Editions Quae.

Davet P., & Rouxel F. 1997. *Détection et isolement des champignons du sol*. Quae.

Ghorri S. 2015. Isolement des microorganismes possédant une activité anti-Fusarium

Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I., & Lorito M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1): 43.

Harman J. S., Childs G. E., & Kelleher K. J. 2000. Mental health care utilization and expenditures by children in foster care. *Archives of pediatrics & adolescent medicine*, 154(11) :1114-1117

Lecellier A. 2013. *Détection, caractérisation et identification des moisissures par spectroscopie vibrationnelle infrarouge et Raman*. Thèse de doctorat d'état, Reims.

Leghlimi H. 2013. *Cellulases de souches fongiques issues du sol d'un milieu extrême (sol proche de sources thermales). Sélection des souches et étude des caractéristiques des enzymes*. Thèse de doctorat d'état, Reims.

Meghazi N. 2015. *Activité antifongique de quelques huiles essentielles sur les moisissures du blé stocké*. Thèse de doctorat d'état.

Merabet S. 2011. Etude comparative de deux systèmes aquatiques dans le Sahara septentrional (Chott Merouane et Ain El Beida), environnement et signes de dégradation. *Ing., Agro., université d'Ouargla*.

Mohamed-Benkada M. 2006. Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles: substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Thèse de doctorat d'état, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Mostaganem, Algérie.

Mouria B., Ouazzani-Touhami A., & Douira A. 2013. Isolement et identification de la mycoflore du compost des déchets urbains solides. *Nature & Technology*, (9): 13.

Papavizas G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual review of phytopathology*, 23(1):23-54.

Roy J. 2014. Microbiologie des plantes en coussin des milieux alpins: influence des facteurs biotiques et abiotiques dans l'assemblage des communautés microbiennes ; thèse de doctorat d'état, Grenoble.

Samuels, G. J. ;Petrini, O. et Mangui, S.,(1994). Morphological and macromolecular characterization of *Hypocrea schweinitzii* and its *Trichoderma* anamorph. *Mycologia*, 86: 421-435.

Sedrati N. 2011. Origines et caractéristiques physicochimiques des eaux de la wilaya de Biskra, Sud-Est Algérien. Thèse de doctorat d'état, université de Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 252p.

Sivasithamparam K., & Ghisalberti E. L. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Trichoderma and Gliocladium basic biology taxonomy and genetics*, 1:139-191.

Verscheure M., Lognay G., & Marlier M. 2002. Revue bibliographique: les méthodes chimiques d'identification et de classification des champignons. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 6(3) :131-142.

Widden P., & Abitbol J. J. 1980. Seasonality of *Trichoderma* species in a spruce-forest soil. *Mycologia*, 72(4) : 775-784.

Yedidia J. S., Freeman W. T., & Weiss Y. 2001. Generalized belief propagation. In *Advances in neural information processing systems* pp. 689-695.

Zerroug A. 2018. Métabolites secondaires bioactifs des champignons endophytes isolés de *retama raetam* Forssk. Thèse de doctorat d'état, université Ferhat Abbas-setif.

Site web

(1) : <https://journals.openedition.org>

Annexes

Annexes

Annexe 01. Analyse physicochimique du sol.

Dosage du carbone et matière organique.

➤ Préparation des solutions.

- Solution bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à 8%: Dissoudre 49.04 g de $K_2Cr_2O_7$, séché à 200°C dans 1 L d'eau distillée.

- Solution d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) à 96%.

- Acide phosphorique (H_3PO_4) à 86%.

- Indicateur à la diphénylamine: dissoudre 0.5 g dans un mélange de 20 ml d'eau distillée et de 100 ml d'acide sulfurique concentré. Diluer d'abord l'acide sulfurique dans l'eau sous jet d'eau (réaction exothermique puis y dissoudre l'indicateur).

- Sel de mohr 1 N : dissoudre 278 g de sulfate de fer ($F_2SO_4, 7H_2O$) dans 800 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée de 1000 ml, ajouter 5 ml de H_2SO_4 concentré, puis compléter avec l'eau distillée jusqu'à 1 L.

➤ Mode opératoire.

- Peser 1 g de sol dans un bécher de 500 ml.

- Ajouter 10 ml de bichromate de potassium (1 N).

- Ajouter 20 ml de l'acide sulfurique concentré.

- Laisser reposer 30 mn.

- Ajouter 200 ml d'eau distillée.

- Ajouter 10 ml de l'acide phosphorique concentré.

- Ajouter 10 à 15 gouttes de l'indicateur coloré diphénylamine.

- Titrer avec le sulfate de per d'ammonium jusqu'à l'apparition d'un couleur vert.

Annex 2.Potato dextrose agar (PDA)

Pomme de terre épluchées et coupées.....200 g

Glucose.....20 g

Agar.....15 g
Eau distillée.....1000 ml
pH 5.6

Annexe 3.TSM

MgSO₄, 7H₂O.....0.2g
KH₂-PO₄.....0.9g.
KCl.....0.15g.
NH₄NO₃1g.
Glucose3g.
agar-agar.....20g

Annex 4. Bouillon nutritif

Extrait de viande1g
Peptone..... 5g
Chlorure de sodium5g
Eau distillée1000ml
pH=7

La composition de la **gélose nutritive** : il s'agit du milieu précédent plus 15g d'agar.

Annex 5.Sabouraud dextrose agar (SDA)

Dextrose.....40 g
Peptone.....10 g
Agar.....15 g
Eau distillée.....1000 ml
pH 5.6

الملخص

من أجل عزل سلالات الترايكوديرما شديدة المقاومة لاستغلالها في المناطق القاحلة ، تم احضار عينات من التربة من منطقتين (بسكرة و شط مروان). قمنا باجراء التحليلات الفيزيائية والكيميائية لتربة بسكرة حيث اظهرت معدل معامل الحموضة في المتوسط 7.51 ، والناقلية الكهربائية 14.9 مللي / سم ، ومحتوى أيون الكلور 9.5 ملغ / لتر. من ناحية أخرى ، تتميز تربة شوطمروان بدرجة حموضة قدرها 7.7 وملوحة عالية جدًا مترجمة بواسطة معدل لكلور بترتيب (54.33 ملغم / لتر) وناقلية كهربائية 24 ، 9 مللي / سم. سمح العزل الذي تم إجراؤه بواسطة طريقة التخفيف على PDA و TSM بالحصول على 18 عزلة من الفطريات الخيطية ، مع هيمنة جنس *Aspergillus* (61% في بسكرة و 67% في شوت مروان). كشف اختبار النشاط المضاد للفطريات والبكتيري للمستخلص الخام من *Trichoderma atroviride* B18.P الذي أجري بطريقة نشر القرص حيث تم التحصل على قطر تثبيط كبير (24 مم) فيما يتعلق بـ *Alternaria alternata* O14.P و قطر 16 ملم في حالة الإشريكية القولونية.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma* ، مضاد للفطريات ، مضاد للجراثيم ، عداء ، تربة

Résumés

Dans le cadre d'isoler des souches de *Trichoderma* halotolérantes pour leur exploitation dans les régions arides, des prélèvements du sol de deux régions (Biskra et Chott Merouane) ont été effectués. Les analyses physicochimiques du sol de Biskra ont montré qu'il se caractérise en moyenne par un pH de 7,51, une conductivité électrique de 14,9 ms/cm, une teneur en ion de chlorure de 9,5mg/l. D'une autre part, le sol de Chott Merouane se caractérise par un pH de 7,7 et une salinité très élevée traduite par une teneur en chlorure de l'ordre de (54,33 mg/l) avec une conductivité électrique de 24,9 ms/cm. L'isolement effectué par la méthode de suspension-dilution sur PDA et TSM a permis d'obtenir 18 isolats de champignons filamenteux, avec la dominance du genre *Aspergillus* (61 % à Biskra et 67 % à Chott Merouane). Le test d'activité antifongique et antibactérienne de l'extrait brut de *Trichoderma atroviride* B18.P réalisé par la méthode de diffusion sur disques, a révélé un diamètre d'inhibition important (24 mm) vis-à-vis d'*Alternaria alternata* O14.P et un diamètre de 16 mm dans le cas d'*Escherichia coli*

Mots clés : *Trichoderma*, antifongique, antibactériennes, antagonisme, sol

Abstract

have shown that it is characterized by a Ph between (7.62 and 7.44), an electrical conductivity between (16.2 ms / cm and 12.8ms / cm), a chloride ion content of between mg / l and 9 mg / l). On the other hand, the soil of Chott Merouane is characterized by a pH between (7.85 and 7.53) and a very high salinity translated by a chloride content of the order of (80 mg / l and 36 mg / l) with a electrical conductivity (26.2 ms / cm and 23.3 ms / cm), Isolation of the suspension-dilution method on PDA and TSM resulted in 18 isolates of filamentous fungi, dominated by the genus *Aspergillus* (72%). The antifungal and antibacterial activity test of the crude extract of *Trichoderma atroviride* (B18.P) carried out by the disk diffusion method revealed a large inhibition diameter (24 mm) with respect to *Alternaria alternata* and 16 mm vis-à-vis *Escherichia coli*

Key words: *Trichoderma*, antifungal, antibacterial, antagonism, soil