



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



## **Université Amar Thelidji- Laghouat**

**FACULTE : SCIENCES**

**DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES**

### **MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : CHEKNANE Amina**

**DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)**

**FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES**

**OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX**

### **Thème**

**Isolement et caractérisation de *Trichoderma* sp. à partir de quelques plantes cultivées, dans la région de Laghouat.**

#### **Jury de soutenance :**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
BENCHETTOUH Ahmed	MCA	Président
TOUATI-HATTAB Sihem	MCB	Examineur
MARFOUA Mériem	MCA	Rapporteur
BENHAFFAF Fatima		Co-rapporteur

**Promotion : Juin - 2024**

---

## Dédicaces

---

*À ma mère Fatima, mon pilier, mon exemple et ma plus grande force. Merci pour votre amour, votre soutien inconditionnel et vos sacrifices qui m'ont permis d'en arriver là. Je vous dédie ce travail avec tout mon cœur.*

*À mon père, qui m'a aidé à devenir la personne que je suis aujourd'hui. Merci pour votre sagesse et votre guidance. Que Dieu vous garde et vous protège.*

*Mes chères sœurs, vous êtes la lumière de ma vie. Je vous dédie ce mémoire en guise de reconnaissance pour votre affection et votre présence à mes côtés. Que Dieu vous garde et vous protège toujours*

*À mes frères Oussama et Nadjib, Que ce travail soit une source de fierté pour vous. Votre présence à mes côtés, vos conseils et votre confiance en moi m'ont permis d'aller au bout de cette aventure. Je vous remercie d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir épaulé dans les moments les plus difficiles.*

*Puisse Dieu vous bénir et vous accorder santé, bonheur et réussite dans vos projets. Vous êtes une bénédiction dans ma vie et je suis fier d'être votre frère*

*CHEKANE Amina*

---

# Remerciements

---

Je remercie tout d'abord le bon Dieu tout puissant qui ma donné la force et le courage pour terminer ce travail ;

Après avoir achevé ce travail, je m'aperçois que le plus dur reste à faire qui remercierais-je en premier ? quand je sais que la contribution de tous est efficiente.

- Ma profonde gratitude va à ma promotrice, le docteur MARFOUA Mériem. à l'université Amar TELIDJI -Laghouat-, pour l'insigne honneur qu'elle m'a fait en acceptant de me diriger pour la réalisation de ce travail.
- Mes sincères remerciements et ma respectueuse gratitude vont au doctorante Madame BENHAFFAF Fatima à l'université Amar TELIDJI -Laghouat-, qui a dirigé ce travail, m'a apporté toute sa compétence et son aide. Je suis infiniment reconnaissante pour sa disponibilité, ses conseils et ses idées malgré ses préoccupations.
- Avec beaucoup de plaisir, j'exprime ma reconnaissance au docteur Monsieur BENCHETTOUH Ahmed à l'université Amar TELIDJI -Laghouat- pour avoir accepter de présider cette séance.
- Que soient également vivement remercier, Madame TOUATI-HATTAB Siham à l'Université Amar TELIDJI -Laghouat- pour sa obligeance en examinant ce travail.

Enfin, que celles et ceux qui m'ont apporté leur aide pour la réalisation de cet ouvrage trouvent ici ma profonde sympathie.

CHEKNANE Amina

**CHEKNANE A. (2024) : Isolement et caractérisation de *Trichoderma* sp. à partir de quelques plantes cultivées, dans la région de Laghouat.**

**Résumé**

Cette étude porte sur l'évaluation de la diversité et l'identification des micro-organismes présents dans la rhizosphère de certaines plantes cultivées dans la région de Laghouat. Nous avons caractérisé cinq genres fongiques (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus* et *Penicillium*) et neuf espèces à partir d'échantillons de sol provenant de *Daya*, *Assafiya* et *Kaf Mokran*. Les analyses morphologiques ont révélé divers morphotypes, tels que cotonneux, granuleux, duveteux, floconneux et poudreux. Dhaya a présenté la plus grande diversité fongique, suivie par *Assafiya* et *Kaf Mokran*.

Les tests de tolérance à la température ont montré une croissance optimale des souches à 22°C et 28°C, une croissance ralentie à 37°C et une inhibition totale à 45°C. En ce qui concerne la tolérance au pH, le *Fusarium* s'est avéré prédominant et à croissance rapide sur tous les pH testés, tandis qu'*Aspergillus* sp9 et *Aspergillus flavus* ont montré une croissance moyenne et *Penicillium* sp1 une croissance faible.

Les tests d'antagonisme, par confrontation directe et indirecte, ont démontré que certaines souches, notamment *Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Penicillium* sp2 et *Fusarium* sp1, possèdent une capacité inhibitrice significative contre les pathogènes fongiques. Ces résultats suggèrent un potentiel prometteur pour le développement de stratégies de biocontrôle en agriculture, offrant une alternative écologique aux pesticides chimiques.

Cette recherche met en lumière la diversité microbienne des sols de Laghouat et ouvre la voie à des applications pratiques pour une agriculture durable et respectueuse de l'environnement. Des études futures, incluant des essais sur le terrain et une exploration approfondie des mécanismes d'action des agents antagonistes, sont nécessaires pour optimiser leur utilisation dans la gestion des maladies des plantes.

**Mots clés :**

Isolats fongique, biodiversité, biocontrôle, Laghouat, plantes cultivées.

#### ملخص

تتركز هذه الدراسة على تقييم التنوع والتعرف على الكائنات الدقيقة الموجودة في جذور بعض النباتات المزروعة في منطقة الأغواط. قمنا بتوصيف خمسة أجناس فطرية (*Aspergillus*، *Fusarium*، *Alternaria*، *Rhizopus* و *Penicillium*) وتسعة أنواع من عينات التربة المأخوذة من ضاية، الصفية وكاف مقرن. كشفت التحليلات المورفولوجية عن أشكال متنوعة، مثل القطني، الحبيبي، الزغبي، المتكتل والمسحوقي. أظهرت ضاية أعلى تنوع فطري، تليها الصفية وكاف مقرن.

أظهرت اختبارات تحمل درجة الحرارة نموًا مثاليًا للسلاطات عند 22 درجة مئوية و28 درجة مئوية، ونموًا متباطئًا عند 37 درجة مئوية، وتوقفًا تامًا عند 45 درجة مئوية. فيما يتعلق بتحمل الأس الهيدروجيني، كان *Fusarium* هو السائد وأظهر نموًا سريعًا عبر جميع مستويات الأس الهيدروجيني المختبرة، بينما أظهر *Aspergillus sp9* و *Aspergillus flavus* نموًا متوسطًا، وأظهر *Penicillium sp1* نموًا ضعيفًا.

أظهرت اختبارات التأزر، من خلال المواجهة المباشرة وغير المباشرة، أن بعض السلاطات، وخاصة *Aspergillus flavus sp9* و *Penicillium sp2* و *Fusarium sp1*، تمتلك قدرات تثبيطية كبيرة ضد مسببات الأمراض الفطرية. تشير هذه النتائج إلى إمكانات واعدة لتطوير استراتيجيات مكافحة الحيوية في الزراعة، مما يوفر بديلاً بيئيًا للمبيدات الكيميائية.

تسلط هذه الدراسة الضوء على التنوع الميكروبي لتربة الأغواط وتفتح الطريق للتطبيقات العملية للزراعة المستدامة والصديقة للبيئة. هناك حاجة إلى دراسات مستقبلية، بما في ذلك التجارب الميدانية واستكشاف آليات عمل العوامل المضادة، من أجل تحسين استخدامها في إدارة أمراض النباتات.

#### الكلمات الدالة :

عزلات فطرية، التنوع البيولوجي، مكافحة الحيوية، الأغواط، النباتات المزروعة.

***CHEKNANE A. (2024): Isolation and characterization of Trichoderma sp. from some cultivated plants in the Laghouat region.***

**Summary**

This study focuses on evaluating the diversity and identification of microorganisms present in the rhizosphere of certain cultivated plants in the Laghouat region. We characterized five fungal genera (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, and *Penicillium*) and nine species from soil samples collected from *Daya*, *Assafiya*, and *Kaf Mokran*. Morphological analyses revealed various morphotypes, such as cottony, granular, downy, flocculent, and powdery. *Daya* exhibited the highest fungal diversity, followed by *Assafiya* and *Kaf Mokran*.

Temperature tolerance tests showed optimal growth of strains at 22°C and 28°C, reduced growth at 37°C, and total inhibition at 45°C. Regarding pH tolerance, *Fusarium* was predominant and exhibited rapid growth across all tested pH levels, while *Aspergillus* sp9 and *Aspergillus flavus* showed moderate growth, and *Penicillium* sp1 exhibited weak growth.

Antagonism tests, through direct and indirect confrontation, demonstrated that certain strains, notably *Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Penicillium* sp2, and *Fusarium* sp1, possess significant inhibitory capabilities against fungal pathogens. These results suggest promising potential for developing biocontrol strategies in agriculture, offering an ecological alternative to chemical pesticides.

This research highlights the microbial diversity of Laghouat soils and paves the way for practical applications in sustainable and environmentally friendly agriculture. Future studies, including field trials and an in-depth exploration of the mechanisms of action of antagonistic agents, are necessary to optimize their use in plant disease management.

**Key words:**

Fungal isolates, biodiversity, biocontrol, Laghouat, cultivated plants.

Les Tableau	page
Tableau 1 : Liste des échantillons de différents types de sol rhizosphérique des plantes cultivées collectés dans différentes zones de la région de Laghouat	
Tableau 2 : Caractérisation des isolats fongiques obtenus des échantillons de rhizosphère des plantes cultivées de Laghouat (1/2).	
Tableau 2 : Caractérisation des isolats fongiques isolées des échantillons de rhizosphère des plantes spontanées de Laghouat (Suite 2/2).	
Tableau 4 : Taux d'inhibition (en pourcentage) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés par méthode des stries et du disque	
Tableau 3 : Taux d'inhibition (en pourcentage) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés par méthode des disques.	

Les Figures	Page
Figure 1 : Classification des champignons.	
Figure 2 : Localisation géographique des sites de prélèvement des échantillons de sol rhizosphérique.	
Figure 3 : Méthode de suspension dilutions.	
Figure 4 : Préparations du milieu de culture PDA.	
Figure 5 : Procédé de dénombrement et d'isolement des champignons.	
Figure 6 : Tolérance des champignons isolés aux différents températures.	
Figure 7 : Différentes correction de pH du milieu de PDA.	
Figure 8 : Test d'antagonisme méthode de confrontation directe.	
Figure 9 : Test d'antagonisme par méthode de confrontation indirect.	
Figure 10 : Méthodologie de travail.	
Figure 11 : Répartition du nombre de colonies par échantillon	
Figure 13 : Nombre total de genres identifiés dans les échantillons du sol étudiés.	
Figure 14 : Abondance relative des espèces fongiques par région d'échantillonnage.	
Figure 15 : Effet de la variation du pH sur le diamètre des colonies (mm) des isolats fongiques après 5 jours d'incubation.	
Figure 16 : Effet de la variation du pH sur le diamètre des colonies des isolats fongiques après 9 jours d'incubation.	
Tableau 3 : Taux d'inhibition (en pourcentage) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés par méthode des disques.	
Figure 17 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Albedinis</i> (FOA), par confrontation directe (méthode des disques), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.	
Figure 18 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> , par confrontation directe (méthode des disques), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.	
Figure 19 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium graminearum</i> , par confrontation directe (méthode des disques), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.	
Figure 20 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Albedinis</i> (FOA), par confrontation directe (méthode des stries et du disque), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.	
Figure 21 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> , par confrontation directe (méthode des stries et du disque), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.	
Figure 22 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de <i>Fusarium graminearum</i> , par confrontation directe (méthode des stries et du disque), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.	
Figure 23 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de FOA, par confrontation indirecte, en présence de <i>Penicillium</i> sp2 après 7 jours d'incubation.	

## Sommaire

Introduction générale	
<b>PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
Chapitre I : Microflore rhizosphérique	
I.1.- Généralités	
I.2.- Composition de la microflore rhizosphérique	
I.2.1.- Les bactéries	
I.2.2.- Les champignons	
I.2.3.- Les protozoaires	
I.2.4.- Les levures	
I.2.5.- Les virus	
I.2.6.- Les algues	
Chapitre II : Les champignons	
II.1.- Caractéristiques des champignons filamenteux	
II.2.- Classement des champignons filamenteux	
II.3.- Importance dans le sol	
Chapitre III : Lutte biologique	
III.1.- La lutte biologique à l'aide de microorganismes antagonistes	
III.1.- Effets des pesticides sur la biologie des sols	
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL &amp; METHODES</b>	
II.1.- Objectif	
II.2.- Echantillonnage	
II.3.- Technique d'isolement des microorganismes du sol	
II.3.1.- Méthode de dilution	
II.3.2.- Milieu de culture utilisé	
II.6.1.- Identification macroscopique	
II.6.2.- Identification microscopique	
II.7.- Tolérance des isolats à certains paramètres physiques	
II.7.1.- Effet de la température sur le développement des isolats	
II.7.2.- Effet de pH sur le développement des isolats	
II.8.- Test d'antagonisme <i>In vitro</i>	
II.8.1.- Confrontation directe	
II.8.2.- Confrontation indirecte	
II.9.- Analyses statistiques et paramètres étudiés	
<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS &amp; DISCUSSIONS</b>	
Chapitre 1 : Analyse mycologique	
I.1.- Inventaire de la flore fongique de la région d'étude	
I.2.- Répartition du nombre de colonies par échantillon	
I.3.- Dénombrement des genres fongiques par dilution	
I.4.- Nombre de genres par échantillon	
I.5.- Abondance totale des espèces fongiques par région d'échantillonnage	
I.6.- Caractérisation des isolats isolées	
Chapitre 2 : Caractérisation physiologique	
II.1.- Tolérance des isolats fongiques aux quelques facteurs abiotiques	

II.1.1.- Effet de la température sur le diamètre des colonies des isolats fongiques	
II.1.2.- Effet de pH sur le diamètre des colonies des isolats fongiques	
II.1.2.1.- Après 5 jours	
II.1.2.2.- Après 9 jours	
II.2.- Evaluation de l'activité antagoniste des isolats fongiques	
II.2.1.- Confrontation directe	
II.2.1.1.- Méthode des disques	
II.2.1.2.- Méthode des stries et du disque	
II.2.2.- Confrontation indirecte	
Discussion générale	
Conclusion générale	
Références bibliographiques	

---

# *Introduction générale*

---

## **Introduction générale**

L'agriculture intensive, bien qu'essentielle pour répondre aux besoins alimentaires mondiaux, a entraîné une utilisation excessive de fertilisants chimiques. Cette pratique a conduit à une dégradation significative des sols, à la pollution des eaux et à des impacts négatifs sur la biodiversité (**Sun et al., 2020 ; Shao et al., 2020**).

Les biofertilisants, dérivés de micro-organismes bénéfiques comme les champignons mycorhiziens, représentent une solution respectueuse de l'environnement à ces problèmes. En plus d'améliorer la disponibilité des nutriments pour les plantes, ces biofertilisants renforcent la structure du sol et augmentent la résilience des cultures face aux stress abiotiques (**Zhang et al., 2023**).

Les changements climatiques, avec leurs impacts sur les régimes de précipitations et les températures, posent des défis supplémentaires pour la production agricole. Les champignons du sol, grâce à leurs capacités d'adaptation et de symbiose avec les plantes, peuvent jouer un rôle crucial dans la résilience des systèmes agricoles face à ces changements. En renforçant les défenses naturelles des plantes et en améliorant l'efficacité de l'utilisation des ressources, ces micro-organismes contribuent à la stabilité et à la durabilité des productions agricoles dans un contexte de variabilité climatique accrue (**Rillig et al., 2019 ; Kopeć, 2024**).

Les champignons de sol jouent un rôle essentiel dans les écosystèmes terrestres, influençant la santé des sols, la croissance des plantes et la biodiversité microbienne. Ils sont impliqués dans des processus écologiques fondamentaux tels que la décomposition de la matière organique, la libération de nutriments essentiels et la formation de symbioses avec les plantes. En particulier, les champignons endophytes et rhizosphériques peuvent avoir des effets bénéfiques sur la résistance des plantes aux stress biotiques et abiotiques, ce qui les rend intéressants pour les pratiques agricoles durables (**Johnson et al., 2003 ; Rodriguez et al., 2009 ; Rillig et al., 2010 ; Berendsen et al., 2012 ; Smith et al., 2017**).

L'étude de cette diversité microbienne est essentielle pour comprendre les interactions sol-plante et pour identifier des agents potentiels de biocontrôle qui pourraient être utilisés dans des stratégies de gestion intégrée des ravageurs (**Arshad et al., 2007 ; Rodriguez et al., 2008 ; Smith et al., 2010 ; Al-Hatmi et al., 2016 ; Verma et al., 2019**).

La diversité microbienne dans les sols est un facteur clé pour la santé des écosystèmes et la productivité agricole. Les microorganismes du sol, en particulier les champignons, jouent des rôles cruciaux dans les cycles biogéochimiques, la décomposition de la matière organique, et la suppression des pathogènes des plantes (**Garbeva, van Veen, & van Elsas, 2004**). La rhizosphère, la zone de sol influencée par les racines des plantes, est particulièrement riche en microorganismes bénéfiques, y compris les champignons, qui peuvent agir comme agents de biocontrôle contre divers pathogènes des plantes (**Mendes et al., 2013**).

Dans les régions arides comme Laghouat, la connaissance de la diversité fongique et des interactions microbiennes dans la rhizosphère est limitée. Pourtant, cette compréhension est essentielle pour développer des stratégies durables de gestion des maladies des plantes qui s'adaptent aux conditions environnementales locales (**Kowalski, 2009**). Des études récentes ont montré que les champignons antagonistes, tels que les espèces d'*Aspergillus* et de *Penicillium*, peuvent inhiber efficacement la croissance de pathogènes fongiques par la production de métabolites secondaires et de composés volatils (**Pandey et al., 2019 ; Rinu et al., 2014**).

Le plan du mémoire est classique : nous avons dans la première partie représentée une synthèse bibliographique comportant des généralités sur la rhizosphère, la microflore et les champignons filamenteux ainsi que la lutte biologique.

Alors que la deuxième partie est consacrée au travail expérimental qui est réalisé au niveau de laboratoire de l'université Amar TELIDJI à Laghouat. Nous avons exposé la méthode d'isolement des espèces fongiques à partir de la rhizosphère des plantes cultivées saines prélevées des différentes zones d'agriculture de la région de Laghouat. Ce travail expérimental sera fondé sur une analyse *in vitro*, qui repose sur :

- l'identification morphologique des isolats obtenus,
- Démonstration de l'impact de certains paramètres physiques (température et pH) sur quelques isolats fongiques.
- La sélection des antagonistes vis-à-vis de trois isolats phytopathogènes de *Fusarium*, à savoir : *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum albedinis*, *Fusarium culmorum*.

Dans la dernière partie. Nous interprétons les résultats obtenus et tentons de trouver des explications scientifiques. Finalement, nous finissons notre travail par une conclusion générale et des perspectives.



---

**PREMIERE PARTIE**

---

**SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## **PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **Chapitre I : Microflore rhizosphérique**

#### **I.1.- Généralités**

La rhizosphère constitue une zone de sol, un espace autour des racines des plantes, définissant des microrégions du sol en contact direct avec les racines des plantes supérieures (**Sabbagh, 2008 ; Berg et Smalla, 2009**).

La rhizosphère est la région du sol sous l'influence directe des racines. Elle représente une interface essentielle entre la plante et le sol, activée par la présence de microorganismes, de bactéries, de champignons, ainsi que de prédateurs, et est considérée comme un habitat pour les microorganismes associés aux activités racinaires (**Gobat et al., 2010**).

La rhizosphère est le lieu de multiples interactions entre les microorganismes et les racines, ces interactions pouvant être bénéfiques, nuisibles ou neutres pour la plante (**Bais et al., 2006**). Certains microorganismes rhizosphériques, notamment les champignons, sont bénéfiques pour les plantes, améliorant souvent leur croissance (**Morgan et al., 2005**).

Le sol est un réservoir important de microorganismes, contenant une microflore complexe et variée qui joue des rôles essentiels dans l'écosystème tellurique et pour les organismes pluricellulaires qui y vivent (**Munees et Mulugeta, 2013**). Aucun autre habitat n'abrite une densité d'espèces aussi élevée que le sol. Par exemple, un gramme de sol peut contenir des millions d'individus et plusieurs milliers d'espèces de bactéries (**Kilbertus, 1980 ; FAO, 2001**).

#### **I.2.- Composition de la microflore rhizosphérique**

La microflore du sol est composée de bactéries (archées et eubactéries), de champignons (levures et moisissures), d'algues et de protozoaires.

##### **I.2.1.- Les bactéries**

Les bactéries sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol. On estime d'ailleurs que tous les groupes de bactéries connues pourraient être isolés du sol si les techniques et les milieux adéquats sont utilisés

(Dommergues et Mangenot, 1970). De ce fait, accéder à la diversité bactérienne de manière exhaustive constitue un des défis majeurs de ces dernières décennies en écologie microbienne et les techniques qui y sont dédiées n'ont cessé d'évoluer. Il existe plusieurs groupes de la bactérie telle qu'ammonifiantes, pectinolytiques, de genre *arthrobacter*. (Theodorakopoulos, 2013).

### I.2.2.- Les champignons

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

### I.2.3.- Les protozoaires

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

### I.2.4.- Les levures

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

### I.2.5.- Les virus

A côté des bactéries, actinomycètes, champignon, et algues, qui sont visible au microscope optique, le sol renferme aussi des microorganismes dont l'existence ne peut être démontrée que par la microscopie électronique, il s'agit essentiellement de virus (Dommergues et Mangenot, 1970).

Les virus libres, placés hors d'une cellule vivante et à la lumière sont rapidement inactive. Mais, dans le sol, ils peuvent, une fois adsorbés conserver longtemps leur pouvoir infectieux (**Davet, 2003**).

### **I.2.6.- Les algues**

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

## **Chapitre II : Les champignons**

Les champignons sont des micro-organismes eucaryotes qui sont classés en trois groupes par rapport à leurs importances industrielles : les champignons filamenteux, les levures et les champignons supérieurs (**Brock et coll., 1994**).

### **II.1.- Caractéristiques des champignons filamenteux**

Les champignons filamenteux sont caractérisés par une structure mycélienne. Leur appareil végétatif (thalle) est constitué par des filaments ramifiés, les hyphes. Leur organisation est coenocytique, à l'intérieur de la structure filamenteuse, entourée d'une paroi rigide, se trouve une masse cytoplasmique multinucléée mobile, sans cloisonnement en unités cellulaires. Chez de nombreux champignons, il existe des cloisons transversales à intervalles réguliers dans les hyphes, mais, en fait, ces cloisons sont percées d'un pore central permettant la libre circulation du cytoplasme et des noyaux. Néanmoins, on dit qu'ils ont un mycélium « cloisonné » (**Bocquet, 1993**).

Les champignons se reproduisent par germination des spores. Les spores mûres sont libérées des appareils sporifères et disséminées dans la nature, essentiellement par le vent. Une spore germe et émet un filament (hyphe) qui croît, s'allonge par l'extrémité apicale et se ramifie pour donner un nouveau mycélium. Les champignons ont aussi la possibilité de se propager par bouturage. Un simple fragment de mycélium est capable de se développer et de former une colonie. Il peut exister deux types de reproduction, asexuée et sexuée (**Alexopoulos et coll., 1996**).

Les spores asexuées naissent des corps fructifères et elles peuvent être endogènes (à l'intérieur d'un sporange) ou exogènes (conidies). Les spores sexuées naissent de la division méiotique d'un zygote, suivie d'une ou plusieurs divisions mitotiques.

## II.2.- Classement des champignons filamenteux

La classification de **Kwon Chung et Bennett (1992)** modifiée par de **Hoog et Guarro (1995)** est la plus utilisée actuellement (**Fig. 1**).

On estime à plus de 100 000 le nombre d'espèces fongiques, plus de 1000 d'entre elles pouvant contaminer les aliments (**Castegnaro et Pfohl-Leskowicz, 2002**).

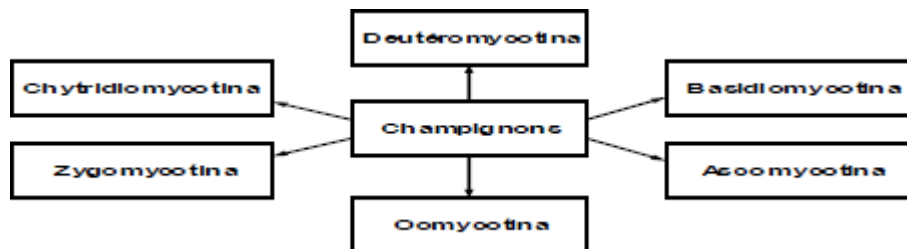


Figure 1 : Classification des champignons.

## II.3.- Importance dans le sol

Leur rôle dans le sol est considérable et très varié ; il s'exerce surtout dans la phase de décomposition de la matière organique fraîche qui précède l'humification : la plupart sont aptes à décomposer la cellulose, certains sont susceptibles d'hydrolyser les composés de nature phénolique, plus résistants ; lignine, tannins (**Gobat et al., 2003**).

Certains champignons sont associés aux racines des plantes supérieures (en particulier des arbres), en formant les mycorhizes, à vie symbiotique, qui facilitent la croissance et la nutrition des espèces contaminées (**Duchaufour, 2001 ; Bousseboua, 2005**).

Par sa taille et sa structure, un mycélium est à même de transporter activement des quantités importantes d'eau et de substance d'un endroit à l'autre du sol (**Gobat et al., 2003**).

### Chapitre III : Lutte biologique

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme (Cook, 2014 ; Benbrouket al., 2008).

#### III.1.- La lutte biologique à l'aide de microorganismes antagonistes

Est utilisation d'un organisme vivant en vue de limiter, arrêter ou bien inhiber le développement d'un autre organisme vivant sans avoir recourt aux pesticides, plusieurs être vivant, bactéries et champignons, ont fait l'objet d'étude ou ont été utilisées dans des applications de lutte biologique (Emmert et Handelsman, 2003).

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme (Cook, 2014 ; Benbrouket al. 2008).

L'utilisation de microorganismes antagonistes en lutte biologique peut avoir des effets directs ou indirects sur les agents biotiques (Nasraoui, 2006). Les agents de lutte biologique peuvent êtres de plusieurs types : des virus (*Cydia pomonella*, *Pandemis heparana*...), des bactéries (*Bacillus thuringiensis*, *Bacillus subtilis*...) et des Champignons (*Metarhizium anisopliae*, *Coniothyrium minitans*...).

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

#### III.1.- Effets des pesticides sur la biologie des sols

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

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

Une étude d'impact de l'utilisation prolongée de pesticides dans un agrosystème cotonnier, menée par **Hussain et al. (2001)**, a révélé que l'endosulfan, le profenofos + alphametrine et le méthamidophos diminuait la population bactérienne.

La même observation a été faite par **Mader et al. (2002)** sur un sol cultivé en pomme de terre traitée par du dinosèbe et du glufosinate concernant la population totale de champignons, le diméthoate entraînait une diminution de la population de champignons alors que l'endosulfan, le monocrotophos, le profénofos et le méthamidophos la stimulaient.

---

# **DEUXIEME PARTIE**

---

## **MATERIEL & METHODES**

---

## DEUXIEME PARTIE : MATERIEL & METHODES

### II.1.- Objectif

Cette étude vise à identifier et caractériser les microorganismes fongiques présents dans les rhizosphères de certaines plantes cultivées de la région de Laghouat. Les objectifs spécifiques sont les suivants :

#### 1. Isolation des espèces fongiques :

- Isoler différentes espèces fongiques à partir de la rhizosphère de plantes cultivées saines prélevées dans diverses zones agricoles de la région de Laghouat.

#### 2. Purification et collection :

- Purifier et obtenir une collection d'isolats fongiques.

#### 3. Identification morphologique :

- Identifier les isolats selon des critères morphologiques, tant macroscopiques que microscopiques.

#### 4. Tolérance aux paramètres physiques :

- Démontrer la tolérance des souches isolées à certains paramètres physiques, notamment la température et le pH.

#### 5. Activité antagoniste :

- Tester l'activité antagoniste *in vitro* des isolats obtenus vis-à-vis des souches pathogènes de *Fusarium*.

La partie pratique de cette recherche a été réalisée dans le laboratoire pédagogique du domaine des sciences de la nature et de la vie de l'Université Amar TELIDJI - Laghouat.

## II.2.- Echantillonnage

Quatorze (14) échantillons de sol rhizosphérique ont été collectés dans trois (3) zones différentes de la région de Laghouat pendant les mois de janvier, février et mars 2024 (Fig. 2).

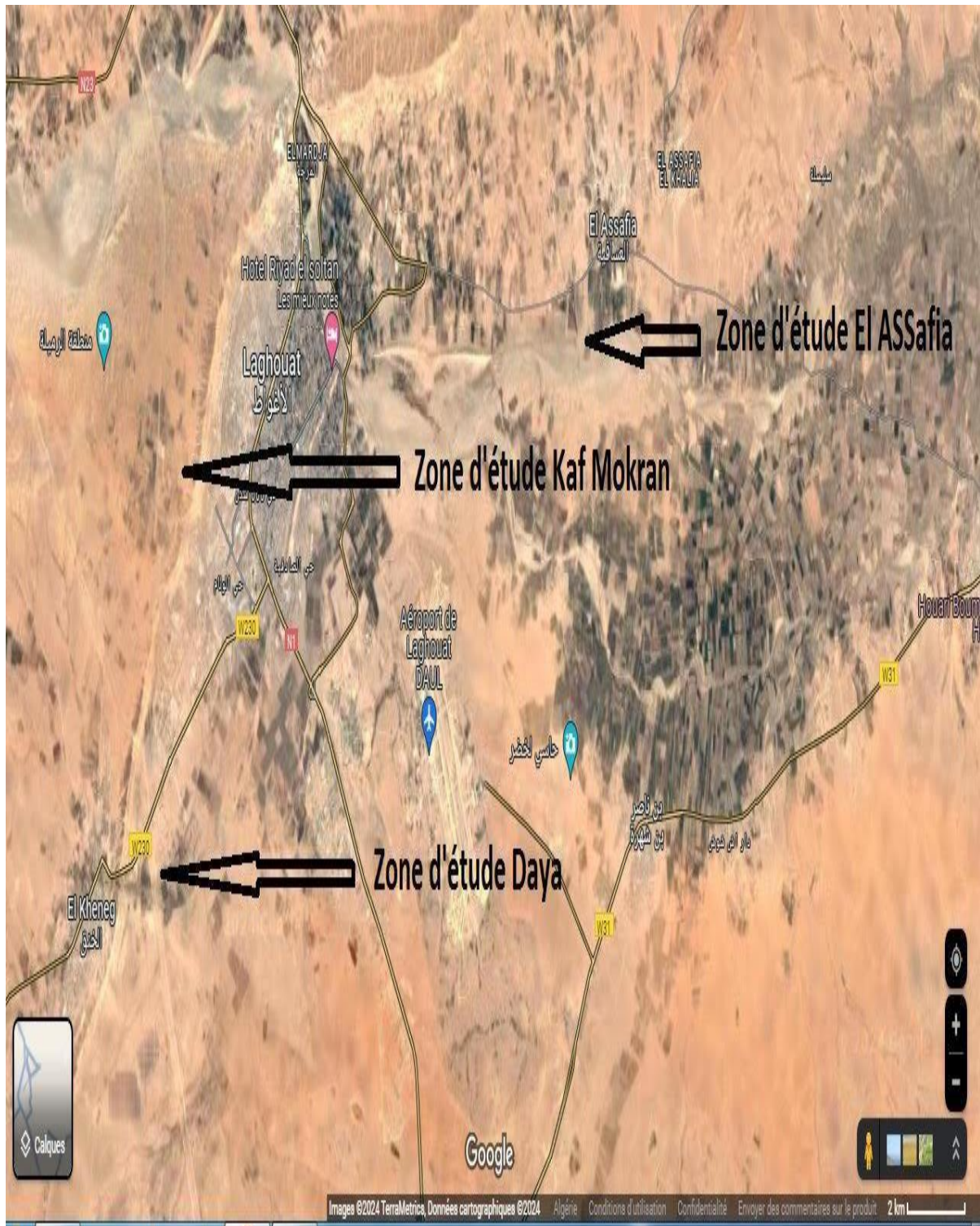


Figure 2 : Localisation géographique des sites de prélèvement des échantillons de sol rhizosphérique.

Les échantillons ont été prélevés au hasard, à une profondeur de 20 cm, dans divers types de rhizosphère, placés dans des sachets en plastique étiquetés, puis transportés au laboratoire de l'Université Amar TELIDJI à Laghouat. Ils ont été conservés à température ambiante jusqu'à leur analyse (**Tab.1**).

**Tableau 1 : Liste des échantillons de différents types de sol rhizosphérique des plantes cultivées collectés dans différentes zones de la région de Laghouat.**

N°	Région	Type de sol	N°	Région	Type de sol
01	<i>Assafia</i>	Rhizosphère de blé	08	<i>Daya</i>	Rhizosphère de fève
02	<i>Assafia</i>	Rhizosphère de L'orge	09	<i>Daya</i>	Rhizosphère d'abricot
03	<i>Assafia</i>	Rhizosphère de luzerne	10	<i>Daya</i>	Rhizosphère de chou-fleur
04	<i>Assafia</i>	Rhizosphère de carotte	11	<i>Daya</i>	Rhizosphère d'olivier
05	<i>Daya</i>	Rhizosphère de figuier	12	<i>Kaf Mokran</i>	Rhizosphère de palmier
06	<i>Daya</i>	Rhizosphère de poirier	13	<i>Kaf Mokran</i>	Rhizosphère de fève
07	<i>Daya</i>	Rhizosphère de pêches	14	<i>Kaf Mokran</i>	Rhizosphère de figuier

Source: CHEKNANE (2024).

### II.3.- Technique d'isolement des microorganismes du sol

L'isolement des mycètes à partir du sol a été réalisé selon la méthode de suspension dilution, ou « dilution plates » (Davet, 1996 ; Davet et Rouxel, 1997), sur un milieu de culture *Potato Dextrose Agar* (PDA).

#### II.3.1.- Méthode de dilution

La préparation des dilutions consiste d'abord à ajouter une masse connue de terre (généralement 1g) à 9 ml d'eau distillée stérile, puis à agiter pendant quelques secondes à l'aide d'un vortex, ce qui constitue la dilution  $10^{-1}$ . Des prélèvements successifs de 1 ml de cette suspension, et des suspensions suivantes, auxquels sont ajoutés 9 ml d'eau distillée stérile à chaque fois, vont constituer les dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , ..., jusqu'à  $10^{-5}$  (Fig.3).

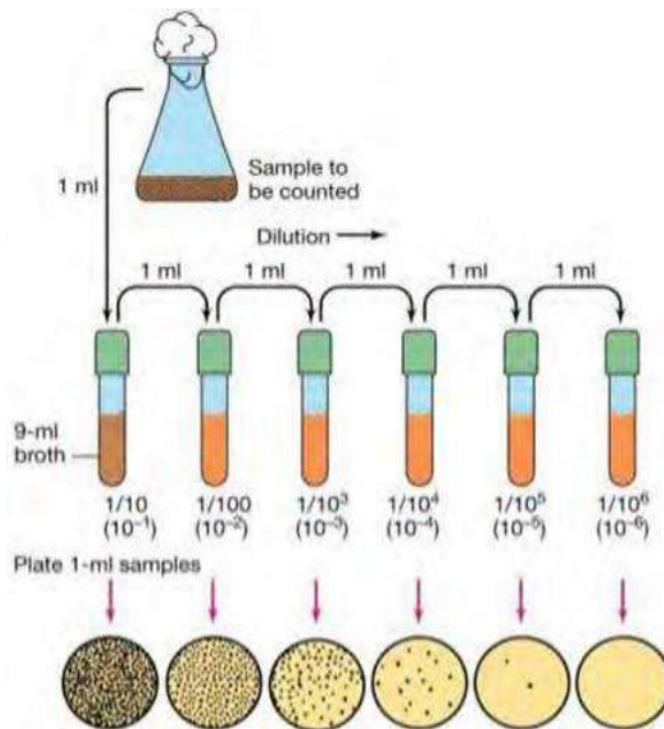


Figure 3 : Méthode de suspension dilutions.

De la même manière, 1 ml de la suspension  $10^{-1}$ , préalablement agitée à l'aide d'un vortex, est prélevé avec une micropipette et dilué dans un second tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée stérile pour obtenir une dilution de  $10^{-2}$ . Ce processus est répété pour chaque dilution jusqu'à atteindre une diminution exponentielle de la charge microbienne de l'échantillon mère à  $10^{-7}$ .

**II.3.2.- Milieu de culture utilisé**

Le milieu de culture utilisé pour l'isolement des champignons du sol est le milieu PDA (**Rapilly, 1968**). Il est composé de :

- 200 g de pommes de terre
- 20 g d'agar
- 20 g de glucose
- 1000 ml d'eau distillée

Avant de commencer, il est nécessaire de créer une zone stérile à l'aide de la flamme d'un bec Bunsen sur une paillasse soigneusement nettoyée. Les étapes de préparation sont les suivantes :

1. Cuire 200 g de pommes de terre pelées, lavées et coupées en fines tranches dans environ 500 ml d'eau pendant 20 à 30 minutes.
2. Filtrer le liquide à l'aide d'une passoire dans une bouteille en verre.
3. Ajouter 20 g d'agar-agar et 20 g de glucose au filtrat, puis compléter le volume à 1000 ml avec de l'eau distillée.
4. Stériliser la préparation à l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes.
5. Vérifier que le pH est compris entre 7,0 et 7,2.
6. Verser le milieu de culture stérile dans des boîtes de Pétri stériles.

Un volume de 1 ml de chaque suspension a été déposé dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA pour ensemercer les champignons. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dilution. La croissance bactérienne a été inhibée par l'ajout de l'antibiotique chloramphénicol aux milieux de culture à une concentration de 5 mg/l (**Botton et al., 1990**). Les préparations ont été incubées à 28 °C jusqu'au développement apparent de colonies (**Fig. 4**).



CHEKNANE A. (2024)

Figure 4 : Préparations du milieu de culture PDA.

#### II.4.- Dénombrement des colonies

Le dénombrement consiste à compter les colonies présentes sur les boîtes de Pétri. Le comptage est effectué macroscopiquement, en tenant compte des caractéristiques des colonies sur leur milieu approprié (**Fig. 5**).

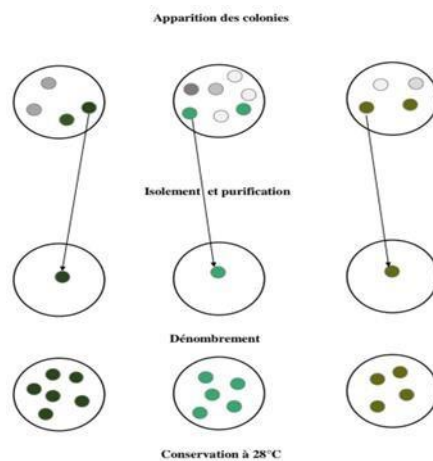


Figure 5 : Procédé de dénombrement et d'isolement des champignons.

#### II.5.- Repiquage et purification

Après un bon développement des colonies, des repiquages sont effectués pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à ce qu'une seule colonie d'un champignon donné soit isolée sur chaque boîte de Pétri (**Guiraud, 1989**).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une pipette stérilisée, en évitant tout contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur le milieu PDA. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri soigneusement étiquetée. Le repiquage se fait de manière aseptique près du bec Bunsen, et les boîtes sont incubées à 28 °C pendant 7 à 10 jours jusqu'à obtention des souches pures.

## **II.6.- Identification des microorganismes**

L'identification a été réalisée en se basant sur les critères morphologiques et culturels des différentes souches. Toutes les souches pures obtenues ont été soumises à une identification morphologique par observation au microscope. Un fragment de la souche pure (quelques spores et un fragment mycélien à la marge du thalle) a été prélevé avec une anse en platine stérile. Ce fragment a ensuite été transféré sur une lame contenant de l'eau distillée. L'observation microscopique a été effectuée à des grossissements de 10X et 40X.

### **II.6.1.- Identification macroscopique**

Les caractères morphologiques et culturels sont évalués à l'œil nu et se basent essentiellement sur les aspects suivants :

- La vitesse de croissance (rapide, moyenne, lente) ;
- La texture des colonies ;
- La couleur des colonies ;
- La couleur du revers de la culture ;
- Le mode de reproduction.

### **II.6.2.- Identification microscopique**

L'étude microscopique du mycélium repose sur les aspects suivants :

- L'absence ou la présence de cloisons ;
- La couleur des filaments mycéliens ;
- Le mode de ramification des cloisons ;
- La différenciation des thallospores.

La détermination des espèces s'est avérée difficile en raison du manque de documentation et de matériel de comparaison. Nous avons utilisé les clés de détermination de **Barnett et Hunter (1972)** ainsi que celles de **Champignon (1997)**. Ces données ont permis d'identifier le genre, et parfois l'espèce, de chaque isolat.

## **II.7.- Tolérance des isolats à certains paramètres physiques**

Les facteurs environnementaux tels que l'aération, le pH, la disponibilité d'eau, les nutriments et la température influencent la croissance des micro-organismes et jouent un rôle déterminant sur la biodiversité microbienne dans un habitat donné (**Brock et al., 1994; Dix et Webster, 1995**).

Pour étudier l'effet de deux facteurs abiotiques (température, pH) sur le milieu le plus favorable à la croissance mycélienne, quatre isolats ont été sélectionnés parmi les souches obtenues : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Fusarium* sp1, *Penicillium* sp2.

Les deux facteurs ont été étudiés à différents niveaux. À chaque niveau, deux répétitions de boîtes de Pétri ont été inoculées pour chaque isolat. L'évolution de la croissance mycélienne a été évaluée quotidiennement en mesurant les diamètres perpendiculaires de chaque colonie.

### **II.7.1.- Effet de la température sur le développement des isolats**

La température influence les processus vitaux, et chez les champignons, elle a un impact sur la croissance mycélienne et la fructification (**Marc, 2018**). La température d'incubation est un facteur crucial pour le métabolisme et la croissance des cellules (**Ana et Navarro, 2014**).

La résistance des champignons à différentes températures a été validée. Les températures de 22°C et 28°C sont considérées comme idéales pour le développement des mycéliums, tandis que les températures de 37°C et 45°C ont été choisies en fonction des plantes hôtes (plantes cultivées) vivant dans des régions sahariennes où les températures sont très élevées.

Les isolats fongiques ont été testés pour leur tolérance à la chaleur dans un environnement à des températures de croissance minimale, optimale et maximale, respectivement autour de 22°C, 28°C, 37°C et 45°C. Ensuite, les boîtes ont été incubées dans une étuve pendant une période de 7 jours (**Fig. 6**).



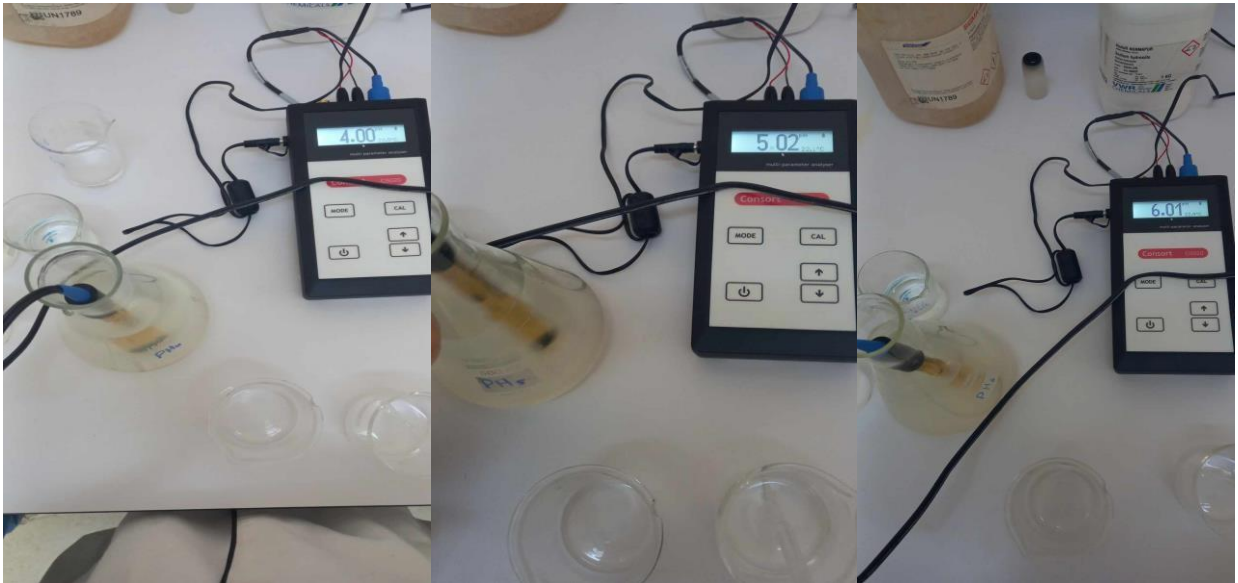
**Figure 6 : Tolérance des champignons isolés aux différents températures.**

### **II.7.2.- Effet de pH sur le développement des isolats**

Les micromycètes peuvent se développer dans une large gamme de pH, se développant normalement pour des pH compris entre 3 et 8 (Tabuc, 2007).

Pour évaluer l'influence du pH sur la croissance mycélienne, nous avons utilisé le milieu de culture PDA avec une gamme de pH allant de 4 à 9. Cette méthode consiste à utiliser un milieu PDA en surfusion, réparti dans des erlenmeyers de 100 ml, auxquels sont ajoutées des quantités différentes d'acide chlorhydrique ou d'hydroxyde de sodium selon le pH recommandé.

Chaque pH obtenu est contrôlé à l'aide d'un pH-mètre pour une éventuelle correction. Après autoclavage, les milieux de culture tamponnés sont coulés dans des boîtes de Petri etensemencés avec un explant mycélien déposé au centre des boîtes. Les boîtes sont ensuite incubées à 28°C dans l'obscurité. Deux répétitions ont été réalisées pour chaque souche (Fig. 7).



CHEKNANE A. (2024)

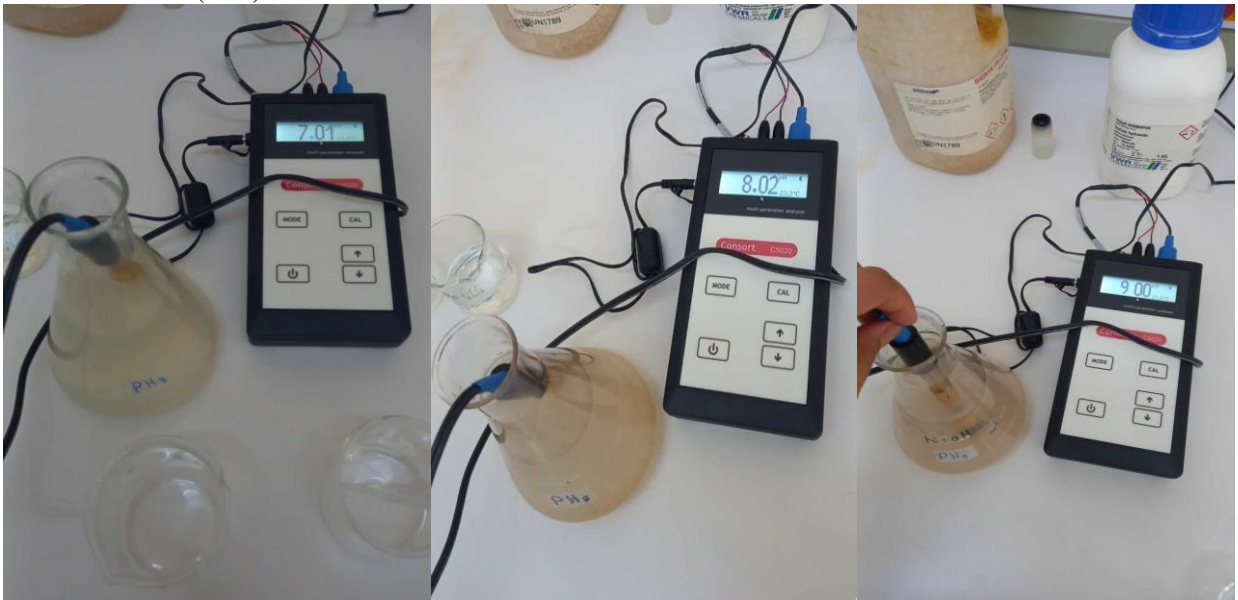


Figure 7 : Différentes correction de pH du milieu de PDA.

### II.8.- Test d'antagonisme *In vitro*

Pour l'étude de l'activité antagoniste *in vitro* des souches, les trois isolats d'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Fusarium* sp1, et *Penicillium* sp2 ont été confrontés aux isolats de *Fusarium oxysporum* albidinis, *Fusarium culmorum* et *Fusarium gramireaum*.

Ce test a été réalisé sur milieu PDA en utilisant deux méthodes de confrontation :

### II.8.1.- Confrontation directe

La méthode de confrontation directe consiste à repiquer deux disques fongiques, l'un de l'agent pathogène et l'autre comme agent antagoniste, dans une même boîte de Petri contenant le milieu PDA. Les deux disques fongiques sont déposés à 2 cm de distance l'un de l'autre. Le témoin consiste à repiquer un disque fongique de l'agent phytopathogène et un disque de gélose stérile dans une boîte contenant le milieu PDA. L'incubation se fait à l'obscurité à 28 °C pendant 07 jours.

Après incubation, les mesures de la croissance mycélienne des colonies de l'agent phytopathogène sont réalisées en mesurant le diamètre de la colonie exprimé en mm (Dennis et Webster, 1971) (Fig. 8).

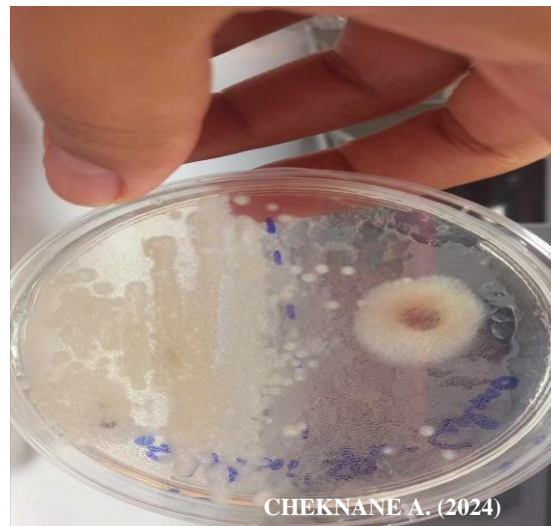


Figure 8 : Test d'antagonisme méthode de confrontation directe.

L'évaluation du pourcentage d'inhibition (IC) est réalisée en suivant la méthode de Caron (2002).

$$IC \% = (DT-DPA/DT) \times 100$$

DT : Croissance diamétrale du témoin ;

DPA : Croissance diamétrale mycélienne du pathogène en présence de l'antagoniste.

### II.8.2.- Confrontation indirecte

Ce test est effectué conformément à la méthode de Daami-Remadi et El Mahjoub (2001). Des disques de 5 mm de diamètre de l'isolat antagoniste et de la souche pathogène sont placés dans deux boîtes de Pétri distinctes contenant le milieu PDA.

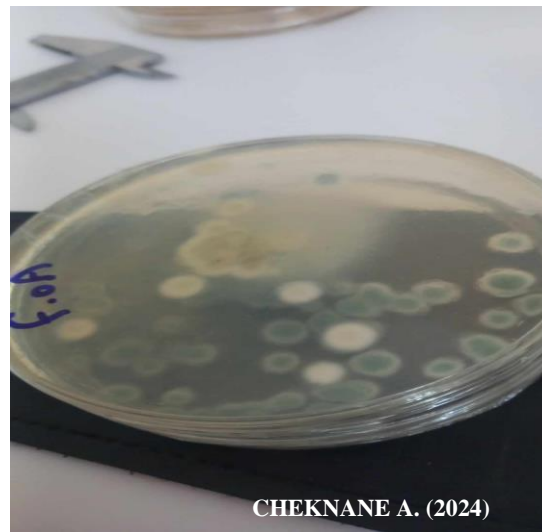
Les deux boîtes sont ensuite superposées, l'antagoniste en bas et le pathogène en haut, avec du parafilm assurant la jonction pour éviter la perte de substances volatiles. Les boîtes sont incubées à l'obscurité à 28°C pendant 7 jours (**Fig. 9**).

Le pourcentage d'inhibition (I) de la croissance mycélienne est calculé selon la formule suivante (**Hmouni et al., 1996**).

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

**C<sub>n</sub>** : Le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste ;

**C<sub>o</sub>** : Le diamètre moyen des colonies témoin.



**Figure 9** : Test d'antagonisme par méthode de confrontation indirect.

## **II.9.- Analyses statistiques et paramètres étudiés**

L'effet de quelques facteurs abiotiques : Température et pH sur le diamètre des colonies ainsi que l'effet antagoniste de ces isolats sur certains champignons pathogènes ont été étudiés. Des analyses de variance (ANOVA) ont été utilisées pour tester les effets de quelques facteurs et traitements. Les moyennes ont été comparées à l'aide du test de Tukey post-hoc. Les analyses statistiques ont été réalisées en utilisant le logiciel R version 4.2.2 pour Windows.

La **figure 10** résume la méthodologie globale du travail :

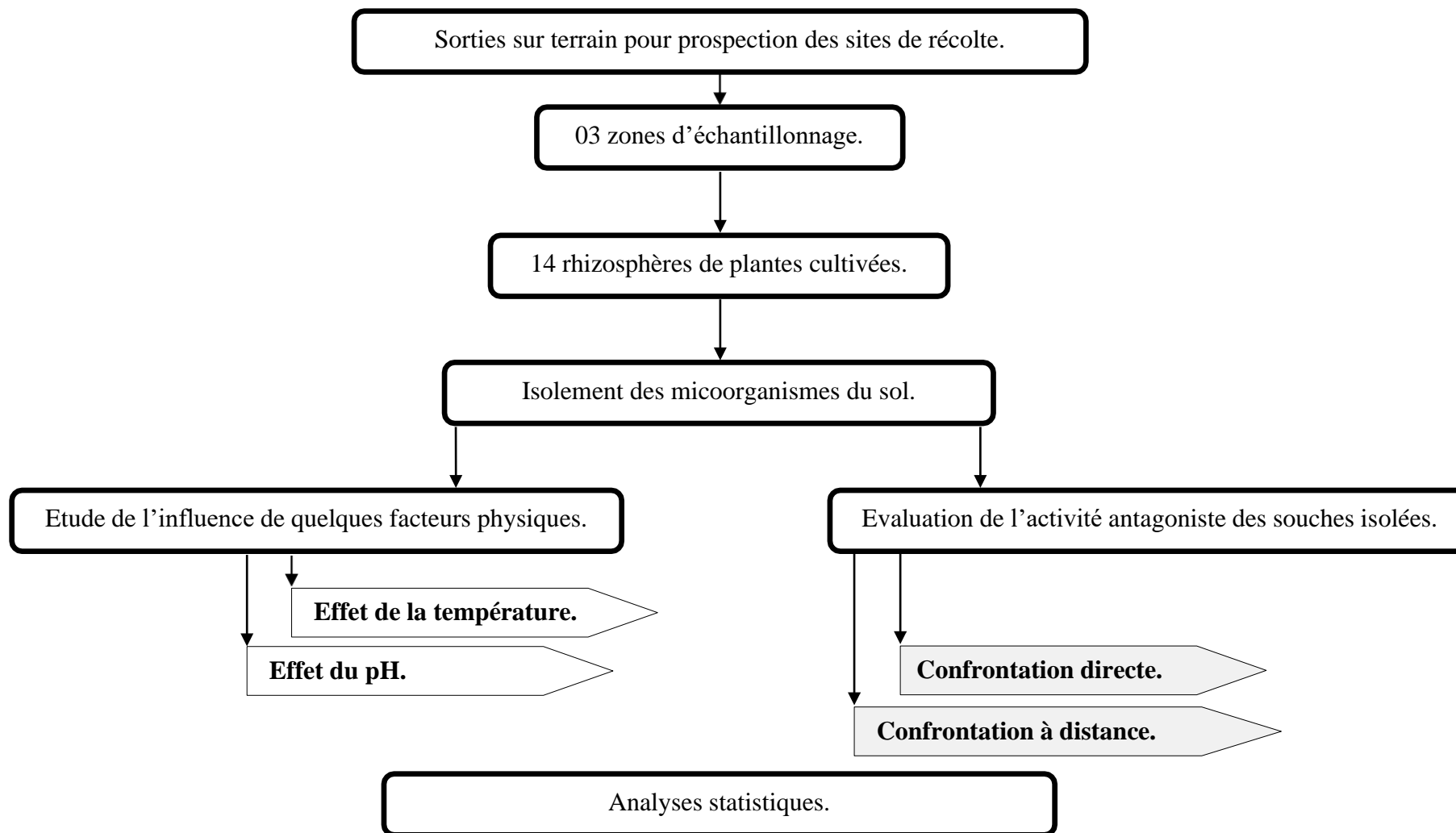


Figure 10 : Méthodologie de travail.

---

# **TROISIEME PARTIE**

---

## **RESULTATS & DISCUSSIONS**

---

## TROISIEME PARTIE : RESULTATS & DISCUSSIONS

### Chapitre 1 : Analyse mycologique

Ce chapitre présente des informations relatives à l'inventaire de la flore microbienne de la rhizosphère de certaines plantes cultivées de la région étudiée. Ces informations servent à mieux comprendre les interactions entre les plantes et les micro-organismes de la rhizosphère, ainsi qu'à évaluer le rôle de cette flore microbienne dans la santé des plantes et la fertilité des sols.

Une diversité fongique significative a été observée après l'analyse mycologique de nos échantillons de plantes cultivées sur un milieu de culture PDA.

Les deux dernières décennies de recherche sur la biodiversité du sol ont révélé que les communautés souterraines sont d'une diversité remarquable et qu'elles jouent un rôle majeur dans la formation de la biodiversité en surface, du fonctionnement des écosystèmes terrestres, ainsi que de leurs réponses écologiques et évolutives aux changements environnementaux (**Bardgett et al., 2014**).

#### I.1.- Inventaire de la flore fongique de la région d'étude

Au total, **367** colonies fongiques ont été recensées dans l'ensemble des échantillons prélevés dans trois zones de la région Laghouat (*Daya, Assafia, Kaf- Mokran*).

#### I.2.- Répartition du nombre de colonies par échantillon

Parmi ces colonies, 61 proviennent de l'échantillon "EF", 50 de l'échantillon "EE", 49 de l'échantillon "EJ", 40 de l'échantillon "EH", 40 de l'échantillon "EI", 32 de l'échantillon "EC", 25 de l'échantillon "EB", 25 de l'échantillon "EL", 22 de l'échantillon "EG" et 19 de l'échantillon "EM", 17 de l'échantillon "EA", 14 de l'échantillon "EK". Enfin, l'échantillon 13 colonies dans l'échantillon "EN" (**Figure.11**).

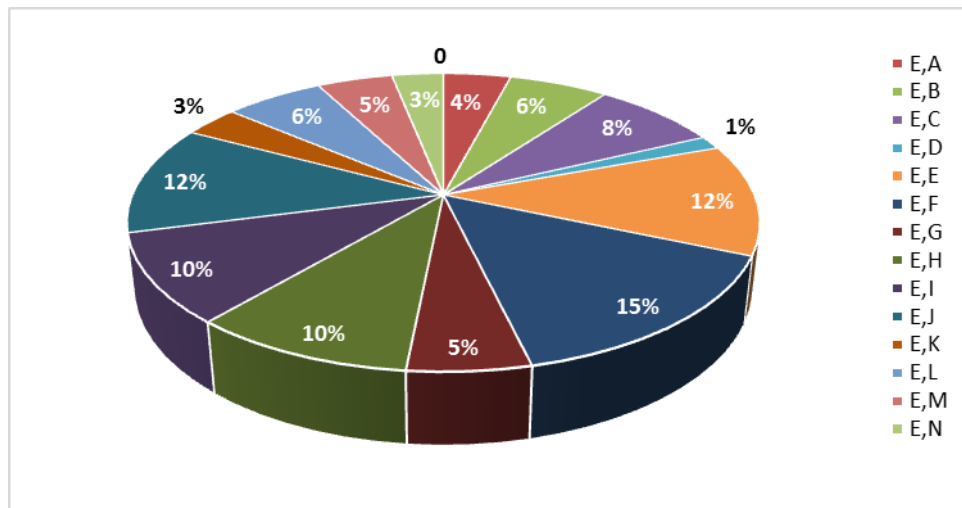


Figure 11 : Répartition du nombre de colonies par échantillon.

### I.3.- Dénombrement des genres fongiques par dilution

Comme le montre la **figure 12**, la répartition des genres fongiques recensés dans les différentes dilutions au cours de la période d'échantillonnage est la suivante :

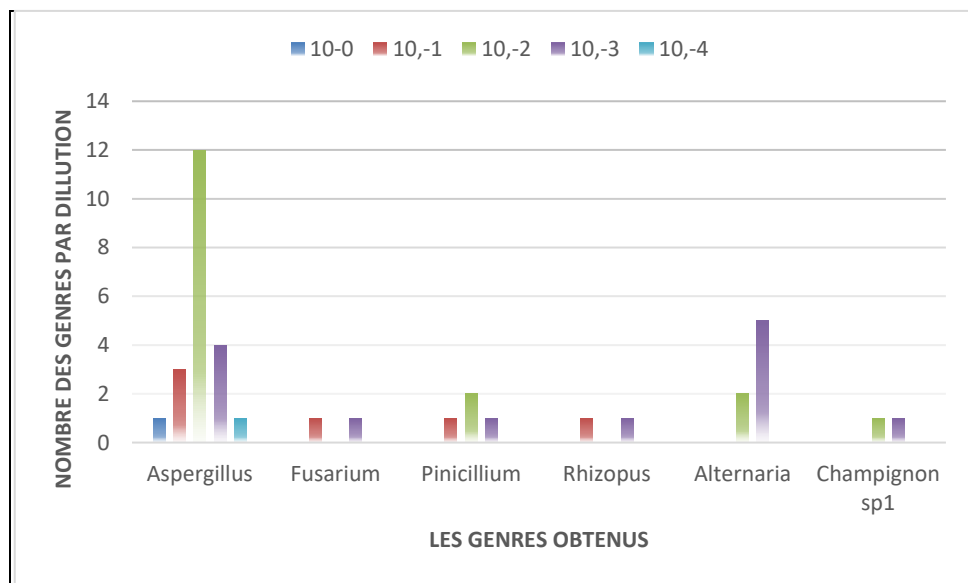
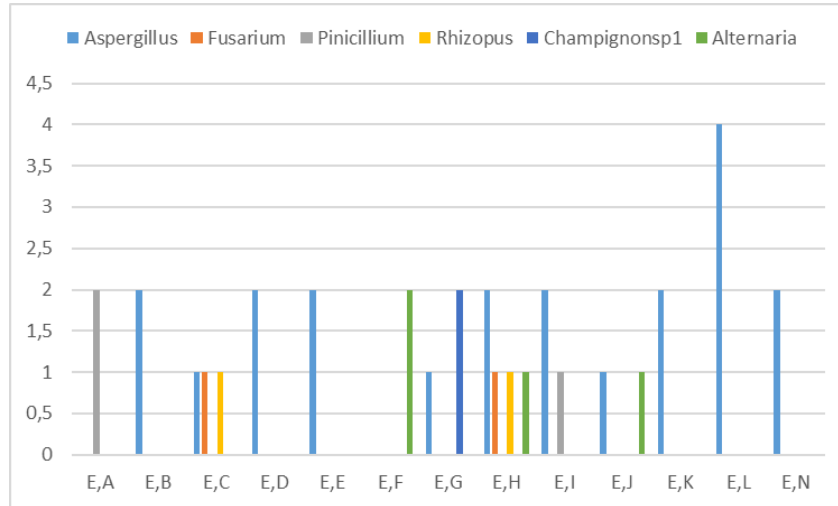


Figure 12 : Nombre des genres fongiques en fonction des dilutions.

- Dilution 10<sup>-1</sup> : trois colonies *Aspergillus* sont notées et suivies par une colonie pour chaque genre : *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizopus*.
- Dilution 10<sup>-2</sup> : douze colonies *Aspergillus* deux colonies de *Rhizopus* et deux colonies *Fusarium* et *Champignon sp1*.
- Dilution 10<sup>-3</sup> : *Aspergillus* avec quatre colonies, suivi par *Alternaria* cinq colonies et un colonie de *Champignon sp1*.
- Dilution 10<sup>-4</sup> : *Aspergillus* a été marquée que la seule colonie présente.

#### I.4.- Nombre de genres par échantillon

La différence de la diversité fongique entre les échantillons de sols étudiés est représentée sur la **figure 13** :



**Figure 13** : Nombre total de genres identifiés dans les échantillons du sol étudiés.

L'échantillon E.H a révélé le plus grand nombre de genres avec quatre genres fongiques: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* et *Alternaria*.

L'échantillon E.C contient trois genres de mycètes : *Fusarium*, *Aspergillus* et *Rhizopus*. Les échantillons E.G contiennent deux genres : *Aspergillus* et Champignon sp1.

L'échantillon E.I contient *Penicillium* et *Aspergillus*, tandis que l'échantillon E.J contient *Aspergillus* et *Alternaria*. Les échantillons E.A, E.B, E.E, E.K, et E.N contiennent tous le même genre, *Aspergillus*. Enfin, l'échantillon E.F contient *Alternaria*.

#### I.5.- Abondance totale des espèces fongiques par site d'étude

Les résultats obtenus ont permis d'identifier 5 genres fongiques et 10 espèces fongiques (**Fig. 14**).

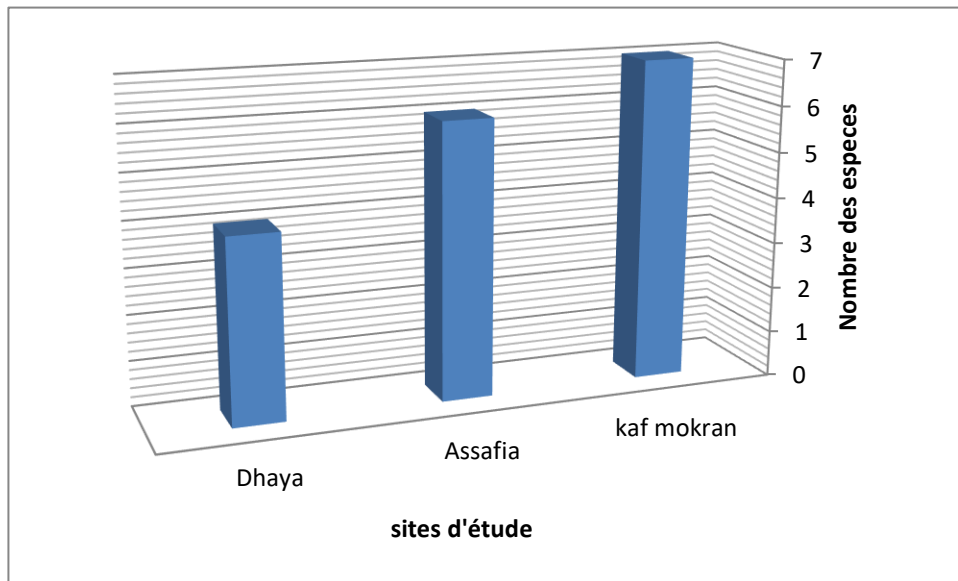


Figure 14 : Abondance relative des espèces fongiques par région d'échantillonnage.

La *Daya* classée en 1<sup>er</sup> position, avec 07 espèces. Suivi par *Assafiya* classé en 2<sup>ème</sup> position avec 06 espèces. Par contre *Kaf-Mokran* contient seulement 04 espèces.




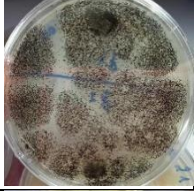
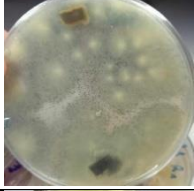




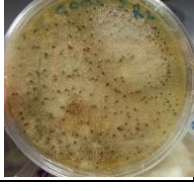

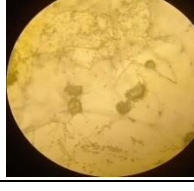
#### I.6.- Caractérisation des isolats isolées

L'isolement réalisé à partir des rhizosphères des plantes spontanées a permis d'obtenir 10 isolats fongiques appartenant à six genres différents. Parmi ceux-ci, on trouve quatre espèces d'*Aspergillus*, deux espèces de *Penicillium*, ainsi qu'une espèce de *Fusarium*, *Rhizopus*, *Alternaria* et *Champignon* chacune.

Les caractéristiques microscopiques des isolats représentatives sont répertoriées dans le tableau 2. Les caractéristiques macroscopiques de culture des isolats fongiques isolées ont également été décrites, et ces caractéristiques sont résumées dans le tableau 2.

Les observations ont été effectuées à des grossissements de 10 et 40. Nous avons suivi la classification adoptée par **Barnett et Hunter (1972)**.

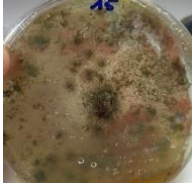


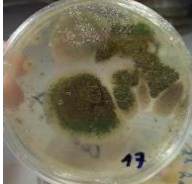




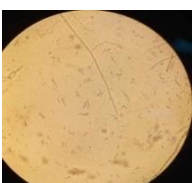
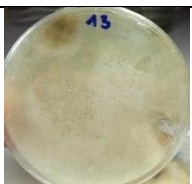
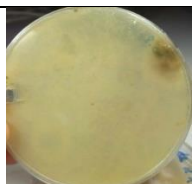
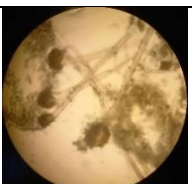
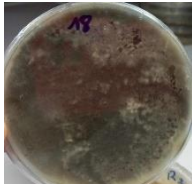
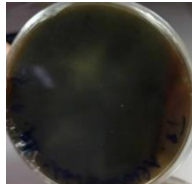
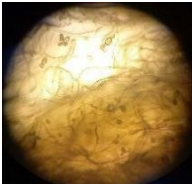
Tableau 2 : Caractérisation des isolats fongiques obtenus des échantillons de rhizosphère des plantes cultivées de Laghouat (1/2).

Genre	Espèce fongique	Aspect macroscopique (Recto)	Aspect macroscopique (Verso)	Caractéristiques macroscopiques	Aspects microscopiques au grossissement ×40	Caractéristiques microscopiques
<i>Aspergillus</i>	<i>Aspergillus sp2</i>			Colonies vert olive à gris-vert, poudreuse, croissance rapide, des bords irréguliers.		Les conidiophores courts et lisses, conidies rondes en chaîne.
	<i>Aspergillus niger</i> Van Tieghem, 1867			Croissance rapide, colonies planes avec un aspect velouté d'une couleur verte cresson à marron.		Mycélium non cloisonné, la tête porte de nombreux conidiophores, phialides formées sur la vésicule.
	<i>Aspergillus flavus</i> Link, 1809			Revers incolore, jaune, rouge.		Filaments mycéliens fins, septés, réguliers ;
	<i>Aspergillus sp9</i>					

Source : CHEKNANE A. (2024).

Remarque : La classification est faite selon **Barnett et Hunter (1972)**. Et une communication personnelle de **Dr. HATTAB S.** (enseignant- chercheur à UATL).

Tableau 2 : Caractérisation des isolats fongiques isolées des échantillons de rhizosphère des plantes cultivées de Laghouat (Suite 2/2).

Genre	Espèce fongique	Aspect macroscopique (Recto)	Aspect macroscopique (Verso)	Caractéristiques macroscopiques	Aspects microscopiques au gros. ×40	Caractéristiques microscopiques
<i>Penicillium</i>	<i>Penicillium</i> sp1			Colonies poudreuses et blanc puis bleu vert généralement vertes, revers incolore.		Filament mycéliens septés, porte des conidiospores. Des spores unicellulaires, globuleuses, cylindriques ou fusiformes, grisâtres ou verdâtres.
	<i>Penicillium</i> sp2			Croissance rapide, des colonies duveteuses à poudreux avec une couleur verte.		Structure en forme de pinceau avec des filaments mycéliens : fins, septés, à bords parallèles.
<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i> sp.			Croissance rapide avec une texture cotonneuse à laineuse ; blanchâtre puis rosées ; violettes ou jaune. Revers incolore à jaune puis rouge foncé.		La présence de macro conidies fusiformes et cloisonnés. Microconidies uni ou pluricellulaires piriformes fusiformes, cylindriques, ou ovoïdes isolés solitaires ou groupées, disposées ou verticale, ou plus rarement en chainettes.
<i>Rhizopus</i>	<i>Rhizopus</i> sp.			Colonie à croissance rapide et très grossière		Sporanges sombres contenant des spores de couleur pale à foncée
<i>Alternaria</i>	<i>Alternaria</i> sp.			Croissance rapide colonies avec une texture épaisse, aspes duveteux d'une couleur marron à noir.		Filaments septés, fin et régulier bruns foncés à noirs. Conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières ; souvent en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement.

<i>Champignon</i>	<i>Champignon sp</i>			/		/
-------------------	----------------------	---	--	---	--	---

Source : CHEKNANE A. (2024).

**Remarque :** La classification est faite selon **Barnett et Hunter (1972)**. Et une communication personnelle de **Dr. HATTAB S.** (enseignant- chercheur à UATL).

## Chapitre 2 : Caractérisation physiologique

### II.1.- Tolérance des isolats fongiques aux quelques facteurs abiotiques

Les caractéristiques physiologiques de la culture des isolats fongiques ont été étudiés. Ces échantillons ont été collectées au niveau de notre zone d'étude.

#### II.1.1.- Effet de la température sur le diamètre des colonies des isolats fongiques

Le test de stress thermique détermine la tolérance des isolats fongiques à différentes températures (22°C, 28°C, 37°C et 45°C) en évaluant le diamètre des colonies des champignons testés après 7 jours d'incubation (Fig.15).

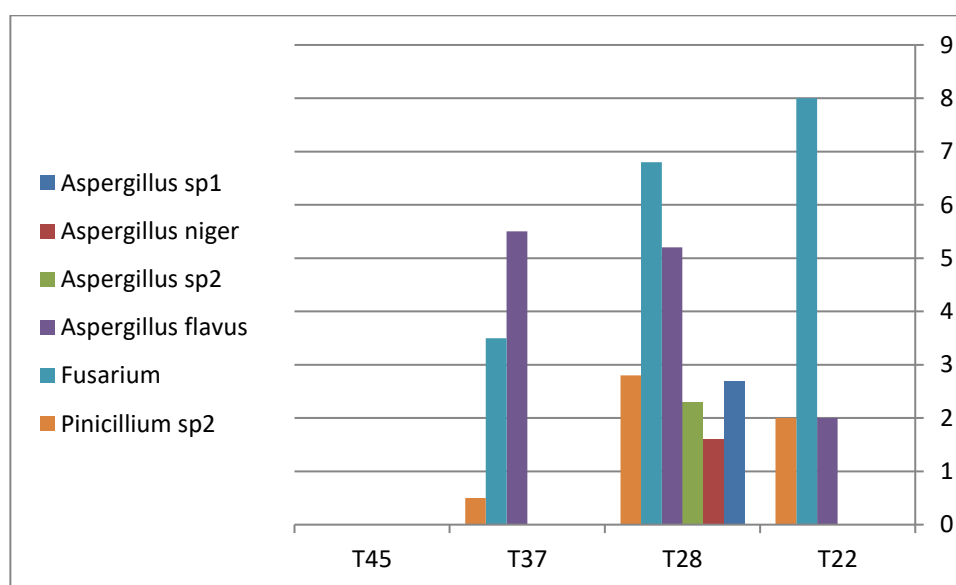


Figure 15 : Effet de la variation de la température sur le diamètre des colonies des isolats fongiques après 7 jours d'incubation.

À 22°C, après 7 jours d'incubation, une croissance nettement plus faible est observée par rapport aux témoins respectifs pour tous les isolats étudiés. Cette croissance varie entre 2 mm pour l'isolat K2 du genre *Aspergillus flavus* et 8 mm pour l'isolat H3 du genre *Fusarium*.

Après 7 jours d'incubation à 28°C, une croissance rapide est observée chez tous les isolats étudiés par rapport aux témoins respectifs. Cette croissance varie de 2,7 mm à 3 mm pour l'isolat I2 d'*Aspergillus sp1*, et de 1,6 mm à 1,6 mm pour l'isolat G1 d'*Aspergillus niger*. L'isolat N2 d'*Aspergillus sp2* montre un diamètre de croissance variant de 2,3 mm à 2,6 mm, tandis que l'isolat K1 d'*Aspergillus flavus* affiche une croissance de 5,2 mm à 4,3 mm. L'isolat H3 de *Fusarium* présente une croissance très rapide, variant de 6,8 mm à 7,9 mm. Enfin, l'isolat I3 de *Penicillium* présente des diamètres de croissance variant de 2,8 mm à

3,1 mm.

L'évaluation du diamètre des colonies des champignons endophytes testés à 37°C, après 7 jours d'incubation, révèle une croissance nettement plus faible par rapport aux témoins respectifs pour tous les isolats étudiés. La croissance varie de 3,5 mm à 4 mm pour l'isolat H3 de *Fusarium* sp1. En revanche, une croissance très rapide, avec un diamètre variant de 5,5 mm à 5,7 mm, est observée chez l'isolat K1 d'*Aspergillus flavus*. L'isolat I3 de *Penicillium* sp2 montre une croissance très faible, avec un diamètre variant de 0,5 mm à 0,8 mm.

L'évaluation de diamètre des colonies des champignons endophytes testés Pour la température 45°C et après 7jours d'incubation, aucune croissance est évaluée des isolats utilisés par rapport aux témoins respectifs enregistrés chez tous les isolats étudiés.

Pour argumenter les résultats de votre étude sur la croissance des champignons endophytes à différentes températures, vous pouvez vous appuyer sur plusieurs références scientifiques qui étudient la tolérance des champignons à des conditions de stress thermique. Une étude montre que *Aspergillus flavus* peut adapter ses attributs morphologiques et chimiques sous divers stress, y compris le stress thermique, ce qui peut influencer sa croissance à différentes températures (**Toppo et Mathur, 2022**).

Les recherches ont révélé que des isolats de *Fusarium* peuvent présenter des variations de croissance significatives en réponse à des conditions de stress thermique. Par exemple, certaines espèces de *Fusarium* montrent une croissance plus faible à des températures plus élevées, mais peuvent encore survivre et parfois prospérer dans des conditions optimales pour leur croissance (**Toppo et Mathur, 2022**).

**Toppo et Mathur (2022)** rapporte que *Penicillium* spp. a démontré des réponses variables au stress thermique dans diverses études. Par exemple, la croissance de *Penicillium* peut être fortement inhibée à des températures élevées telles que 37°C et au-dessus, tandis qu'à des températures plus modérées, une croissance plus rapide peut être observée.

Pour des températures extrêmes comme 45°C, une absence de croissance observée pour tous les isolats est cohérente avec les observations dans la littérature scientifique, où de nombreux champignons endophytes montrent une inhibition totale de la croissance à de telles températures élevées (**Goyal et Kalia, 2020**).

### **II.1.2.- Effet de pH sur le diamètre des colonies des isolats fongiques**

Ce test vise à montrer l'influence de la variation du pH : 4, 5, 6, 7, 8 et 9 du milieu de culture sur l'activité antifongique des champignons. Afin de surveiller les résultats de cette méthode, des évaluations ont été réalisées après 5 jours et après 9 jours d'incubation.

#### **II.1.2.1.- Après 5 jours**

Il est important de noter que *Fusarium* est prédominant à tous les pH avec une croissance rapide, le diamètre des colonies variant de 1,9 mm à 4,4 mm. En ce qui concerne *Aspergillus* sp9, il se développe sur toutes les valeurs de pH, mais avec une croissance faible, le diamètre variant de 1 mm à 2 mm.

Les pH optimaux favorables pour la croissance d'*Aspergillus flavus* sont 5, 8 et 9, avec des diamètres variant de 4,1 mm à 4,3 mm et 3,8 mm respectivement. Les pH optimaux pour la croissance de *Penicillium sp2* sont 8 et 9, avec des diamètres variant de 3,5 mm à 5,6 mm (Fig. 15).

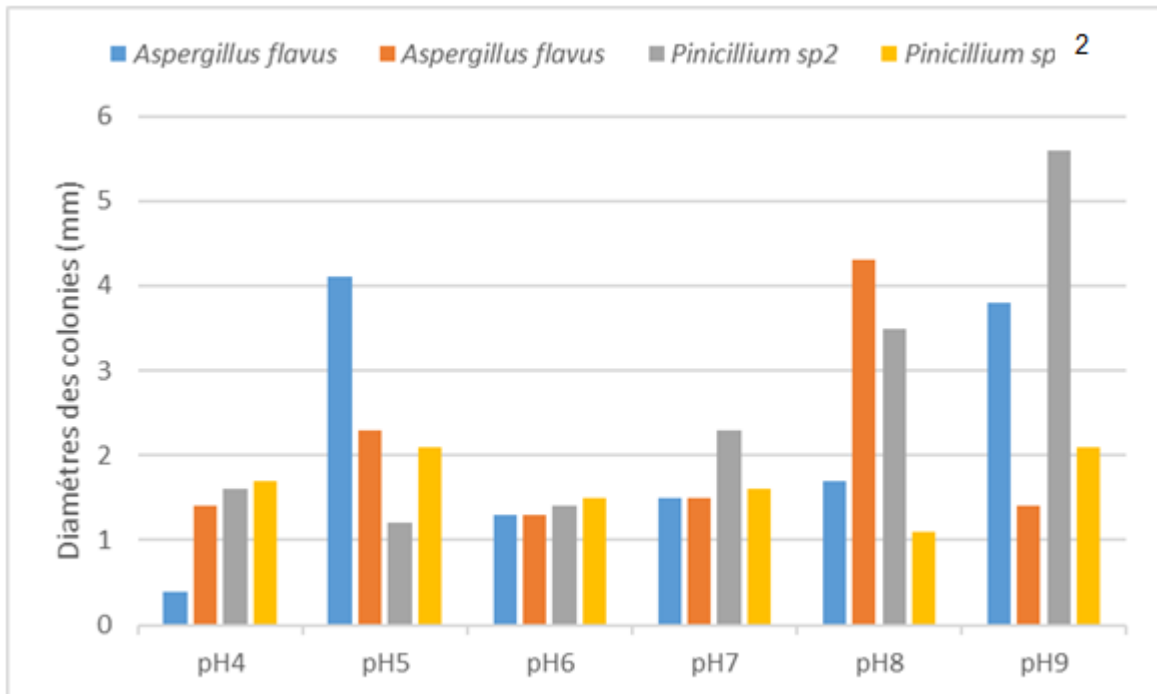
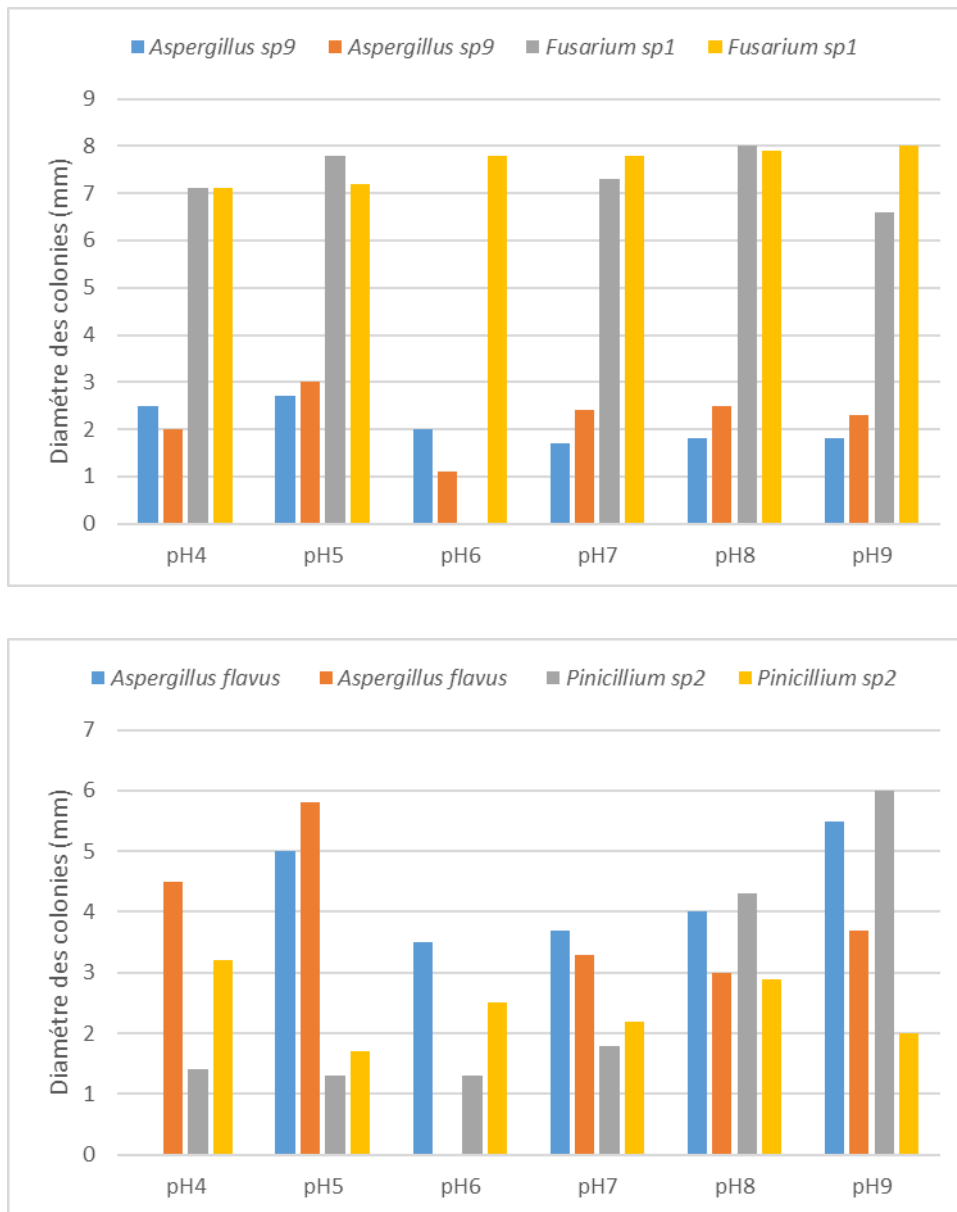


Figure 15 : Effet de la variation du pH sur le diamètre des colonies (mm) des isolats fongiques après 5 jours d'incubation.

## II.1.2.2.- Après 9 jours

La **figure 16** représente les résultats après 9 jours d'incubation.



**Figure 16 : Effet de la variation du pH sur le diamètre des colonies des isolats fongiques après 9 jours d'incubation.**

Il est important de noter que *Fusarium* est prédominant à tous les pH avec une croissance très rapide, le diamètre des colonies variant de 6,6 mm à 8 mm. En ce qui concerne *Aspergillus sp9*, il se développe sur tous les pH, mais avec une croissance moyenne, le diamètre variant de 0,1 mm à 3,2 mm.

Il convient de souligner que *Aspergillus flavus* est dominant à tous les pH, mais avec une croissance moyenne et un diamètre des colonies allant de 0,1 mm à 5,8 mm. Quant à *Penicillium* sp1, il se développe sur tous les pH, mais avec une croissance faible et un diamètre variant de 0,1 mm à 6 mm.

Une étude a révélé que *Fusarium oxysporum* montre une croissance optimale à un pH de 5, bien qu'il puisse se développer sur une gamme de pH allant de 3 à 9, avec une croissance très rapide observée entre 6,6 mm et 8 mm de diamètre des colonies. En ce qui concerne *Aspergillus flavus* et *Aspergillus* sp9, il est connu que ces espèces peuvent se développer sur une large gamme de pH, bien que leur croissance varie en fonction de l'espèce et des conditions spécifiques. *Penicillium* sp1, quant à lui, peut également croître sur une large gamme de pH, mais avec des variations de croissance selon les conditions environnementales (Barkai-Golan, 2001 ; Dijksterhuis & Samson, 2006 ; Tabuc, 2007 ; Pitt & Hocking, 2009 ; Schmidt-Heydt et al., 2010).

## II.2.- Evaluation de l'activité antagoniste des isolats fongiques

### II.2.1.- Confrontation directe

#### II.2.1.1.- Méthode des disques

Après une incubation de 7 jours avec observation quotidienne, les résultats indiquent que la croissance mycélienne des isolats témoins est plus importante que celle observée lors des différentes confrontations (pathogène-antagoniste) (Tab.3).

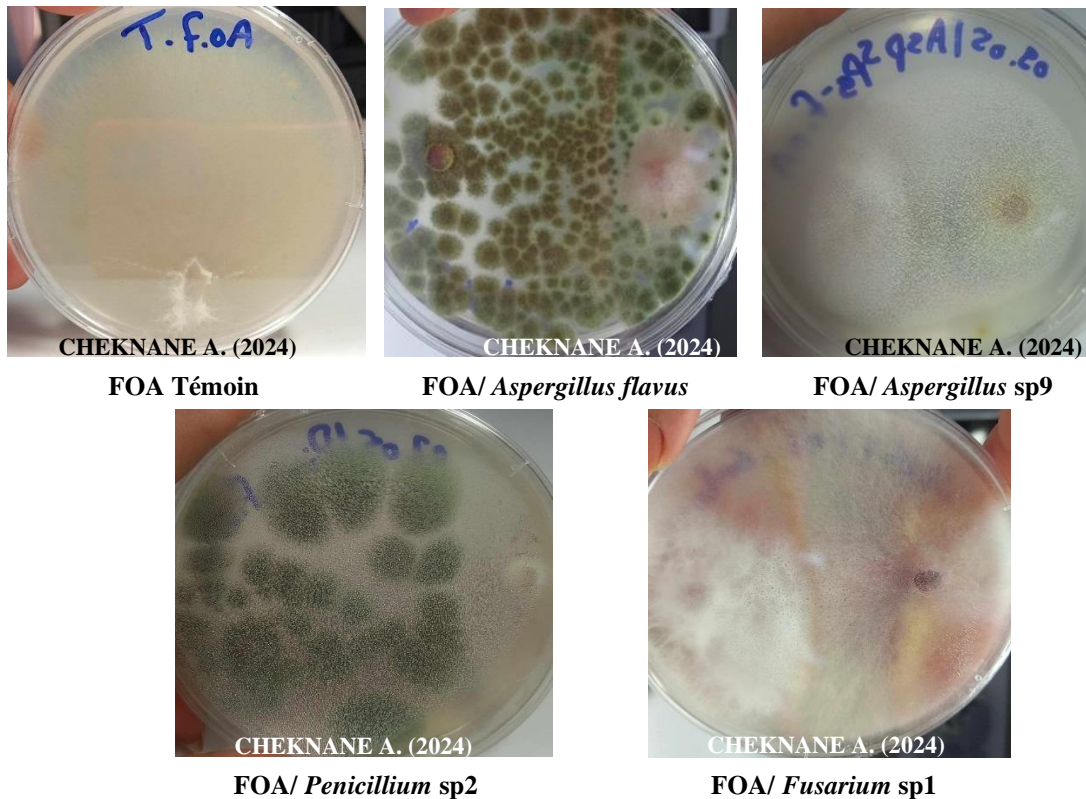
**Tableau 3 : Taux d'inhibition (en pourcentage) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés par méthode des disques.**

Pathogènes Isolats	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. Albedinis (FOA)	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	73,84%	30%	40,85%
<i>Aspergillus</i> sp9	58,46%	38,57%	85,71%
<i>Pinicillium</i> sp2	69,23%	14,28%	42,85%
<i>Fusarium</i> sp1	50,76%	42,85%	39,68%

Source: CHEKNANE (2024).

Le taux d'inhibition maximal a été enregistré en présence d'*Aspergillus flavus*, avec des valeurs de 73.84% vis-à-vis de FOA (Fig. 17), 30% vis-à-vis de *F. culmorum* (Fig. 18) et 40.85% vis-à-vis de *F. graminearum* (Fig. 19). En présence de *Fusarium* sp., les taux d'inhibition sont respectivement de 50.76% vis-à-vis de FOA (Fig. 17), 42.85% vis-à-vis de

*F. culmorum* (Fig. 18) et 39.68% vis-à-vis de *F. graminearum* (Fig. 19). *Aspergillus* sp9 a montré des taux d'inhibition de 58.46% vis-à-vis de FOA (Fig. 17), 38.57% vis-à-vis de *F. culmorum* (Fig. 18) et 85.71% vis-à-vis de *F. graminearum* (Fig. 19). En revanche, *Penicillium* sp2 a affiché un faible taux d'inhibition, avec des valeurs de 69.23% vis-à-vis de FOA (Fig. 17), 14.28% vis-à-vis de *F. culmorum* (Fig. 18) et 42.85% vis-à-vis de *F. graminearum* (Fig. 19).



**Figure 17 :** Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. Albedinis (FOA), par confrontation directe (méthode des disques), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.

Les études sur les tests d'antagonisme entre différentes souches de champignons, notamment *Aspergillus flavus*, *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp9, et *Penicillium* sp2, mettent en évidence l'efficacité de certains champignons pour inhiber la croissance d'autres espèces. Ces tests sont généralement menés en laboratoire, où les souches sont mises en confrontation directe pour évaluer leur impact sur la croissance mycélienne. Ces études soulignent l'importance de comprendre les interactions entre les champignons dans le sol, notamment dans le contexte de la lutte biologique contre les pathogènes des plantes. Elles suggèrent également que certaines souches pourraient être utilisées comme agents de biocontrôle pour limiter les infections fongiques et améliorer la santé des plantes (Giorni et al., 2009 ; Gomes et al., 2016 ; Sarma et al., 2016 ; Ben Khedher et al., 2018).

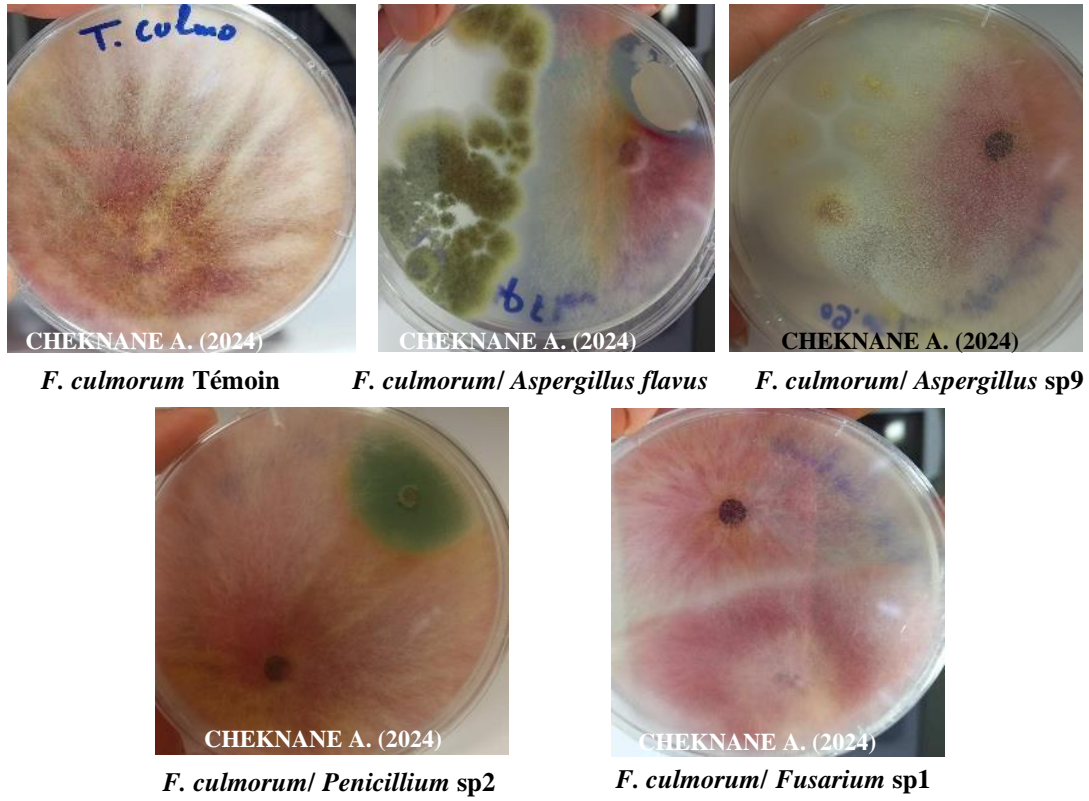


Figure 18 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*, par confrontation directe (méthode des disques), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.

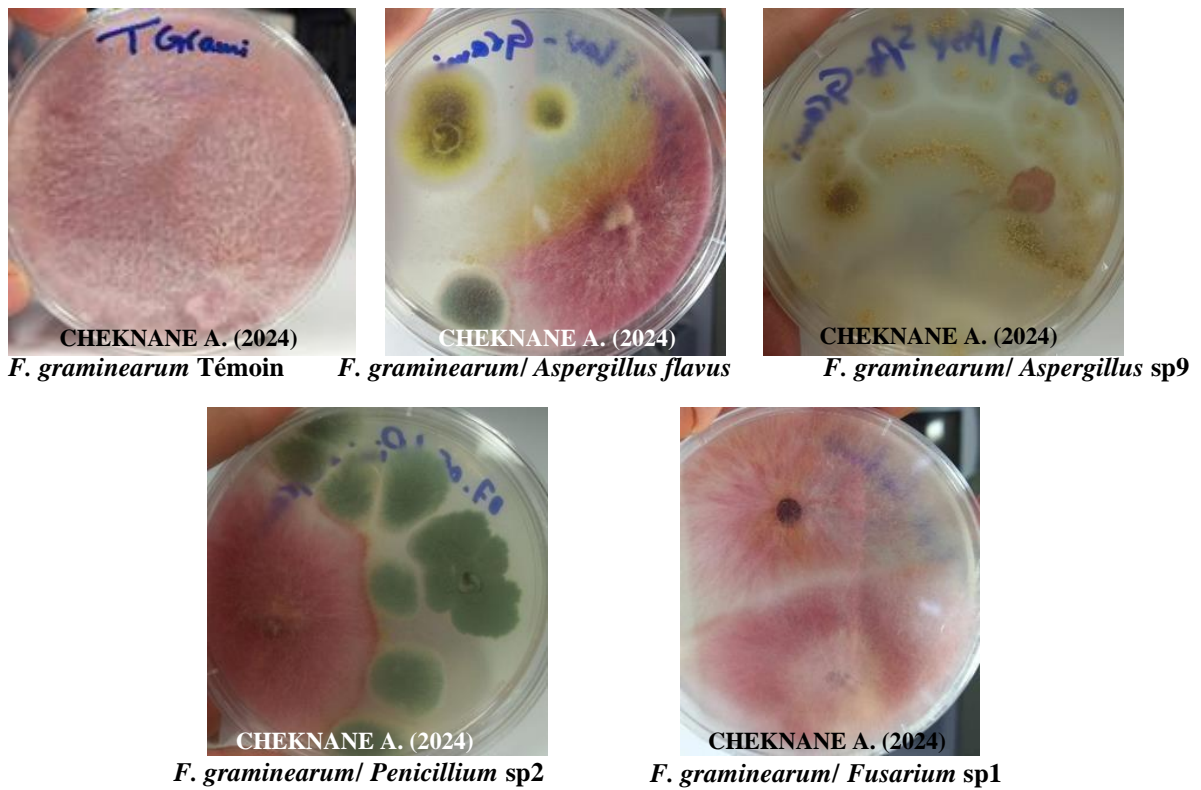


Figure 19 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*, par confrontation directe (méthode des disques), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.

### II.2.1.2.- Méthode des stries et du disque

Les résultats obtenus après 7 jours d'incubation et une observation quotidienne indiquent que la croissance mycélienne des isolats témoins est supérieure à celle observée lors des différentes confrontations (pathogène-antagoniste) (**Tab.4**).

**Tableau 4 : Taux d'inhibition (en pourcentage) de la croissance mycélienne des agents pathogènes étudiés par méthode des stries et du disque.**

Pathogènes Isolats	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Albedinis</i> (FOA)	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Fusarium graminearum</i>
<i>Aspergillus flavus</i>	95,38%	61,42%	41,26%
<i>Aspergillus</i> sp9	84,61%	42,85%	31,74%
<i>Penicillium</i> sp2	38,46%	61,42%	17,46%
<i>Fusarium</i> sp1	83,07%	60%	34,92%

Source: CHEKNANE (2024).

Le taux d'inhibition maximal a été enregistré en présence d'*Aspergillus flavus*, avec des valeurs de 95.38% vis-à-vis de FOA (**Fig. 20**), 61.42% vis-à-vis de *F. culmorum* (**Fig.21**) et 41.26% vis-à-vis de *F. graminearum* (**Fig. 22**). En présence d'*Aspergillus* sp9, le taux d'inhibition est de 84.61% vis-à-vis de FOA (**Fig. 20**), 42.85% vis-à-vis de *F. culmorum* (**Fig. 21**) et 31.74% vis-à-vis de *F. graminearum* (**Fig. 22**). *Penicillium* sp2 a montré un taux d'inhibition de 38.46% vis-à-vis de FOA (**Fig. 20**), 61.42% vis-à-vis de *F. culmorum* (**Fig. 21**) et 17.46% vis-à-vis de *F. graminearum* (**Fig. 22**). Enfin, *Fusarium* sp1 a marqué des taux d'inhibition de 83.07% vis-à-vis de FOA (**Fig. 20**), 60% vis-à-vis de *F. culmorum* (**Fig. 21**) et 34.92% vis-à-vis de *F. graminearum* (**Fig. 22**).

**Ben Khedher et al., (2018)** étudient l'activité antifongique d'*Aspergillus flavus* contre *Fusarium oxysporum*, ce qui pourrait soutenir nos observations d'inhibition élevée. Une autre étude examine l'effet antagoniste d'*Aspergillus flavus* sur *Fusarium culmorum*, ce qui pourrait être pertinent pour nos résultats d'inhibition (**Giorni et al., 2009**).

Cette recherche explore l'activité antagoniste des espèces d'*Aspergillus* (**Sarma et al., 2016**). Cet article examine l'activité antifongique des espèces de *Penicillium* contre les espèces de *Fusarium*, ce qui pourrait être pertinent pour comprendre vos résultats avec *Penicillium* sp2 (**Liu et al., 2015**)

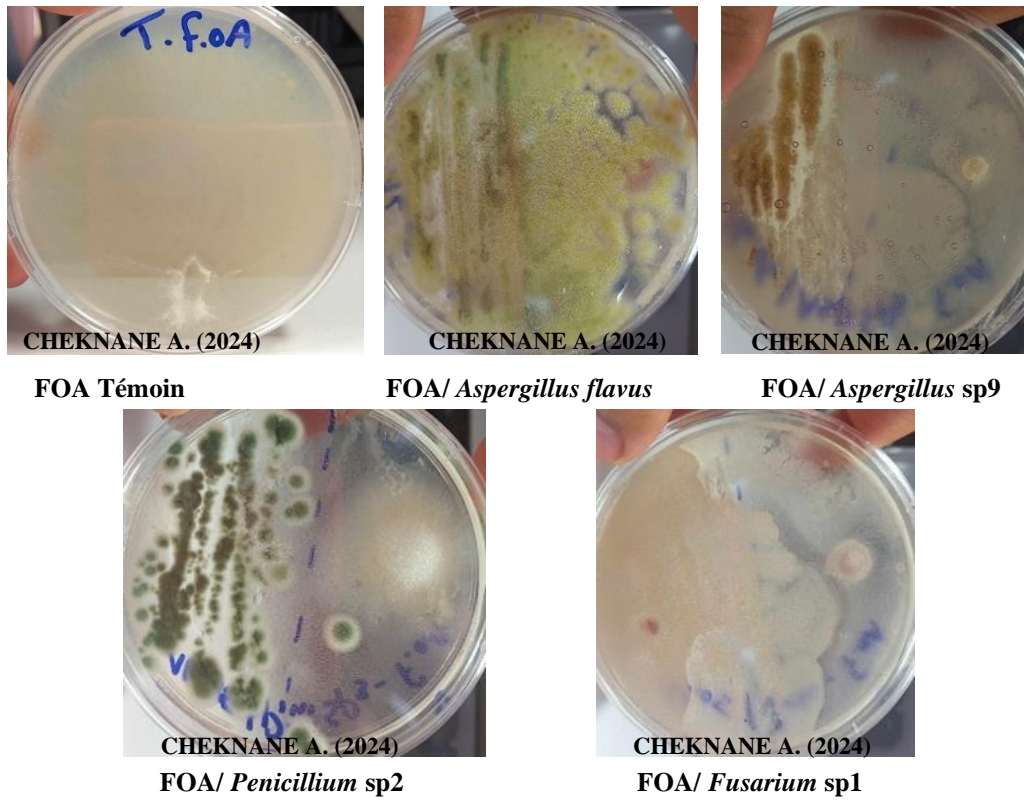


Figure 20 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. Albedinis (FOA), par confrontation directe (méthode des stries et du disque), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.

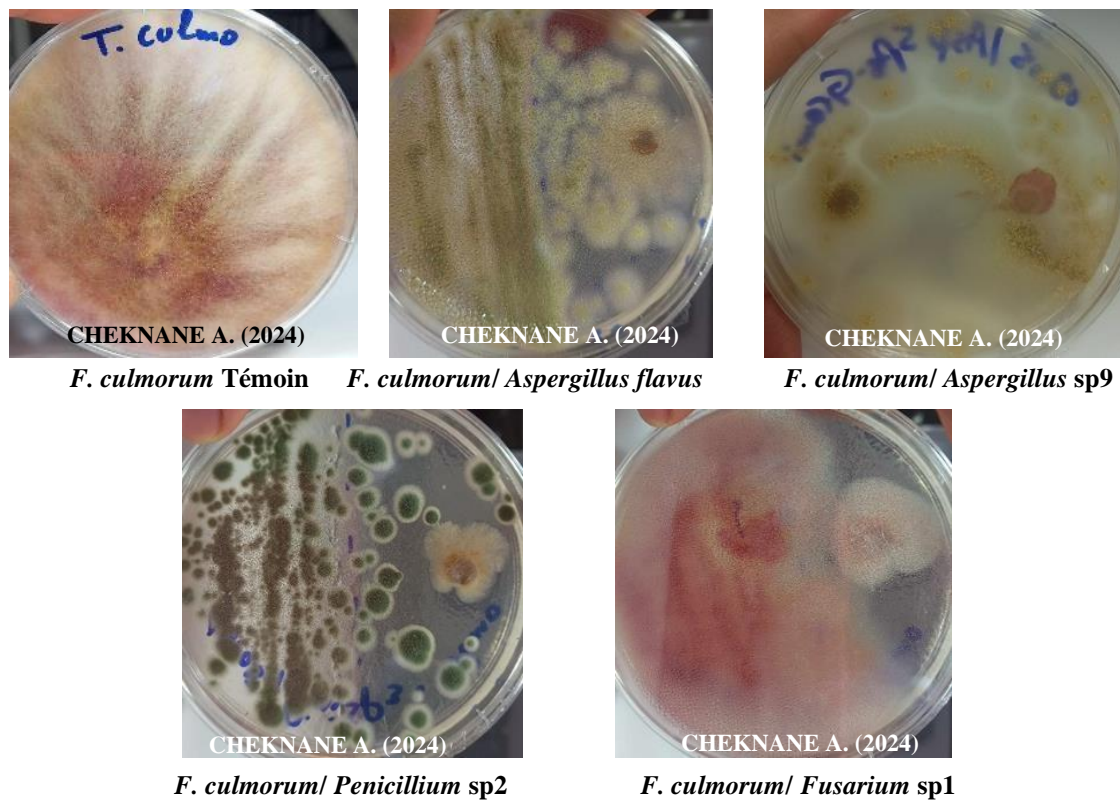


Figure 21 : Effet d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum*, par confrontation directe (méthode des stries et du disque), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d'incubation.

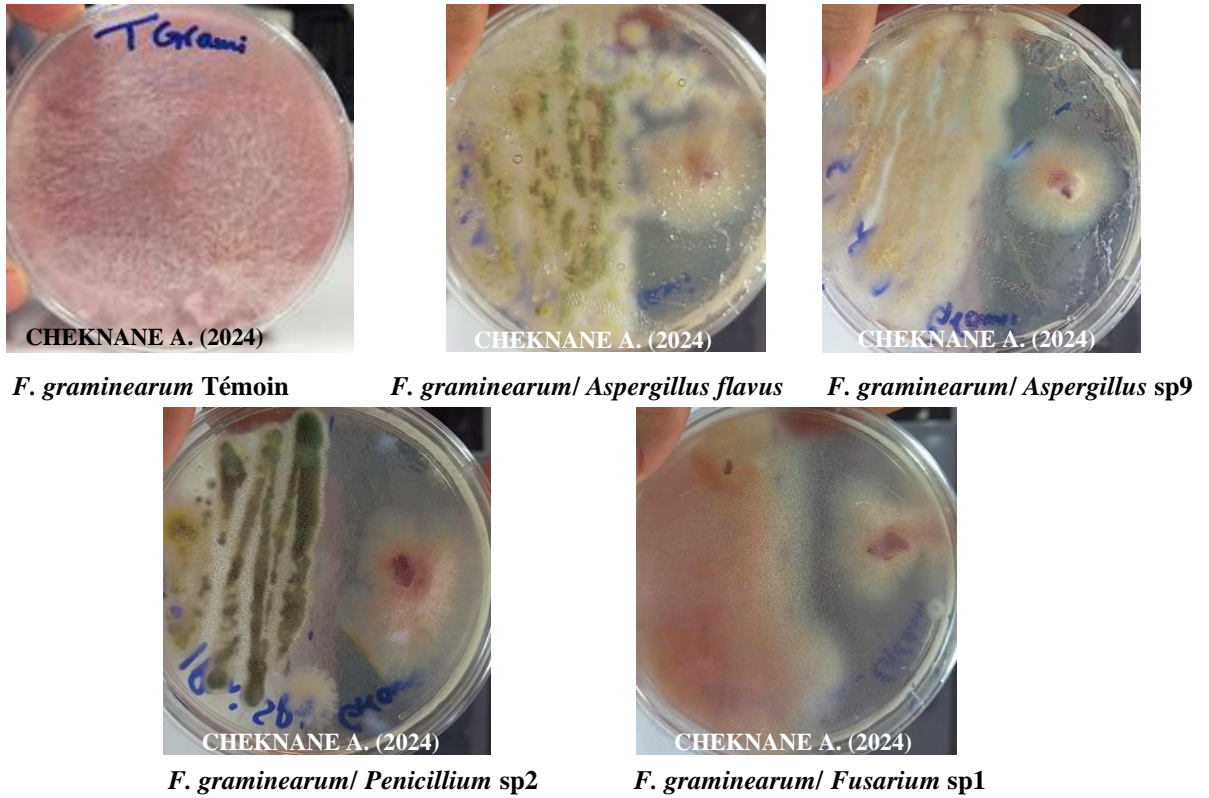


Figure 22 : Effet d’inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*, par confrontation directe (méthode des stries et du disque), en présence des champignons rhizosphériques après 7 jours d’incubation.

**II.2.2.- Confrontation indirecte**

Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur à distance de *Penicillium* sp2 sur l'agent pathogène testé, *Fusarium oxysporum* f.sp. albidinis (Fig.23). Avec un taux d'inhibition a été enregistré 86.15% (Fig. 20),

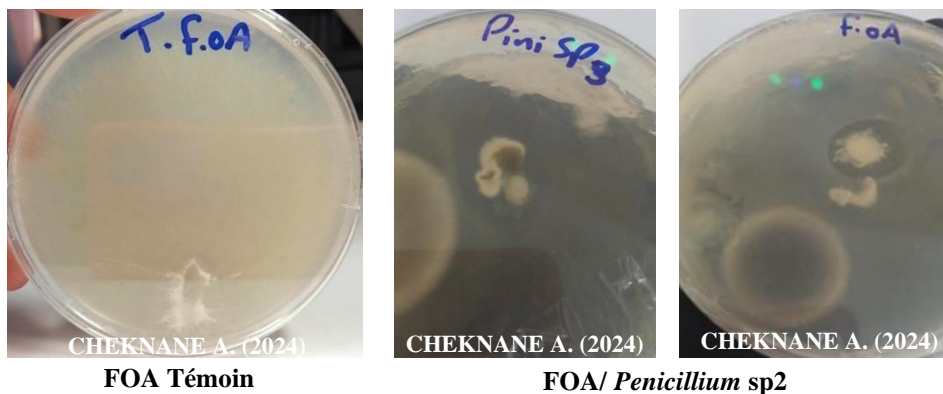


Figure 31 : Effet d’inhibition de la croissance mycélienne de FOA, par confrontation indirecte, en présence de *Penicillium* sp2 après 7 jours d’incubation.

Les résultats de ce test montrent un ralentissement de la croissance mycélienne de la souche pathogène sous l'influence de l'antagoniste, comparativement au témoin. Contrairement au test de confrontation directe, où la croissance mycélienne continue d'évoluer avec le temps, il est apparu que même en l'absence de contact direct entre l'agent pathogène et l'antagoniste testé, ce dernier a pu exercer un effet inhibiteur sur le développement des colonies des isolats fongiques pathogènes. Cet effet a été évalué en mesurant les diamètres des colonies des pathogènes cultivés en présence et en absence de l'antagoniste.

Les résultats indiquent que l'inhibition observée peut s'expliquer par la capacité de *Penicillium* sp2 à produire des substances volatiles qui limitent voire stoppent le développement de l'agent pathogène. Cette action inhibitrice est attribuée à des substances de nature chimique libérées par les souches de *Penicillium*, la capacité de production de telles substances variant selon les isolats d'une même espèce ou entre espèces différentes.

Après 7 jours d'incubation et des observations quotidiennes, les souches sélectionnées selon les résultats des techniques de confrontation directe ont montré que l'effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des souches pathogènes avec les antagonistes *Penicillium* sp2 et *Aspergillus* sp9 était plus marqué qu'avec d'autres antagonistes. Le taux d'inhibition maximal a été enregistré en présence de *Penicillium* sp2, atteignant 86.15% vis-à-vis de FOA (**Fig.23**).

---

# *Discussion générale*

---

## Discussion générale

Le présent travail a consisté en l'évaluation de la diversité et l'identification des microorganismes présents dans la rhizosphère de certaines plantes cultivées dans différentes régions de Laghouat.

Cet aspect de la recherche est bien couvert dans l'article de **Berg et al. (2009)**, qui explore les interactions plantes-microbes dans la rhizosphère et leur rôle dans la promotion de la croissance et la santé des plantes.

**Mengjiao Wang et al. (2024)** ont également étudié la diversité microbienne dans la rhizosphère des plantes, en se concentrant sur le colza et en utilisant des techniques de séquençage haut débit pour analyser les communautés microbiennes.

Les résultats de la caractérisation morphologique macroscopique et microscopique de nos souches (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus* et *Penicillium*), étudiées sur milieu PDA, le plus couramment utilisé à cet effet, ont révélé cinq morphotypes différents : cotonneux, granuleux, duveteux, floconneux et poudreux.

La caractérisation morphologique des souches fongiques est détaillée dans plusieurs études, notamment celles portant sur l'analyse des morphotypes fongiques sur des milieux de culture standard comme le PDA, soulignant les différences de croissance et de morphologie parmi diverses espèces fongiques (**Berendsen et al., 2012**).

Les résultats montrent une différence de la diversité fongique entre les échantillons de sols étudiés. L'échantillon E.F a révélé le plus grand nombre de genres en comparaison avec les autres échantillons. Au total, cinq genres fongiques et neuf espèces ont été identifiés. *Daya* s'est classée en première position avec sept espèces, suivi de *Assafiya* en deuxième position avec six espèces, tandis que *Kaf-Mokran* ne contenait que quatre espèces.

Les études de **Berg et Smalla (2009)** et de **Wang et al., (2024)** abordent les différences de diversité microbienne entre les échantillons de sols, en soulignant l'impact des espèces de plantes et des types de sols sur la composition microbienne de la rhizosphère.

L'effet de la température sur la croissance mycélienne des différentes souches a été observé sur milieu PDA. Une inhibition totale de la croissance mycélienne a été observée à 45 °C, tandis que la croissance était ralentie à 37 °C pour toutes les souches. En revanche, la croissance était maximale (optimale) à 22 °C et 28 °C pour toutes les souches.

Des recherches sur l'effet de la température sur la croissance fongique ont montré des résultats similaires, confirmant que des températures élevées peuvent inhiber la croissance mycélienne, tandis que des températures modérées favorisent une croissance optimale (**Wang et al., 2024**).

Les résultats montrent que *Fusarium* est prédominant et affiche une croissance très rapide sur tous les pH testés, ce qui en fait un pathogène préoccupant. *Aspergillus* sp9, bien qu'il se développe sur tous les pH, présente une croissance moyenne. De même, *Aspergillus flavus* est dominant sur tous les pH avec une croissance moyenne, tandis que *Penicillium* sp1 montre une croissance faible.

Les études de **Berg et al. (2002)** et **Borrero et al. (2006)** traitent de la diversité et de la dominance de certaines espèces fongiques dans différents environnements de sol, ainsi que de leur réponse aux variations de pH.

Les tests d'antagonisme par confrontation directe utilisant les souches *Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Penicillium* sp2 et *Fusarium* sp1 montrent un effet inhibiteur sur les isolats fongiques. Les colonies des différents isolats pathogènes occupaient une très petite surface comparativement au témoin, ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène.

La recherche sur les interactions antagonistes entre les champignons, telle que celle de **Boehm et Hoitink (1992)** et **Bloemberg et Lugtenberg (2001)**, met en évidence les mécanismes par lesquels certains microorganismes inhibent la croissance des pathogènes fongiques.

Les tests d'antagonismes in vitro menés contre trois souches pathogènes ont donné des résultats positifs avec les deux méthodes testées (confrontation directe et indirecte) en utilisant *Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Penicillium* sp2 et *Fusarium* sp1 comme souches antagonistes. Ces souches ont totalement inhibé la croissance des champignons pathogènes. Les travaux de **Berg et al. (2009)** et **Wang et al. (2024)** sur l'utilisation de bactéries et champignons antagonistes pour la biocontrôle des pathogènes soulignent l'efficacité des approches de confrontation directe et indirecte pour inhiber la croissance des champignons pathogènes

---

# *Conclusion générale*

---

## Conclusion générale

Ce mémoire de fin d'études a porté sur l'évaluation de la diversité et l'identification des micro-organismes présents dans la rhizosphère de certaines plantes cultivées dans différentes régions de Laghouat. L'étude a permis d'identifier cinq genres fongiques (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhizopus* et *Penicillium*) et neuf espèces, révélant une diversité notable parmi les échantillons de sol analysés.

La caractérisation morphologique macroscopique et microscopique a mis en évidence cinq morphotypes distincts : cotonneux, granuleux, duveteux, floconneux et poudreux. Les résultats montrent que l'échantillon de sol de *Daya* présente la plus grande diversité fongique, suivi par *Assafiya* et *Kaf Mokran*. Ces observations suggèrent que la diversité fongique varie en fonction de la région, avec *Daya* en tête en termes de diversité des espèces.

Les analyses morphologiques ont montré que les micro-organismes isolés présentent des morphotypes variés, incluant des aspects cotonneux, granuleux, duveteux, floconneux et poudreux. La diversité la plus élevée a été observée dans les échantillons de sol de *Daya*, suivie par ceux d'*Assafiya* et de *Kaf Mokran*, ce qui indique une variabilité régionale significative.

L'étude de l'effet de la température sur la croissance mycélienne a révélé que toutes les souches étudiées ont une croissance optimale à 22 °C et 28 °C, une croissance ralentie à 37 °C, et une inhibition totale à 45 °C. Ces résultats indiquent une capacité d'adaptation des micro-organismes à différentes conditions thermiques, ce qui est crucial pour leur utilisation potentielle dans des programmes de biocontrôle.

Concernant la tolérance au pH, *Fusarium* s'est révélé être le genre prédominant avec une croissance rapide sur tous les pH testés, le classant comme un pathogène préoccupant. *Aspergillus* sp9 et *Aspergillus flavus* montrent une croissance moyenne sur tous les pH, tandis que *Penicillium* sp1 présente une croissance faible.

Les tests d'antagonisme effectués par confrontation directe et indirecte ont montré que les souches antagonistes telles qu'*Aspergillus flavus*, *Aspergillus* sp9, *Penicillium* sp2 et *Fusarium* sp1 possèdent un fort potentiel inhibiteur contre les pathogènes fongiques.

Ces résultats sont prometteurs pour le développement de stratégies de biocontrôle en agriculture, offrant une alternative écologique et durable aux pesticides chimiques.

En conclusion, cette étude a non seulement mis en évidence la diversité des micro-organismes dans la région de Laghouat, mais a également démontré leur potentiel en tant qu'agents de biocontrôle. Des recherches futures, incluant des études sur le terrain et l'exploration des mécanismes moléculaires sous-jacents, seront nécessaires pour optimiser l'application pratique de ces micro-organismes dans la gestion des maladies des plantes.

---

*Références  
bibliographiques*

---

## Références bibliographiques

1. **Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1996).** Introductory Mycology (4th ed.). Wiley.
2. **Bais, H. P., Weir, T. L., Perry, L. G., Gilroy, S., & Vivanco, J. M. (2006).** The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>
3. **Barkai-Golan, R. (2001).** Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Development and Control. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-50597-3.50001-0>
4. **Barriuso, E., Houot, S., & Serra-Wittling, C. (1996).** Influence of compost addition to soil on the behavior of herbicides. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 58(1), 59-68. [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(96\)01028-2](https://doi.org/10.1016/0167-8809(96)01028-2)
5. **Ben Khedher, M., Mokni-Tlili, A., Daoud, S., Kriaa, S., Gargouri-Bouزيد, N., & Zouari-Mechichi, M. (2018).** Antifungal activity of *Aspergillus flavus* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, the causal agent of Bayoud disease of date palm. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 9(2), 428.
6. **Benbrouk, H., Slimani, M., & Meknaci, R. (2008).** Biological control and the problem of residues. *African Journal of Agricultural Research*, 3(12), 829-832.
7. **Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004).** Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249-260.
8. **Berendsen, R. L., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. A. H. M. (2012).** The rhizosphere microbiome: functions, dynamics, and role in plant protection. *Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
9. **Berg, G., & Smalla, K. (2009).** Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiology Ecology*, 68(1), 1-13. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x>
10. **Bocquet, G. (1993).** Introduction à la mycologie. Presses Universitaires de France.
11. **Bousseboua, H. (2005).** Mycorrhizal symbiosis in arid zones. *Agricultural Journal*, 1(2), 44-52.

12. **Buée, M., De Boer, W., Martin, F., van Overbeek, L., & Jurkevitch, E. (2009).** The rhizosphere zoo: an overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some of their structuring factors. *Plant and Soil*, 321(1-2), 189-212. <https://doi.org/10.1007/s11104-009-9991-3>
13. **Calvet, R., Bourgeois, S., Toutain, F., & Lucas, P. (2005).** Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. INRA.
14. **Castegnaro, M., & Pfohl-Leskowicz, A. (2002).** Mycotoxins in food and feed: Regulation, occurrence and health risk. *Fresenius Environmental Bulletin*, 11(7), 284-290.
15. **Chet, I. (1987).** Trichoderma-application, mode of action, and potential as a biocontrol agent of soilborne plant pathogenic fungi. In I. Chet (Ed.), *Innovative approaches to plant disease control* (pp. 137-160). Wiley. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4682-3\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4682-3_9)
16. **Columa, M. (1977).** Pesticides and their effects on soil microflora. *Microbial Ecology*, 3, 163-181. <https://doi.org/10.1007/BF02010499>
17. **Cook, R. J. (2014).** Biological control of plant pathogens: An evolutionary and ecological perspective. APS Press.
18. **Davet, P. (2003).** *Microbial Ecology of Soil and Plant Growth*. Science Publishers.
19. **Dijksterhuis, J. (2007).** Heat-resistant ascospores. In *Food Mycology: A Multifaceted Approach to Fungi and Food* (pp. 101-118). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420020984>
20. **Dijksterhuis, J., & Samson, R. A. (2006).** Fungal Spores: Their Involvement in Pathogenicity. *Mycopathologia*, 161(3), 213-223. <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0017-7>
21. **Dommergues, Y. R., & Mangenot, F. (1970).** *Écologie microbienne du sol*. Masson et Cie.
22. **Duchaufour, P. (2001).** *Introduction à la science du sol : Sol, végétation, environnement*. Dunod.
23. **Emmert, E. A. B., & Handelsman, J. (2003).** Biocontrol of plant disease: A (gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 223(1), 1-7. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00331-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00331-7)
24. **FAO. (2001).** *Manual on Integrated Soil Management and Conservation Practices*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

25. **Giorni, A., Grazioli, L., Bertuzzi, G., & Battilani, A. (2009).** In vitro evaluation of the antagonistic effect of *Aspergillus flavus* isolates against *Fusarium culmorum*. *European Journal of Plant Pathology*, 124(3), 485-495.
26. **Gobat, J. M., Aragno, M., & Matthey, W. (2003).** Le sol vivant : Bases de pédologie, biologie des sols. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.
27. **Gomes, J., Júnior, A. C. G., Almeida, P. D. P., Andrade, A. C. S., Melo, A. M. S., Lima, J. A. O., ... & Lima, R. M. (2016).** Antifungal activity of *Penicillium* sp. co-cultivated with *Monascus ruber*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 180-187.
28. **Goyal, A., Kalia, A. (2020).** Fungal Phytohormones: Plant Growth-Regulating Substances and Their Applications in Crop Productivity. In: Yadav, A., Mishra, S., Kour, D., Yadav, N., Kumar, A. (eds) *Agriculturally Important Fungi for Sustainable Agriculture. Fungal Biology.* Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-45971-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-45971-0_7)
29. **Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004).** *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
30. **Hussain, S., Siddique, T., Saleem, M., Arshad, M., & Khalid, A. (2001).** Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. *Advances in Agronomy*, 102, 159-200. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(09\)01005-0](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(09)01005-0)
31. **Kilbertus, G. (1980).** The soil as a microbial habitat. In J. Skujins & M. Alexander (Eds.), *Soil Biology* (pp. 493-507). Marcel Dekker.
32. **Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2003).** Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1), 37-42.
33. **Kwon-Chung, K. J., & Bennett, J. E. (1992).** *Medical mycology.* Lea & Febiger.
34. **Lahlali, R., & Hijri, M. (2010).** Effect of pH on the growth of various fungal isolates in vitro. *Mycoscience*, 51(6), 485-492. <https://doi.org/10.1007/s10267-010-0056-4>
35. **Liu, X., Hu, R., Andrade, J. L. A. P., Tan, Y., Zhang, D., & He, C. (2015).** Antifungal activity of *Penicillium* species against *Fusarium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(29), 6525-6531.

36. Mäder, P., Fließbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., & Niggli, U. (2002). Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 296(5573), 1694-1697. <https://doi.org/10.1126/science.1071148>
37. Magan, N., & Aldred, D. (2007). Environmental regulation of the development, growth, dissemination, and production of mycotoxins by *Fusarium* species. In *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics, and Biology* (pp. 49-72). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2007-0974.ch004>
38. Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 634-663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
39. Montoya, Q. V., Moonjely, S., Bidochka, M. J., & Fungi, P. (2016). The biocontrol potential of *Metarhizium* and *Beauveria* fungi. *Insects*, 7(4), 70. <https://doi.org/10.3390/insects7040070>
40. Morgan, J. A. W., Bending, G. D., & White, P. J. (2005). Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417), 1729-1739. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri205>
41. Munees, A., & Mulugeta, T. (2013). Soil microbial diversity and their role in soil health and crop productivity. In M. G. Stevenson, R. G. Bell, & S. W. Marlowe (Eds.), *Soil Microbiology and Sustainable Crop Production* (pp. 15-41). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5687-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5687-8_2)
42. Nasraoui, B. (2006). Biological control of plant pathogens: Current advances and challenges. *Biocontrol Science and Technology*, 16(8), 875-886. <https://doi.org/10.1080/09583150500335320>
43. Noumeur, R. (2008). Diversity and ecological role of fungi in the soil. *African Journal of Mycology*, 23(1), 45-52.
44. Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage* (3rd ed.). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92207-2>
45. Sabbagh, I. (2008). The rhizosphere: Microbial ecology and soil biogeochemistry. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(4), 848-859. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.10.021>
46. Samson, R. A., & Varga, J. (Eds.). (2007). *Aspergillus Systematics in the Genomic Era*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. <https://doi.org/10.3114/9789070351634>

47. **Sarma, B. K., Patel, B. R., Manna, N. C., & Bora, P. K. (2016).** Antagonistic Potential of *Aspergillus* Species against *Fusarium* Species of Wilt Pathogens. *Journal of Plant Pathology*, 98(3), 561-570.
48. **Savado, P., Sawadogo, L., & Tiveau, D. (2007).** Effects of grazing intensity and prescribed fire on soil physical and hydrological properties and pasture yield in the savannas of Burkina Faso. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 118(1-4), 80-92. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.05.002>
49. **Schirmbäck, D. A., Brunner, H., & Kobel, H. R. (1994).** Mycoparasitism and biological control of soilborne plant pathogens by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Phytopathology*, 140(1), 67-76. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1994.tb04629.x>
50. **Schmidt-Heydt, M., Rüfer, C. E., Abdel-Hadi, A., Magan, N., & Geisen, R. (2010).** The production of aflatoxin B1 or G1 by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* at various combinations of water activity and temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 140(2-3), 231-237. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.027>
51. **Tabuc, C. (2007).** Mycotoxins in cereals: Methods for the determination of deoxynivalenol and ochratoxin A. *Analytica Chimica Acta*, 594(2), 157-167. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.04.030>
52. **Theodorakopoulos, N. (2013).** Bacterial diversity in soil and its importance for ecosystem functioning. *Journal of Applied Microbiology*, 115(1), 2-10. <https://doi.org/10.1111/jam.12318>
53. **Toppo, P., Mathur, P. (2022).** Deep Insights into the Role of Endophytic Fungi in Abiotic Stress Tolerance in Plants. In: Roy, S., Mathur, P., Chakraborty, A.P., Saha, S.P. (eds) *Plant Stress: Challenges and Management in the New Decade. Advances in Science, Technology & Innovation.* Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-95365-2\\_21](https://doi.org/10.1007/978-3-030-95365-2_21)
54. **Wang, M.; Sun, H.; Xu, Z. (2024).** Characterization of Rhizosphere Microbial Diversity and Selection of Plant-Growth-Promoting Bacteria at the Flowering and Fruiting Stages of Rapeseed. *Plants* **2024**, *13*, 329. <https://doi.org/10.3390/plants13020329>
55. **Watanabe, T. (2002).** *Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi: Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species* (2nd ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420040821>