

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université Saad Dahleb Blida1**

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département de Biotechnologie et Agro-écologie**



**Mémoire de Fin d'Etude**

**En Vue de l'Obtention de Master en science de la Nature  
et la Vie**

**Thème**

# **ETUDE DE LA MYCOFLORE DU SOL**

Soutenu le : 21 /07/2022

**Présenté par :**

**Melle BOUDALI Imene**

**Melle BOUHAI Samira**

Devant le jury composé de :

**Mme BENSaid F.**

**Mme YALA A.**

**Mme BENKORTEBY H.**

**M.A.A.**

**Docteur**

**M.A.A.**

**UB1**

**UB1**

**UB1**

**Présidente  
Examinatrice  
Promotrice**

**Promotion 2021- 2022**

## **Remerciement**

*Avant tout nous remercions ALLAH Le Tout Puissant de nous avoir  
donné la force, le courage et la patience  
Durant toutes ces années d'études et que grâce à lui ce travail a pu être  
réalisé.*

*Nous remercions particulièrement notre encadreur*

*Mme **BENKORTEBY H.***

*Pour sa disponibilité ses conseils et pour l'aide qu'elle nous a apporté  
Non seulement sur le plan travail aussi sur le plan moral.*

*On remercie le membre du jury **Mme BENSALD. F** d'avoir accepté de  
présider ce modeste travail.*

*Nous tiens notre vifs remerciements à **Dr YALA A** d'avoir accepté  
d'examiner ce mémoire.*

*En fin un grand merci à toutes les personnes qui ont contribué de  
Pré-sou de loin, au bon déroulement de l'étude. Sans oublier tous les  
étudiants de la promo de biotechnologies microbienne2022.*

**BOUDALI Imene - Bouhai Samira**

## *Dédicace*

*Tout d'abord, je remercie mon « Dieu » Le Tout Puissant qui m'a donné, la Volonté, le courage, la patience et l'endurance et qui a guidé mes pas vers le Droit chemin pour réaliser ce travail.*

*Que je dédie*

*A mes chers parents que dieu les garde pour moi, pour tous leurs*

*Sacrifices, leur amour, qui n'ont pas cessé de me soutenir, de m'encourager et De prier pour moi durant toutes mes études.*

*A mes chers sœur **YASMINE, SARAH, INESS, AYA** que j'aime tant pour Leur petit mot et leur soutien je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de Bonheur, de santé et de réussite.*

*A mes chers cousins et mes cousines, en particulier **AZIZA***

*A tous les membres de ma famille paternelle **BOUDALI**, et maternelle*

***REZIME**, vous avoir à mes côtés représente un bonheur pour moi.*

*A ma chère binôme **SAMIRA** qui j'ai passé d'agréables moments. A tous ceux et celles qui m'ont aidé de près ou de loin, mille merci.*

**IMENE**

## *Dédicace*

*Au nom d'Allah Le Plus Reconnaissant, Le Plus Miséricordieux.*

*Tout d'abord, je voudrais remercier Allah qui a béni mes efforts avec succès et éclairé mon chemin.*

*Je consacrerai mes mots à remercier les créatures les plus précieuses. A mes parents, je ne pourrai jamais rendre l'énorme quantité de soutien, d'amour, d'en couragement et de sacrifices que vous avez fournis moi et je ne vousremercier jamais assez.*

*Qu'Allah vous accorde la santé et les bénédictions.*

*Je dédie mes frères et sœurs bien-aimés, **CHERIF, HAKIMA, MOHAMMED** et **MAROUA** pour tout le soutien et la compréhension qu'il m'a montrée pendant que je travaillais sur ma thèse.*

*Je dédie ma meilleure amie et ma collègue **IMENE** pour rester à mes côtés et pour m'avoir poussé vers le progrès et le succès, qu'Allah vous bénisse et puissions-nous rester amis et sœurs pour toujours.*

*Sans oublier le sucre de ma vie, la prunelle de mes yeux, bébé **LOUKMAN** mon petit cousin, merci d'avoir arrangé mon humeur avec vos rires mignons et bruyants .Merci d'être le créature le plus adorable de cette planète, je t'aime et puissé-je vivre long temps pour te voir aussi réussi et heureux que tu le mérite*

**Samira**

## Résumé

### Etude de la mycoflore du sol

Le sol est l'habitat naturel pour les microorganismes, les plantes, les animaux.

Les microorganismes du sol sont composés entre autre par une majeure partie des champignons grâce à leur rôle et abondance.

Ils ont une importance particulière en agriculture parce qu'ils sont l'origine de plusieurs solutions biologiques durables notamment utilisées dans beaucoup d'applications biotechnologiques.

Peu de travaux s'intéressent à étudier les microorganismes du sol afin de les recenser pour d'éventuelles études de valorisation. A cet effet, nous avons réalisé une étude sur la mycoflore du sol, dans le but de mettre en évidence les différents peuplements fongiques qui peuvent exister.

Nous avons effectué l'isolement de microorganismes fongiques à partir d'un sol non cultivé, prélevé dans les oliveraies de notre faculté et procédé à leur identification et dénombrement, leur purification et ensuite conservation.

L'analyse des résultats montre, que le genre majoritaire est *Rhizopus* avec une fréquence de 35,89%, suivi de *Trichoderma* avec 25,61%, *Penicillium* à 15,38% et *Aspergillus* avec 12,82%.

Nous avons aussi rencontré les deux genres phytopathogènes *Fusarium* et le *Verticillium* avec un pourcentage de 5,12%.

**Mots clés :** Sol, Micro-organismes, Mycoflore, Isolement et identification.

## ملخص

### دراسة فطريات التربة

التربة هي الموطن الطبيعي للكائنات الحية الدقيقة والنباتات والحيوانات. تتكون الكائنات الحية الدقيقة في التربة من بين أشياء أخرى من جزء كبير من الفطريات بفضل دورها و الوفرة . إنها ذات أهمية خاصة في الزراعة تتكون الكائنات الحية الدقيقة في التربة، من بين أشياء أخرى، من جزء كبير من الفطريات بفضل دورها و وفرتها. إنها ذات أهمية خاصة في الزراعة لأنها مصدر للعديد من الحلول البيولوجية المستدامة ، لأنها تستخدم في العديد من تطبيقات التكنولوجيا الحيوية .

يهتم عدد قليل من الأعمال بدراسة الكائنات الحية الدقيقة في التربة من أجل تحديدها لدراسات التقييم المحتملة. تحقيقا لهذه الغاية ، أجرينا دراسة على الفطريات الفطرية في التربة ، بهدف تسليط الضوء على المجموعات الفطرية المختلفة التي قد تكون موجودة.

لقد قمنا بعزل الكائنات الحية الدقيقة الفطرية من التربة غير المزروعة ، المأخوذة من بساتين الزيتون في كليتنا وشرعنا في التعرف عليها وإحصائها وتنقيتها ثم حفظها .

اظهر تحليل النتائج ان الجنس الاغلبية هو *Rhizopus* بنسبة 35,89% ثم يليه *Trichoderma* بنسبة 16,01% ثم يليه فطر *Penicillium* بنسبة 15,38% وفطر *Aspergillus* بنسبة تقدر ب 11,21% . ونجد كل من الفطرين *Verticillium* و *Fusarium* بنسبة متساوية تقدر ب 5,12% .

**الكلمات المفتاحية :** التربة ، الكائنات الحية الدقيقة ، الفطريات، العزلة و التعرف.

## **Abstract**

### **A study about Soil mycroflora**

Soil is the natural habitat for microorganisms, plants, animals.

Soil microorganisms are composed, among other things, of a major part of fungi thanks to their role and abundance.

They are of particular importance in agriculture because they are the source of several sustainable biological solutions, notably used in many biotechnological applications.

Few works are interested in studying soil microorganisms in order to identify them for possible valuation studies.

To this end, we carried out a study on the mycoflora of the soil, with the aim of highlighting the different fungal populations that may exist. We carried out the isolation of fungal microorganisms from uncultivated soil, taken from the olive groves of our faculty and proceeded to their identification and enumeration, their purification and conservation.

The analysis of the results shows that the majority genus is *Rhizopus* with a frequency of 35.89%, followed by *Trichoderma* with 25.61%, *Penicillium* at 15.38% and *Aspergillus* with 12.82%. We also encountered the two genera plante pathogens *Fusarium* and *Verticillium* with a percentage of 5.12%

**Keywords:** Soil, Microorganisms, Mycoflora, Isolation and identification.

## LISTES DES FIGURES

<b>Figure n°1:</b> Différents modes de vie des champignons.....	10
<b>Figure n°2:</b> Aspect morphologiques de <i>Rhizophagus irregularis</i> et <i>Gliocladium catenulatum</i> .....	19
<b>Figure n°3:</b> Aspect morphologiques de <i>Penicillium</i> sp et <i>Trichoderma harzianum</i> .....	20
<b>Figure n°4 :</b> Présentation des lieux des prélèvements des échantillons de sol.....	21
<b>Figure n°5 :</b> Méthode d'échantillonnage du sol.....	22
<b>Figure n°6 :</b> Préparation de milieu d'isolement et multiplication PDA .....	23
<b>Figure n°7 :</b> Etapes de la technique de dilutions-suspension.....	24
<b>Figure n°8:</b> Aspect morphologiques macroscopique des espèces fongiques dans des boîtes Pétri .....	29
<b>Figure n°9 :</b> Aspect microscopique des espèces fongiques au grossissement (10×40).....	29
<b>Figure n°10 :</b> Concentration des isolats fongiques .....	30
<b>Figure n°11 :</b> Pourcentage des isolats fongiques.....	31

## LISTES DES TABLEAUX

<b>Tableau n°1</b> :L'aspect macroscopique de colonies fongiques obtenus.....	28
<b>Tableau n°2</b> : Concentration et taux de biomasse des populations fongiques obtenus...	30

## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

DEDICACES

RESUME

ملخص

ABSTRAT

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION

**DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

<b>I. Le sol</b> .....	3
I.1 Composition du sol .....	3
I.1.1. La phase liquide .....	3
I.1.2. La phase gazeuse.....	3
I.1.3. La phase solide .....	4
I.2. Fraction organique.....	4
I.2.1. Les constituants non vivants.....	4
a)La matière organique particulaire .....	4
b)La matière organique moléculaire.....	4
I.2. Les constituants vivants .....	5
I.3. Les propriétés physico-chimiques du sol.....	5
I.4. La microflore du sol .....	5
I.4.1. Bactéries.....	6
I.4.2. Champignons.....	6
I.4.3. Autres .....	6
a)Algues.....	7
b)Protozoaires.....	7
c)Némathodes.....	7
<b>II. LES CHAMPIGNONS DU SOL</b> .....	8

II. La diversité fongique dans le sol .....	8
II.2. Les modes de vie fongiques dans le sol.....	9
II.3. Les principaux types des champignons bénéfiques du sol.....	11
II.3.1. Les champignons mycorhiziens.....	11
II.3.2. Les différents types des mycorhizes.....	11
a) La symbiose ectomycorhiziennes.....	11
b) Les ectendomycorhizes.....	11
c) Les endomycorhizes.....	11
d) Les mycorhizes à arbuscule.....	12
II.4. Le rôle et fonction des champignons .....	12
II.4.1. Dans le sol .....	12
II.4.2. Dans la plante .....	13
II.4.3. Dans l'environnement .....	13
II.5. Les espèces fongiques les plus fréquemment rencontrés dans les sols .....	13
II.5.1. Le genre <i>Aspergillus</i> .....	13
II.5.2. Le genre <i>Penicillium</i> .....	14
II.5.3. Le genre <i>Fusarium</i> .....	14
II.5.4. Le genre <i>Trichoderma</i> .....	14
<b>III. LES APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES DES CHAMPIGNONS</b>	15
III.1. En biotechnologies verte (agriculteur).....	15
a) Biostimulants.....	15
b) Biocontrôle.....	16
III.2. En biotechnologie blanche.....	16
a) En biodégradation .....	16
b) La production des enzymes .....	16
c) La biolixiviation.....	17
III.3. Principaux champignons du sol liés à la biotechnologie.....	17
III.3.1. <i>Trichoderma harzianum</i> .....	17
III.3.2. <i>Rhizoglyphus irregularis</i> .....	17
III.3.3. <i>Gliocladium catenulatum</i> .....	18
III.3.4. <i>Penicillium</i> sp.....	18
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	
I. Présentation de l'étude.....	21

I.1. Echantillonnage .....	21
I.2.Préparation des milieu de culture.....	22
II.2.1. Milieu d'isolement et multiplication .....	22
II.2.2. Préparation du milieu de conservation.....	23
II. Isolement .....	23
II.1.Dilution en série .....	23
II.2.L'ensemencement .....	24
II.3.Repiquage et purification .....	24
II.4. La conservation des isolats fongiques.....	25
III. Dénombrement .....	25
III.1Le pourcentage .....	25
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS</b>	
I. Etude macroscopique .....	26
I.1.L'aspect des colonies .....	26
I.2.Le relief des colonies.....	26
I.3. La couleur des colonies.....	26
II. Etude microscopique.....	29
III. Dénombrement .....	30
IV. Discussion générale .....	31
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVE</b>	<b>33</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>ANNEXES</b>	

# **Introduction**

# Introduction

---

Le sol est le support des différents organismes supérieurs tels que les plantes, les animaux et de nombreux microorganismes (bactéries, champignons, algues ...) (Locatelli, 2013). Pendant longtemps, les sols étaient supposés comme des milieux stériles, sans vie, surtout dans les zones arides et semi-arides, alors qu'ils habitent de nombreuses espèces microbiennes qui s'adaptent aux conditions climatiques extrêmes (Sasson, 1967).

Il constitue le milieu de vie permanent des microorganismes qui à leur tour, fournissent des fonctions environnementales essentielles comme la décomposition de la matière organique, libérant ainsi, des nutriments assimilables par les plantes. Ils jouent également un rôle crucial dans la formation des sols et leur évolution, la dégradation des polluants organiques et l'amélioration de la croissance des végétaux (Bonkowski, 2004).

En effet, les sols renferment des microorganismes diversifiés, qui peuvent être des bactéries, des champignons, des algues, ou des nématodes (Stengel et Gelin, 1998).

Parmi les microorganismes vivant dans le sol, figurent les champignons. Ce sont des microorganismes hétérotrophes majoritairement filamenteux, eucaryotes pluricellulaires ou unicellulaires. Ils représentent un groupe très important, et très répandus dans la nature, généralement au niveau des végétaux en décomposition (Lecellier, 2013).

Ces microorganismes jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes, notamment dans le recyclage des matières organiques, en puisant leur énergie à partir des sources carbonées externes (Mueller et Schmit, 2007).

Actuellement, les champignons occupent une place primordiale dans beaucoup de domaines d'applications, surtout liés à l'agriculture, et dans plusieurs procédés biotechnologiques tels que la biostimulation, la biolixiviation, la biotransformation, et la biodégradation (Boiron, 1996).

Pour acquérir des connaissances sur la mise en évidence, de la diversité taxonomique de ces champignons dans le sol et la détermination de leurs fonctions et processus impliqués, il est nécessaire d'abord de les isoler de leur milieu naturel pour mieux étudier leur éventuelle exploitation en biotechnologie (Bonkowski, 2004).

Cependant, peu de travaux s'intéressent à étudier la mycoflore du sol et les différents peuplements fongiques existants (Pansu et Gautheyrou, 2003 ; 2006).

## **Introduction**

---

A cet effet, notre travail est une contribution à l'étude de la mycoflore du sol, où nous avons réalisé une bibliographie sur les champignons du sol, suivi d'un essai expérimental qui consiste à l'isolement de ces microorganismes, à partir d'échantillons de sol prélevé au niveau des oliverais de notre faculté. Ces espèces ont été dénombrées et identifiées puis conservées, après purification, pour des études ultérieures.

# **Données Bibliographiques**

### I. Le sol

On définit le sol comme étant le résultat de la désagrégation des roches par leurs altérations mécanique et physico-chimique sous l'effet des facteurs abiotiques (humidité, temps, vent) et des facteurs biotiques tels que les microorganismes (Albert, 1954).

Il constitue le milieu de vie permanent d'une multitude des organismes vivants dont la plupart sont des microorganismes, leur développement dépend de la qualité de sol ou fertilité (quantité de carbone, d'azote, capacité d'échange ionique) (Quénéa, 2004).

Les microorganismes fournissent des fonctions environnementales essentielles telles la décomposition de la matière organique, libérant ainsi, des nutriments disponibles pour les plantes. Ils jouent également un rôle crucial dans la formation des sols et leur évolution, la dégradation des polluants organiques et l'amélioration de la croissance des végétaux (Bonkowski, 2004). La diversité de fonctions assurées par les microorganismes vis-à-vis de la plante montre que le sol est un milieu vivant (Gobat et *al.*, 2004).

#### **Composition du sol :**

Le sol est considéré un système composé de trois compartiments : solide (comportant les microorganismes), liquides et gazeuse. Ces compartiments sont en interaction permanente par des échanges de matière et d'énergie dus à plusieurs phénomènes physiques, chimiques et biologiques (Calvet, 2000).

**La phase liquide :** est représentée par l'humidité du sol. Elle contient de nombreuses substances dissoutes telles que des ions, des molécules organiques et minérales. Leur concentration dans la solution du sol dépend des phénomènes de dissolution, de désorption, de précipitation et d'adsorption (Sims et *al.*, 1997). La phase liquide est composée de :

- Les micro-éléments dont la concentration est inférieure à  $10^{-6}$  mol / l.
- Les macroéléments dont la concentration dans la solution du sol dépasse  $10^{-6}$  mol / l.

**La phase gazeuse :** est en équilibre avec l'air extérieur mais les concentrations des différents gaz diffèrent, ce qui est lié à la vitesse de diffusion des gaz dans la porosité fine du sol (qui peut être plus ou moins continue).

La composition de la phase gazeuse dans le sol présente des fluctuations saisonnières liées à la respiration des racines et à l'activité microbienne du sol. L'oxygène doit être présent dans le sol en quantité suffisante pour répondre aux besoins des plantes et des microorganismes (respiration aérobie) (Musy et Soutter 1991 ; Gobat et *al.* 2010).

## Données bibliographique

---

**La phase solide** : elle est constituée par des minéraux et des matières organiques en proportions variables. On pourrait considérer les organismes vivants du sol comme une partie de la phase solide (Calvet, 2000). On distingue deux fractions dans le sol :

- La fraction minérale : les minéraux constituent, en général, de 95 à 99% du sol. La composition minérale dépend de la nature de la roche-mère. La nature des minéraux peut être extrêmement diverse avec des tailles granulométriques différentes.
- La fraction organique : la fraction organique d'un sol est constituée d'organismes vivants notamment les microorganismes (bactéries et actinomycètes, champignons, protozoaires et nématodes) (Quénéa, 2004), de matière organique (résidus de plantes et d'animaux en décomposition (Paul et *al.* 1996).

### Fraction organique

La fraction organique est constituée principalement de matière organique morte (tissus végétaux, résidus d'organismes) pouvant arriver jusqu'à 80% (Samai, 2017).

Le reste est constitué de bactéries et champignons qui sont les microorganismes les plus représentés dans le sol. Ces microorganismes sont les principaux responsables de la minéralisation de la matière organique (Quénéa, 2004). La fraction organique est composée de constituants vivants et de constituants non vivants (Samai, 2017).

### Les constituants non vivants

Ils existent deux constituants non vivants dans le sol tels que la matière organique particulaire, la matière organique moléculaire

- a) La matière organique particulaire** : se présente évidemment sous forme de particules plus ou moins grandes et sont des fragments de tissus dans les quels des structures cellulaires sont reconnaissables (Samai, 2017).
  - La litière : Les fragments les plus grands, elle n'est pas mélangée à des minéraux et elle est localisée à la surface du sol (Samai, 2017).
  - La matière organique grossière : les fragments de tissus végétaux dont la taille varie entre 20 et 50  $\mu\text{m}$  selon l'échelle granulométrique.
  - La matière organique légère : la masse volumique des particules organiques est petite par rapport aux deux fractions précédentes.
- b) La matière organique moléculaire** : constituée par des molécules de tailles très diverse produites par les transformations chimiques des constituants tissulaires et elle est divisée en deux fractions. (Samai, 2017).

## Données bibliographique

---

- Les substances non humiques : sont des molécules appartenant à des familles chimiques identifiées (Samai, 2017).
- Les substances humiques : sont des macromolécules acides, de taille variable, de composition chimique et de structure complexe (Samai, 2017).

### **Les constituants vivants**

Les constituants vivants du sol sont représentés par toutes les formes de vie qui existent dans le sol telles que les plantes, les animaux et les micro-organismes (Samai, 2017).

Ces constituants regroupés dans trois grandes catégories :

- Les tissus végétaux, principalement les tissus vivants des plantes, mais certains auteurs incluent également dans cette catégorie les tissus des végétaux morts restant debout à la surface du sol (arbres morts encore dressés).
- Les animaux du sol comprenant la microfaune, dont le diamètre est inférieur à 0,2 mm (protozoaires et nématodes), la mésofaune de diamètre entre 0,2 et 4mm (insectes) et la macrofaune comprend les invertébrés dont la taille est supérieure à 2 mm (les vers de terre).
- La biomasse microbienne qui correspond à la microflore vivante du sol c'est à dire, les bactéries, les champignons, les actinomycètes et les algues (Samai, 2017).

### **Les propriétés physico-chimiques du sol**

Le sol est une matrice réactive qui est composée d'éléments chargés, minéraux et organiques. Les propriétés physico-chimiques du sol commandent les conditions de température, d'aération, de circulation et de stockage de l'eau, toutes les propriétés physique se rattachent à une caractéristique fondamentale qui est la porosité c'est à dire le volume des vides du sol (les pores), pour la circulation d'eau et les gaz dans le sol. Le pH est considéré comme l'une des principales variables dans les sols, car il contrôle de nombreux processus chimiques qui se déroulent dans les sols. Ces éléments physico-chimiques interagissent entre eux et confèrent au sol des propriétés qui affectent la présence et la distribution des organismes dans le sol ainsi que sur la nutrition des plantes (Gobat et *al.*, 2010).

### **La microflore du sol**

La microflore du sol est constituée par l'ensemble des communautés de bactéries (Archaeobactéries et Eubactéries) de champignons (levures et moisissures) et d'algues. Certains auteurs incluent également dans la microflore du sol les Protozoaires et les Virus (Roger et Gracia, 2001). Cependant, le nombre de ces micro-organismes divers par apport les

## Données bibliographique

---

profondeurs. Il y a très peu de micro-organismes sur la surface du sol (0,5 cm), À une profondeur de 1-2-5 cm à 30-40 cm, le nombre de micro-organismes est le plus élevé ( la rhizosphère) Plus profond que 30 à 40 cm le nombreux de ces microorganismes diminue (Roger et Gracia, 2001).

**Bactérie** : sont les microorganismes les plus abondants et métaboliquement les plus actifs du sol. En fonction des propriétés du sol, tous les types physiologiques bactériens sont représentés : autotrophes et hétérotrophes, mésophiles, thermophiles et psychrophiles, aérobies et anaérobies (Roger et Gracia, 2001).

**Champignon** : sont des microorganismes hétérotrophe non photosynthétiques, regroupent une grande variété d'organismes eucaryotes qui sont divisés en sous-groupes en fonction de critères morphologiques (Roger et Gracia, 2001).

Certaines espèces fongiques se retrouvent dans la plupart des sols, comme les *Aspergillus*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, *Rhizopus*, *Mortierella*, *Zygorhynchus*, *Chaetomium*, *Gymnoascus*. On y retrouve aussi communément des *Oomycetes* et des *Chytridiomycetes* (Boiron, 1996).

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

Les champignons sont importants pour immobiliser, ou maintenir, des aliments dans le sol. En outre, plusieurs des métabolites secondaires des champignons sont les acides organiques, ainsi elles aident à augmenter l'accumulation de la matière organique riche d'acide humique qui est résistante à la dégradation et peut rester dans le sol pour des centaines d'années ( Peuk, 2000 ).

### Autres

Parmi les microorganismes les plus étudiés et les plus abondant, il y'a aussi d'autre groupe de microorganisme qui sont moins abondant et diversifié comme les algues, protozoaires, némathodes.

## Données bibliographique

---

- a) **Algues** : ce sont des microorganismes vivants photosynthétiques eucaryotes qui vivent dans l'eau et elles sont relativement peu abondantes dans le sol, mais leur présence est cependant commune. Elles jouent un rôle important dans le maintien de la fertilité des sols (Roger et Garcia, 2001).
  
- b) **Protozoaires** : ce sont des animaux unicellulaires incolores qui colonisent l'eau et le sol. Ils sont hétérotrophes, ce qui signifie qu'ils sont pour leur métabolisme tributaires de substances venues d'autres organismes (Johns, 2017).
  
- c) **Némathodes** : ils sont des petits vers ronds, fusiformes, non segmentés, recouverts par une cuticule dont la majorité des espèces sont invisibles à l'œil nu, sont parmi les animaux les plus abondants sur terre. Ils se présentent sous forme de parasite chez les animaux et les plantes ou sous forme libre dans le sol (Tikkanen et Fortier, 2020).

### II. Les champignons du sol

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

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

Les Champignons partagent de nombreux traits caractéristiques (synapomorphies), (James *et al.*, 2006 ; Stajich *et al.*, 2009). Ce sont des organismes hétérotrophes qui dépendent de sources organiques pour le carbone, leur paroi cellulaire pour la plupart est constituée de chitine (Certains groupes comme les levures ascomycètes ont peu ou pas de chitine dans leur paroi cellulaire) (Taylor et Sinsabaugh, 2015).

#### La diversité fongique dans le sol

Les champignons sont présents en abondance dans les sols, et en tant que principaux régulateurs de la décomposition, de la séquestration de carbone (Clemmensen *et al.*, 2013) et de la respiration, leur importance y est incontestable. Ils contribuent aux cycles biogéochimiques et régissent la disponibilité de plusieurs nutriments. En plus de décomposer la matière organique à l'aide de multiples enzymes (Baldrian *et al.*, 2011), certains champignons ont la capacité de dégrader la roche, la sécrétion d'acides organiques et de composés phénoliques permet de solubiliser la roche et de libérer des nutriments comme le phosphore qui sont essentiels à la nutrition des plantes (Landeweert *et al.*, 2001).

Les communautés fongiques du sol sont généralement constituées par un large nombre d'espèces et ce même dans les parcelles dominées par une seule espèce végétale. En sol agricole, ont estimé à plus de 24 le nombre d'espèces fongiques présentes dans la rhizosphère d'un plant de blé (Smit *et al.*, 1999).

Les différentes études portant sur la composition et la distribution des espèces fongiques dans les sols montrent qu'un échantillon de sol contient une mosaïque d'espèces plus ou moins différente de celle contenue dans l'échantillon de sol adjacent (Gardes & Bruns, 1996 ; Dahlberg *et al.*, 1997 ; Smit *et al.*, 1999 ; Zhou et Hogetsu, 2002).

### **Les modes de vie fongiques dans le sol**

Différents modes de vie sont développés par les champignons et ce en fonction de stratégies nutritionnelles distinctes (Figure n°02).

Certains champignons vivent en symbiose avec un autre organisme vivant. Par exemple, l'association des champignons mycorhiziens avec les végétaux implique un échange nutritionnel entre le champignon et son hôte. Le champignon est approvisionné en sucres photosynthétiques par la plante, en contrepartie, le réseau de mycélium associé au système racinaire de la plante continue de se développer dans le sol, digérant et absorbant des nutriments ainsi que de l'eau qu'il partage avec son hôte (Smith et Read, 2008). Il existe plusieurs types d'associations mycorhiziennes qui impliquent différents champignons et hôtes. Les mycorhizes à arbuscules qu'on retrouve chez environ 80% des espèces de plantes vasculaires sont de loin les plus répandues (Wang et Qiu, 2006 ; Brundrett, 2009). Les symbioses mycorhiziennes à arbuscules, ainsi que les symbioses ectomycorhiziennes, sont aussi reconnues pour l'amélioration de la résistance aux pathogènes, de l'absorption de l'eau et de la résistance aux stress abiotiques chez l'hôte (Ruiz-Lozano *et al.*, 1995; Pozo et Azcón-Aguilar, 2007; Evelin *et al.*, 2009; Wehner *et al.*, 2010).

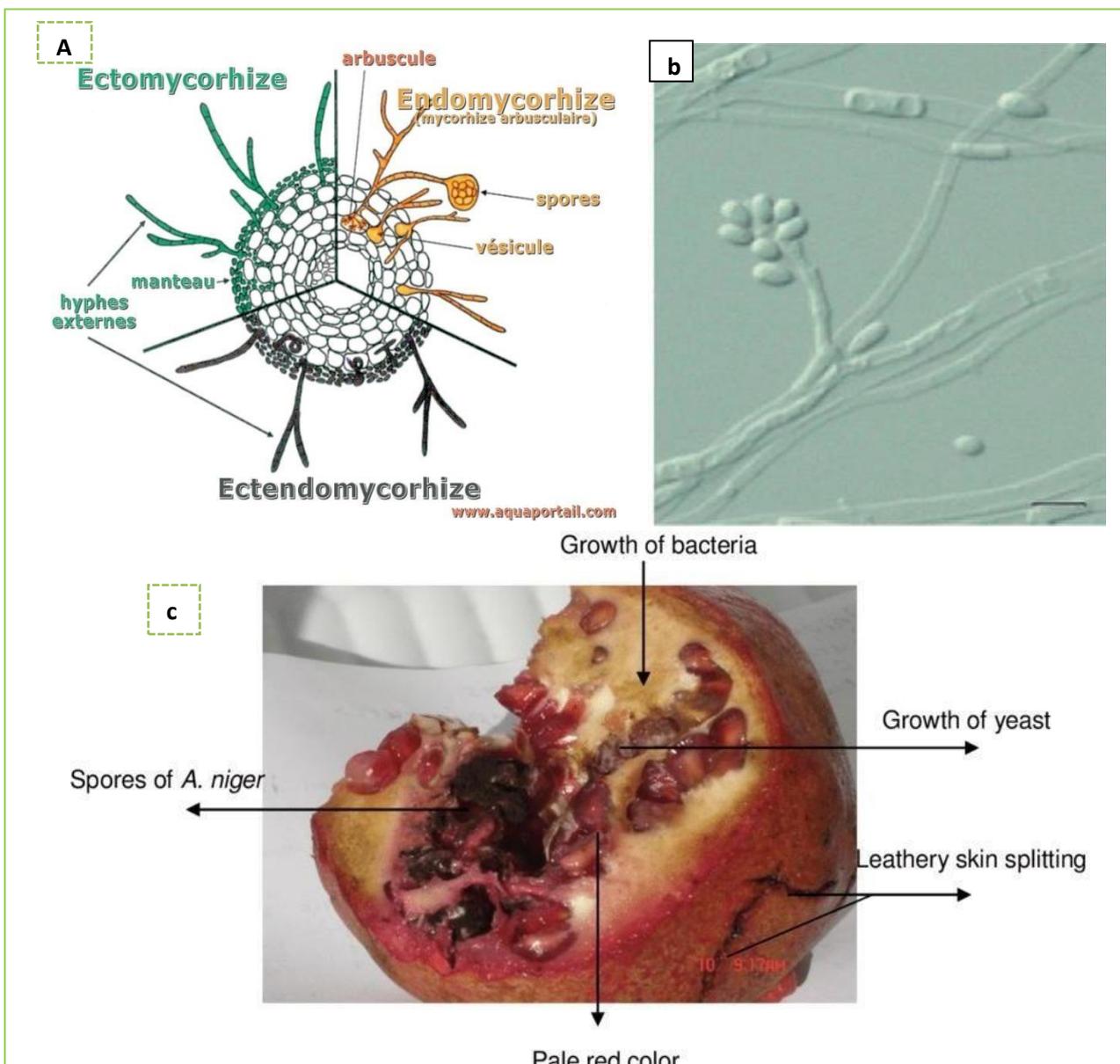
La majorité des champignons sont dits saprotrophes, ils produisent et sécrètent des enzymes extracellulaires qui dégradent la matière organique inerte afin d'en extraire des éléments comme le carbone et l'azote (Moore *et al.*, 2011). Les champignons saprotrophes décomposent efficacement la lignine, la cellulose et la chitine, soit les biopolymères les plus abondants dans les biomes terrestres et principales sources de carbone dans les sols forestiers (Baldrian *et al.*, 2011). Les saprotrophes produisent différentes enzymes qui leur confèrent des capacités métaboliques distinctes. Par exemple, les « champignons de pourriture blanche » comprennent environ 2000 espèces de champignons (principalement des Basidiomycètes) qui métabolisent la lignine, alors que les « champignons de pourriture brune » sont spécialisés dans la dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose (Moore *et al.*, 2001). Les champignons saprotrophes sont d'une grande importance dans les sols à cause de leur contribution à la décomposition de la litière des débris végétaux et animaux, et de leur participation directe aux cycles de nutriments comme l'azote et le carbone (Baldrian *et al.*, 2011).

D'autres sont parasites, c'est-à-dire qu'ils tirent parti de la matière organique vivante. Souvent pathogènes, ces champignons peuvent causer des maladies et entraînent parfois la mort de leur hôte qui peut être végétal, animal ou même fongique. Certains ont des stratégies qui se rapprochent de la prédation, comme certains champignons nématophages qui forment

## Données bibliographique

des structures mycéliennes spécialisées, des anneaux constricteurs, leur permettant de capturer, puis de tuer et digérer des nématodes (Barron, 1977; Liu *et al.*, 2009).

Certains champignons peuvent adoptés l'endophytisme comme mode de vie. Il se caractérise par la colonisation des structures internes d'une plante de manière asymptomatique. Les champignons endophytes se définissent comme étant des organismes qui colonisent les tissus internes de leurs hôtes. Autrement dit, ce sont des organismes qui, ont la capacité de coloniser les organes internes de leurs hôtes sans causer le moindre préjudice. Ce type de relation symbiotique existe depuis l'émergence des plantes vasculaires datant de 400 millions d'années environ (Duponnois *et al.*, 2013).



**Figure n°1 :** Différents modes de vie des champignons  
a)mycorhization ; b) endophytisme ; c) parasitisme

### **Les principaux types des champignons bénéfiques du sol**

#### **Les champignons mycorhiziens**

La symbiose est une association obligatoire et à bénéfice réciproque entre une racine de plante et un champignon. Les champignons mycorhiziens sont des partenaires essentiels aux plantes dans la relation sol-plante-microorganisme (Smith et Read, 2008).

#### **Les différents types des mycorhizes**

Les types d'associations mycorhiziennes ont été identifiées et classés selon leur morphologie, leur structure et selon les caractères d'association qui dépendent en fait directement des partenaires impliqués qui sont les mycorhizes à vésicules et à arbuscules, les ectomycorhizes, les ectendomycorhizes, les mycorhizes arbutoïdes, les mycorhizes monotropoïdes, les mycorhizes éricoïdes ou endomycorhizes à pelotons des éricacées et les mycorhizes orchidoïdes ou endomycorhizes à pelotons des orchidées (Le Tacon, 1985).

##### **a) La symbiose ectomycorhizienne**

La symbiose ectomycorhizienne est une association mutualiste entre la racine d'une plante et un champignon supérieur. Ces mycorhizes sont formées par des champignons dont le mycélium, ils colonisent la surface des cellules racinaires pour former un manteau fongique et pénètre entre les cellules de la première couche du cortex chez les feuillus. La formation de ces ectomycorhizes entraîne des modifications importantes de la racine (Martin *et al.*, 2001 ; Marmeisse *et al.*, 2004).

##### **b) Les ectendomycorhizes**

Il arrive que la forme ectendomycorhizes soient présents en même temps sur une racine, le premier type est minoritaire et concerne surtout les arbres, le second est majoritaire et concerne presque tous les végétaux (Brudrettn *et al.*, 1996).

##### **c) Les endomycorhizes**

Les champignons endomycorhiziens ne sont pas spécifiques et sont notamment associés aux plantes forestières agricoles et horticoles. Ces symbiotes à colonisation intracellulaire corticale, forment des arbuscules, des vésicules ou des hyphes, ne se cultivent pas et ne sont pas visibles qu'après coloration. En fonction de la forme de la structure mycorhizienne dans le cortex racinaire, les endomycorhizes peuvent être subdivisées en trois principaux types (Dexheimer, 1998) :

- Les endomycorhizes arbutoides des Ericacées.
- Les endomycorhizes orchidoides des Orchidées.
- Les endomycorhizes à arbuscules.

### **d) Les mycorhizes à arbuscule**

Parmi les associations endomycorhiziennes, ce sont les champignons mycorhiziens à arbuscules qui sont de loin les plus répandues à la surface du globe. Ils sont adaptés à de nombreux environnements et différentes plantes hôtes. Chez ce type de mycorhize, le champignon ne cherche pas à envelopper les cellules de l'hôte, comme chez les ectomycorhizes, mais y pénètrent de façon subtile sans en perturber les structures. Ils peuvent former des associations mutualistes avec les racines fines d'environ 80 % de toutes les plantes (Smith et Read, 1997).

### **Le rôle et fonction des champignons**

Les champignons mycorhiziens sont la classe la plus importante des microorganismes bénéfiques dans les sols, ils influencent le sol ainsi les plantes et l'environnement (Smith et Read, 2008).

### **Dans le sol**

Les champignons constituent les agents principaux de la décomposition de la matière organique dans les sols (Roger et Gracia, 2001). Ils contribuent à la structuration du sol par la stabilité structurale du sol à travers leur structure mycélienne ramifiée qui assure une cohésion particulière dans le sol (Gobat et *al.*, 2003) et la production de substances adhésives et l'agrégation des particules par des champignons filamenteux. Aux échelles de l'écosystème et du peuplement, les mycorhizes participent au maintien de la biodiversité végétale et fongique, à la régénération naturelle et au fonctionnement des cycles biogéochimiques par une minéralisation de la litière et une altération des minéraux primaires (Leake et Read 1990; Read et *al.*, 2004 ; Selosse et *al.*, 2006). Les mycorhizes jouent également un rôle important dans l'absorption d'autres éléments nutritifs du sol (potassium, calcium, magnésium) et de certains oligoéléments (cuivre, zinc). Ils peuvent avoir un effet protecteur des plantes en accumulant des métaux lourds et participer ainsi aux processus de dépollution des sols (Blaudez et *al.*, 2000).

### **Dans la plante**

Les mycorhizes améliorent la nutrition et protègent les racines contre les agents pathogènes, ils renforcent la résistance à des stress abiotiques (Selosse et *al.*, 2006 ; Bâ et al., 2011). En effet, les champignons colonisent les racines et forment un réseau mycélien extra matriciel qui explore un grand volume de sol donc ils mobilisent des nutriments essentiels aux plantes, ce réseau mycélien relie également les racines de plantes et peut même assurer le transfert de nutriments d'une plante à une autre. Les champignons bénéficient en retour de composés carbonés issus de la photosynthèse pour accomplir leur cycle biologique (Read et al. 2004), de plus ils améliorent la santé des plantes à travers la lutte contre les nématodes, les insectes et les plantes adventices ainsi que la protection contre des pathogènes ou autres organismes nuisibles (Selosse et *al.*, 2006).

### **Dans l'environnement**

Les associations mycorhiziennes jouent un rôle majeur dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres en intervenant fortement dans les mécanismes l'évolution des écosystèmes et épuration de l'air par la réduction de la production de gaz à effet de serre. La symbiose mycorhizienne favorise le prélèvement et le transport vers la plante des éléments minéraux nutritifs très peu mobiles dans le sol comme le phosphore (Duponnois et al., 2005 ; Lambers et al., 2008). En effet, la présence de plantes supportant déjà des structures mycorhiziennes a été décrite comme un moyen très efficace pour assurer la régénération de l'espèce végétale en facilitant notamment l'infection des jeunes plants et en conséquence leur survie, dans des conditions du milieu souvent hostiles (Simard et Durall, 2004).

### **Les espèces fongiques les plus fréquemment rencontrés dans les sols**

Certaines espèces fongiques sont très communes dans les sols, tels que les *Aspergillus*, *Penicillium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Mucor* (Boiron, 1996 ; Soltner, 2005).

### **Le genre *Aspergillus***

C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (Raper et Fennell, 1965). Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (Raper et Fennell, 1965 ; Botton et *al.*, 1990 ;Roquebert, 1998). Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus

## Données bibliographique

---

souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002), ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol. Enfin, certaines espèces d'*Aspergillus* sont utilisées pour la production biotechnologiques notamment pour la production d'enzymes, d'acides organiques (Botton et *al.*, 1990).

### **Le genre *Penicillium***

Ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des Ascomycètes. Ce genre comprend environ 227 espèces définies essentiellement d'après les caractères du thalle, des pénicilles et des spores (Pitt, 1988). Les *Penicillium* sont des champignons très communs dans l'environnement, on les retrouve aussi dans les denrées alimentaires, les matières organiques en décomposition.

Enfin, certaines espèces de *Penicillium* sont utilisées dans nombreux domaines d'application biotechnologiques (Ali et *al.*, 2014 a et b).

### **Le genre *Fusarium***

Ce genre inclue des champignons asexuée appartenant à le groupe des Deutéromycètes. Les formes parfaites de quelques espèces de *Fusarium* sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes. Le genre comprend près de 40 espèces souvent largement répandues.

Le genre *Fusarium* regroupe beaucoup d'espèces phytopathogènes, susceptibles d'induire des maladies cryptogamiques (fusarioses ). Flétrissement des tiges, taches jaunes sur le feuillage, pourrissement des racines en sont les premiers symptômes chez de nombreuses plantes (Nelson et *al.*, 1983).

### **Le genre *Trichoderma***

Ce genre regroupe un ensemble de champignons imparfaits saprophytes qui se retrouvent couramment dans le sol, les débris végétaux et les organes aériens des plants. On le reconnaît facilement en culture grâce à la couleur généralement verdâtre de ses spores et le port typique de ses phialides.

Le genre *Trichoderma* a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action lorsqu'on lui permet de s'installer avant l'arrivée des champignons pathogènes. Son action est donc préventive ( Johanne, 2002).

### III. Les applications biotechnologiques des champignons de sol

La plus part des espèces de la communauté microbienne du sol ont un potentiel pour couvrir un large éventail d'applications environnementales et industrielles, dont beaucoup d'entre-eux restent largement inexploitées. La capacité des micro-organismes à décomposer les substrats et à convertir les matériaux et les composés en de nouvelles substances est une ressource précieuse dans les industries pharmaceutique, alimentaire, chimique et même minière. L'exploitation des microorganismes dans l'intention de générer un produit utile ou un changement environnemental désiré est généralement considéré comme une biotechnologie (Botton, 1990).

#### En biotechnologie verte (agriculture)

Il existe dans le sol de nombreux micro-organismes capables de lutter contre les bioagresseurs à l'origine des maladies des végétaux, comme les champignons endomycorhizogènes et des champignons antagonistes. Ce dernier groupe a une relation symbiotique avec les plantes, il peut, soit améliorer la croissance de la plante de façon directe, en produisant des hormones végétales ou en améliorant l'absorption d'éléments nutritifs, soit favoriser la croissance par des moyens indirects en éliminant des pathogènes via la production d'antibiotiques ou l'immunisation induite (Chitine, 2005). Parmi les champignons antagonistes qui contribuent à la croissance des plantes, les espèces du genre *Trichoderma* sont connues par leur capacité de stimuler la croissance végétative et racinaire (biofertilisant), produire des antibiotiques et approuver les mécanismes de défense chez les plantes lorsqu'ils sont utilisés comme biofertilisant et agents de lutte biologique (Harman, 2004).

- a) **Biostimulant** : Parmi les champignons antagonistes le genre *Trichoderma* qui contribuent à la croissance des plantes par l'augmentation de la disponibilité des nutriments, et augmenter la résistance vis à vis de la maladie. (Cutler et *al.*, 1989). Ce genre est capable de produire des acides organiques (gluconique, citrique et acide fumarique) qui diminuent le pH du sol et permet la solubilisation des phosphates, des micronutriments comme le fer et le magnésium.

Plusieurs autres effets bénéfiques pour la plante, tels que la résistance aux stress, abiotiques, l'amélioration de l'efficacité photosynthétique et la meilleure utilisation de l'azote, sont déclenchés (Cutler et *al.*, 1989).

b) **Biocontrôle** : le genre *Glomus* spp est un champignons arbusculaire mycorhizien (AM) largement utilisé pour optimiser l'absorption des nutriments par les plantes, mais ce genre possède également des potentialités qui peuvent aider leur plante-hôte à contrer les maladies (Whipps, 2004). La symbiose a permis de lutter contre de nombreuses maladies racinaires par la stimulation des défences des plantes contre les agents pathogènes. Leurs modes d'action comprennent une altération directe de la croissance des agents pathogènes à partir de champignons AM, une concurrence pour la nourriture ou l'espace, et l'amélioration de la nutrition état de la plante, ainsi la modification de la ramification ou de la morphologie des racines de la plante-hôte (Whipps, 2004).

### **En biotechnologie blanche**

La majorité des microorganismes du sol sont des décomposeurs c'est-à-dire ils sont des hétérotrophes qui décomposent les matières organiques pour obtenir de l'énergie. Ce procédé peut également être utilisé comme une forme de biotechnologie connue sous le nom de bioremédiation, qui est le procédé utilisant des organismes biologiques pour ramener une zone contaminée à son état naturel (Jeffery, 2013).

La bioremédiation se produit, ou est mise en oeuvre sous différentes formes :

#### **a) En biodégradation**

La biodégradation est la décomposition de matières organiques par les microorganismes (bactéries, champignons, algues). Ca capacités sont liées à leurs équipements enzymatiques riches et variés, notamment les enzymes extracellulaires ligninolytiques. Ils sont capables de métaboliser une large gamme de polluants organiques. En industrie c'est l'utilisation de la capacité de certains microorganismes à transformer le polluant en substrat (source de carbone, d'énergie) (Baryshnikova, 2001).

#### **b) La production des enzymes**

Les champignons ont la capacité de produire des enzymes extracellulaires pour la dégradation et l'assimilation des polluants. La plupart des souches de *Penicillium* halotolérantes. Les souches halophiles de *Penicillium* ont une meilleure tendance à la bioremédiation car les déchets des usines contiennent une forte concentration de sel avec des métaux lourds, des acides organiques et inorganiques (Zhang et al., 2002)

### c) La biolixiviation

Les techniques de biolixiviation, basée sur la capacité des microorganismes (bactéries et champignons) à transformer les composés solides en éléments solubles qui peuvent être récupérés. Les champignons peuvent être utilisés comme des agents de lixiviation des métaux des minerais et des minéraux non sulfurés. Les espèces de champignons testées en majorité en biolixiviation, sont du genre *Aspergillus* et *Penicillium* (Wainwright, 1992). *Aspergillus niger*, par exemple, par son activité biologique, est capable de produire les acides citrique, oxalique et gluconique, qui peuvent servir comme agents de solubilisation des métaux contenus dans les résidus miniers (Bosshard et al., 1996). Les espèces *Penicillium* quant à elles, peuvent extraire le nickel contenu dans les minerais (Wainwright, 1992). La capacité de ces champignons, ainsi que d'autres espèces de champignons, à solubiliser les métaux contenus dans des matériaux solides peut ouvrir de nouvelles perspectives pour la récupération des métaux des résidus miniers (Burgstaller et Schinner, 1993).

### Principaux champignons du sol liée au biotechnologie

Plusieurs espèces fongiques existent dans le sol exploité en biotechnologies, parmi ces espèces :

#### *Trichoderma harzianum*:

➤ **Description** : le mycélium de *Trichoderma harzianum* est composé d'hyphe jaune, septes, ramifié, ces conidiophores sont de forme pyramidale (figure n°2.a), contient des souches compactes en touffes (figure n°2. b).

➤ **Utilisation en biotechnologie** : Le champignon produit des substances qui empêchent le développement d'autres champignons pathogènes (biofongicide). Utiliser comme produit phytosanitaire.

#### *Rhizophagus irregularis*

➤ **Description** : les *Rhizophagus irregularis* sont des champignons arbusculaire, ces spores de couleur blanche, crème et marron (figure n°2. c), hyphes sous forme cylindriques (figure n°2. d).

## Données bibliographique

---

➤ **Utilisation en biotechnologie** : Utilisé comme un facteur clé pour limité la prolifération des agents pathogène.

### *Gliocladium catenulatum*

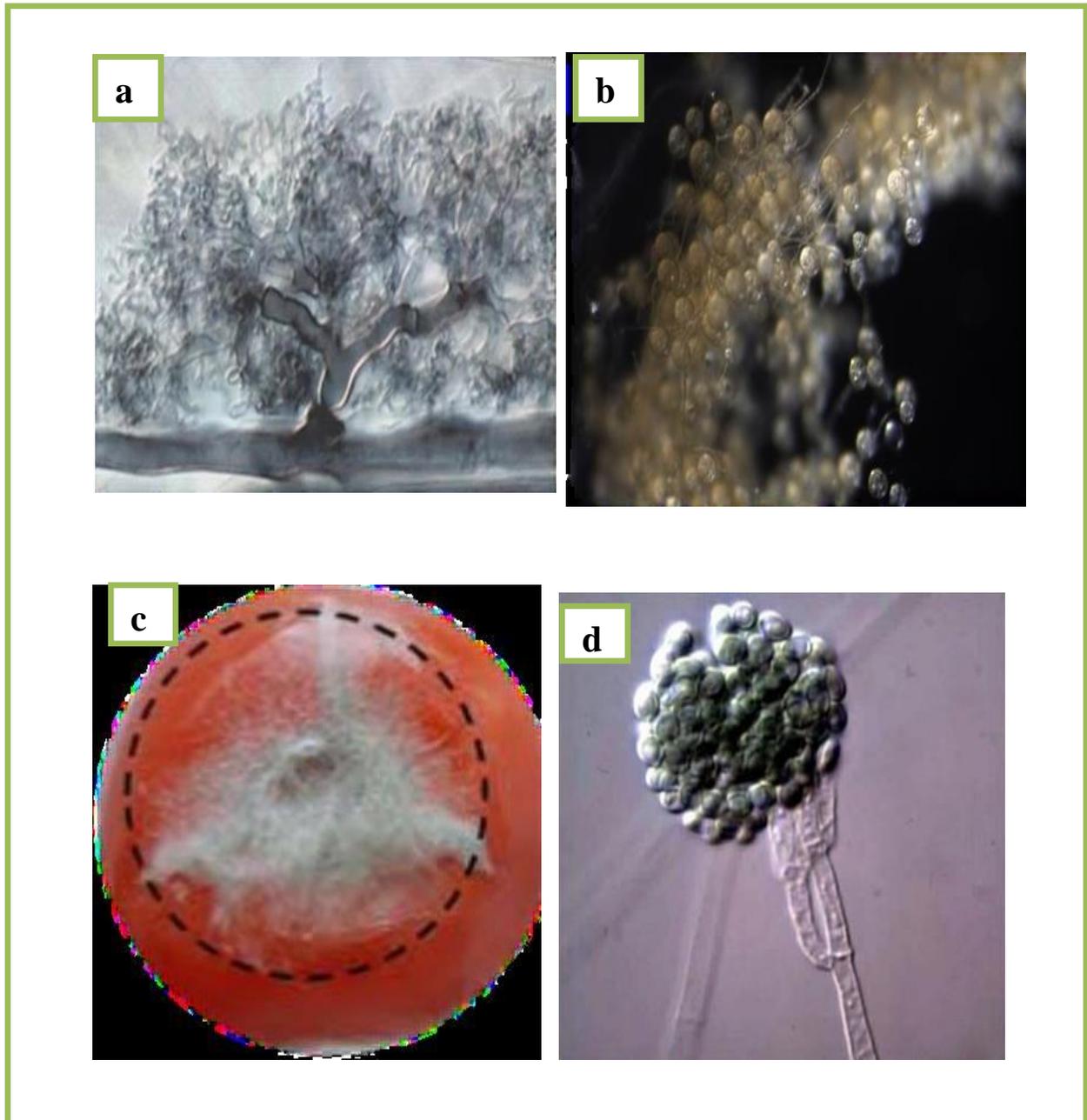
➤ **Description** : les *Gliocladium catenulatum* sont champignons ascomycètes saprophyte, avec un aspect cotonneux, couleur entre gris et le vert (figure n°3. a), contient des hyphes cloisonnés, condiophores ramifié et des conidies ovoïdes (figure n°3. b).

➤ **Utilisation en biotechnologie** : Il a une efficacité antagoniste contre les maladies telluriques, contient trois modes d'action: concurrence, parasitisme, production d'antibiotique, il lutte contre les maladies du sol (bio fongicide).

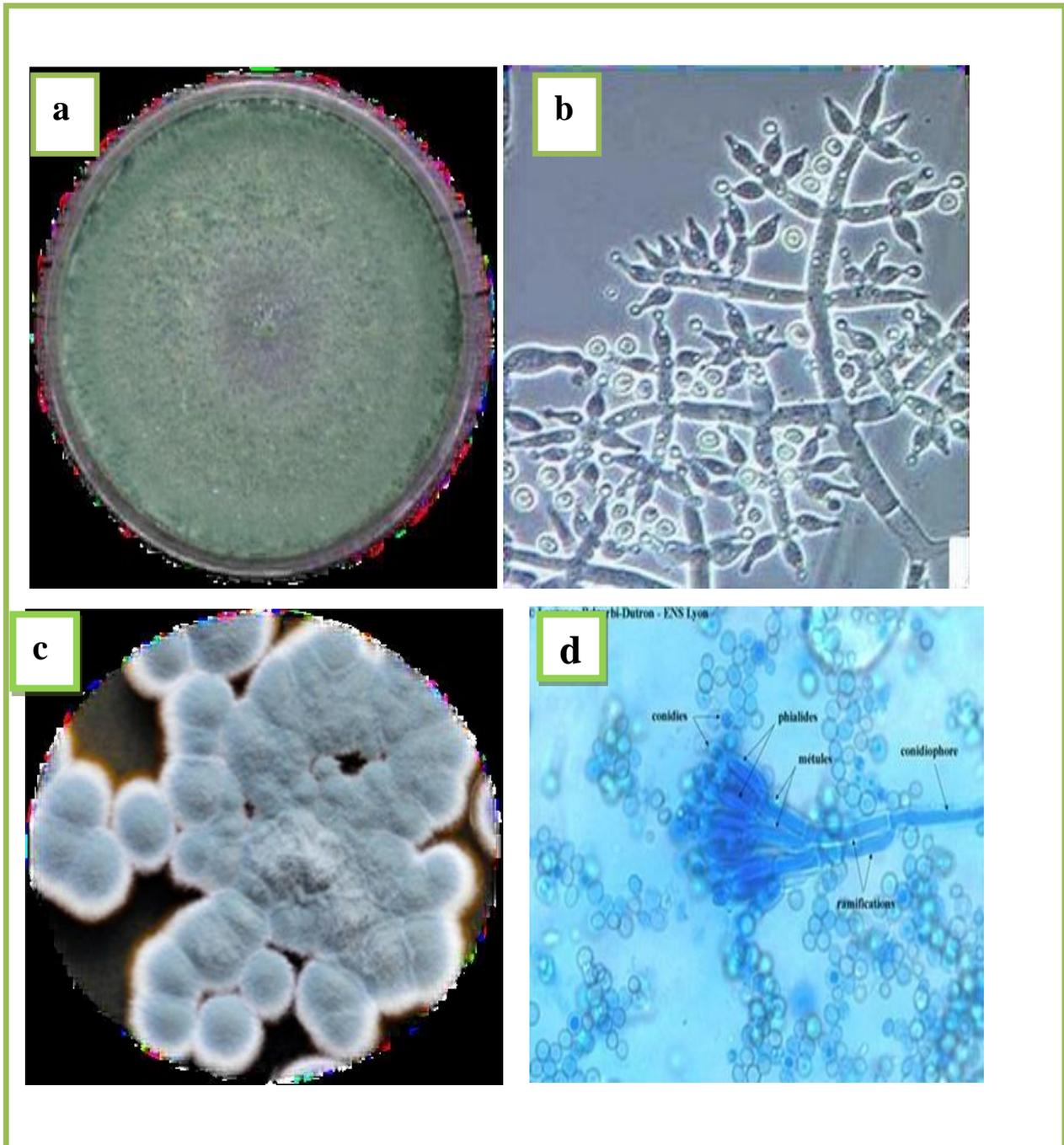
### *Penicillium sp*

➤ **Description** : le *Penicillium sp* chaînes de conidies unicellulaires sont produites en succession basipétale à partir d'une cellule conidiogène (figure n°3 .c), ces phialides sont généralement en forme de cylindrique, les conidies sont en longues chaînes (figure n°3. d).

➤ **Utilisation en biotechnologie** : capables de produire des mycotoxines : l'acide cyclopiazonique, l'acide pénicillique et la patuline ou la clavacine. Aussi la production des antibiotiques et antivirales.



**Figure n°2 :** Aspect morphologiques de *Rhizophagus irregularis* et *Gliocladium catenulatum*. a. mycélium de *Rhizophagus irregularis* (G :10×40) . b spore de *Rhizophagus irregularis* (G :10×40) c. *Gliocladium catenulatum* en boîte de Pétri .d conidies et conidiophores de *Gliocladium catenulatum* (G :10×40).



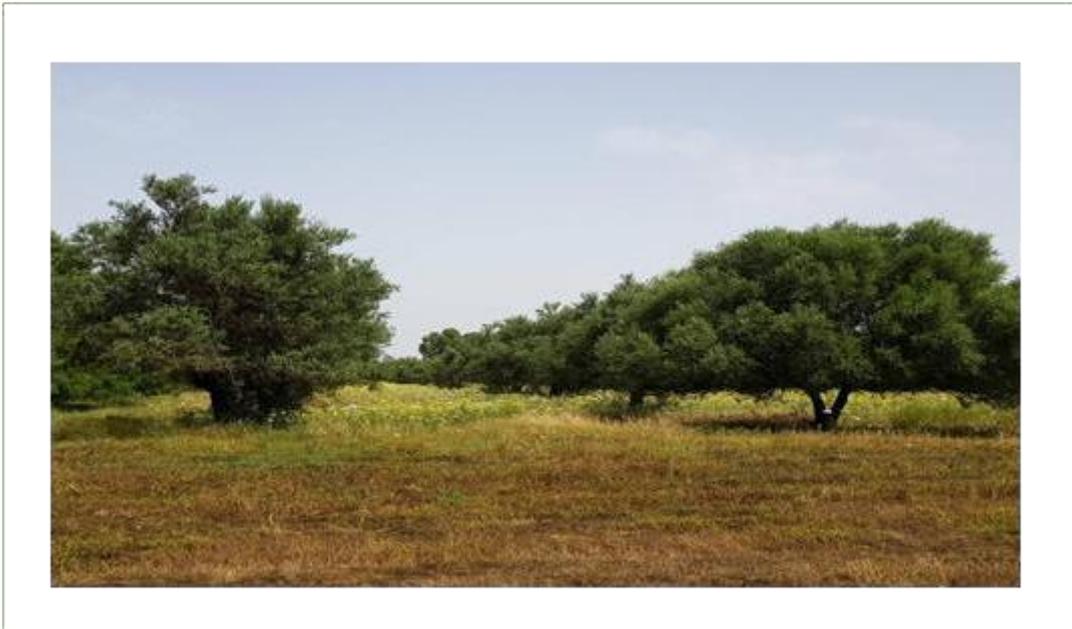
**Figure n°3 :** Aspect morphologiques de *Penicillium* sp et *Trichoderma harzianum*. a. Culture de *Trichoderma* en boîte de Pétri ; b. mycélium et fructification de *T. harzianum* (G :10×40) ; c. Culture de *penicillium* sp sur boîte de pétri ; d. Conidiophores , phyalides et conidies de *Penecillium* sp (G :10×40).

# **Matériels et Méthodes**

### I. Présentation de l'étude

Nous avons réalisé les prélèvements du sol à partir des oliveraies de notre faculté.

Ce choix est motivé par la disponibilité et en considérant que la biomasse microbienne n'est pas très perturbée dans ces sols non cultivés et donc abondante, sur la base de travaux qui rapportent que les sols non cultivés comportent une biomasse riche en microorganismes) (Roesch et *al.*, 2007)



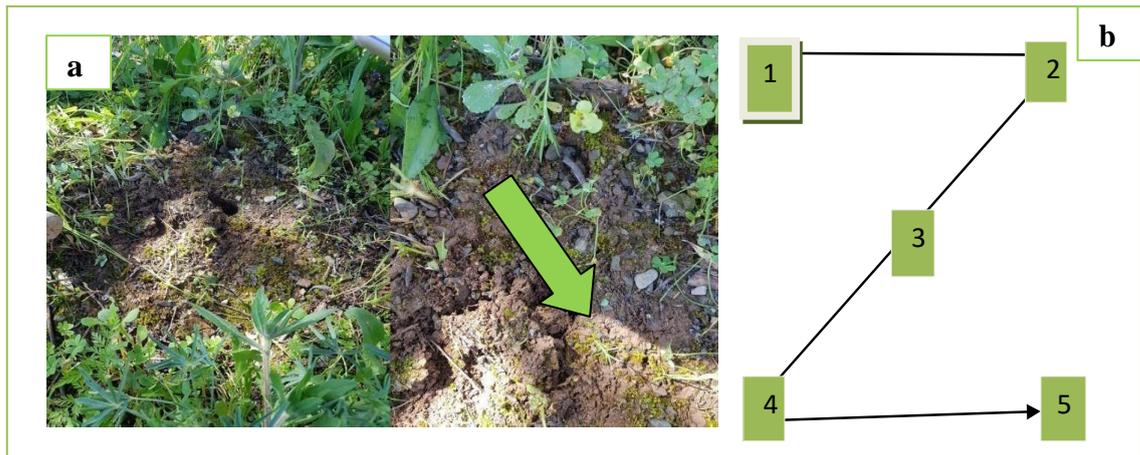
**Figure n°4:** Présentation des lieux des prélèvements des échantillons de sol.

#### Echantillonnage

Les échantillons du sol, ont été prélevés à partir d'une parcelle d'olivier selon un dispositif en forme de zig-zag.

Avec un emporte-pièce on prélève le sol sur une profondeur de 10 à 15 cm. Nous avons effectué cinq (05) échantillons au total, qui ont été réservés dans un contenu en plastique.

Les échantillons ont été transférés au laboratoire et séchés à l'air ambiant pendant 24h à 48h, puis ont été nettoyés des débris, et tamisés pour récupérer la fraction du sol à petite particule.



**Figure n°5** : Méthode d'échantillonnage du sol : a. trou du prélèvement ; b. schéma de la méthode d'échantillonnage en zig-zag.

### Préparation des milieux de culture

#### Milieu d'isolement et multiplication

Nous avons utilisé le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour isoler et multiplier les différents espèces fongiques du sol (annexe)

Le milieu PDA est un milieu de base (standard) pour isoler un grand nombre de champignons. Il est composé de jus de pomme de terre, de sucre et d'un agent gélifiant (agar-agar) (Rapilly, 1968 ; Botton et *al.*, 1990).

200g de pomme de terre on été épluchée puis découpée en lamelle et mise en ébullition pendant 20 minutes. On récupère le jus en le filtrant avec une passoire.

Dans une fiole d'un litre, on verse le jus de pomme de terre additionné de 20g de glucose et 20g d'agar-agar, on ajoute de l'eau distillée au tarit de jauge. L'agar –agar est dissous à la température d'ébullition.

Le milieu a été stérilisé à l'autoclave pendant 20 min à 120°C. Puis répartie dans les boites de Pétri en condition stérile (Rapilly, 1968 ; Botton et *al.*, 1990).



**Figure n°6 :** préparation de milieu d'isolement et multiplication PDA (original).

### **Milieu de conservation**

Le milieu utilisé pour la conservation des champignons, il est composé de 120 g de jus de pomme de terre, et d'un agent gélifiant (agar-agar) (annexe) (Rapilly, 1968).

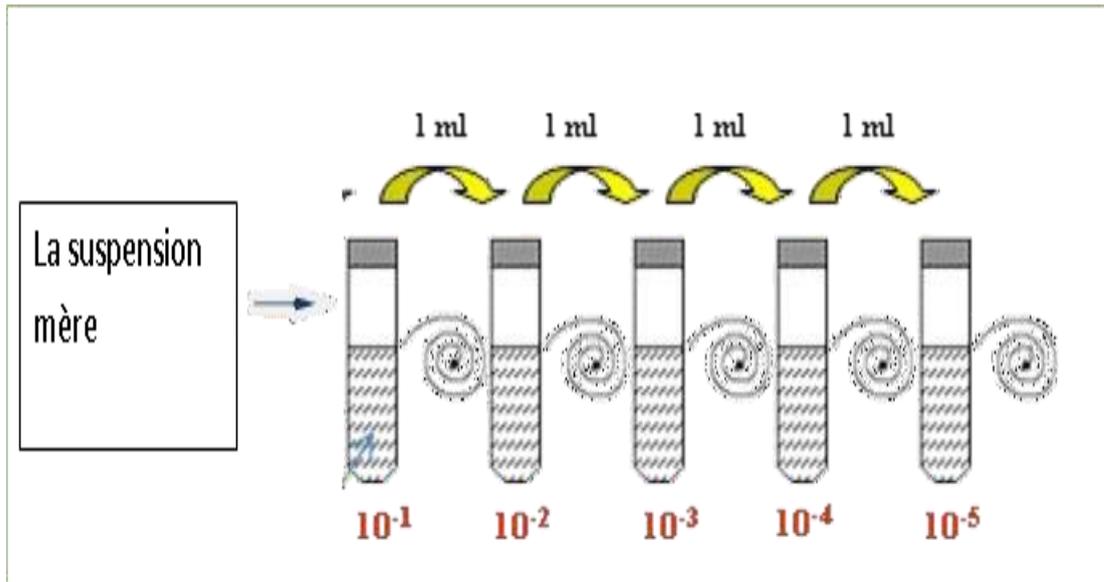
### **II. Isolement**

L'analyse de la mycoflore a été conduite selon la technique de dilution-suspension ou dilution en série telle qu'elle est décrite par Rapilly (1968). Cette technique permet de réduire la charge microbienne dans la solution de sol à analyser pour simplifier la numérotation des colonies.

#### **Dilution en série**

La solution inertiel (ou solution mère) est préparée en mettant 1g de sol dans 9 ml d'eau distillée stérile. La solution est agitée à l'aide d'un vortex pendant 2 minutes afin d'homogénéiser et dissoudre les particules du sol. La suspension obtenue correspond à la concentration  $10^{-1}$ .

A l'aide d'une micropipette, 1 ml de la suspension mère sont prélevé, puis additionner à 9ml d'eau distillé stérile contenu un tube suivant, pour donner la concentration  $10^{-2}$ . La suspension est agitée à l'aide du vortex. Les mêmes étapes sont répétées jusqu'à obtenir la concentration  $10^{-5}$ .



**Figure n°7:** Etapes de la technique de dilutions-suspension.

### L'ensemencement

Pour les besoins d'ensemencement et de numération nous avons retenus les concentrations  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ .

On prélève 0.5 ml à l'aide d'une micropipette en condition stérile qu'on verse dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA et on étale la suspension avec un râtelier en verre.

Sur les boîtes ensemencées on indique, la dilution ainsi que la date d'ensemencement. Il est à noter que deux répétitions sont réalisées pour chaque dilution.

Les boîtes ainsi ensemencées en été incubées pendant 07 jours à une température de  $28^{\circ}\text{C}$  (Rapilly, 1968).

### Repiquage et purification

Après la croissance des colonies, on effectue des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination jusqu'à arriver à isoler une seule colonie d'un champignon donné (Guiraud, 1998).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment du pourtour de colonie à l'aide d'une pipette est déposé au centre d'un milieu PDA sur le quelle on indique la date de repiquage et les coordonnées de la boîte de prélèvement. Les boîtes sont incubées à  $28^{\circ}\text{C}$  pendant 7 jours. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention de culture pure (Rapilly, 1968).

### La conservation des isolats fongiques

Chaque culture fongique ainsi purifiée est ensemencées sur le milieu de conservation contenu dans un tube en verre incliné et mis en incubation pendant une semaine à 28°C.

Une fois la culture fongique est bien développée, elle est stockée a 4°C au réfrigérateur (Botton et *al.*, 1990).

### III. Dénombrement

La détermination de la charge fongique est faite par comptage des colonies et les résultats sont exprimés en nombre d'Unités Formant Colonies (UFC) / g de sol selon la formule ci-dessous (Dutruc-Rosset G., 2003). Seules les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies au niveau de deux dilutions successives sont retenues pour le dénombrement (Dutruc-Rosset G., 2003).

$$N = \frac{\Sigma \text{colonies}}{Vml \times (n1 + 0,1n2) \times d1}$$

Où : N : Nombre d'UFC par gramme de sol ;  $\Sigma$  colonies : Somme des colonies des boîtes interprétables ; V : volume de solution déposée ml ; n1 : nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue ; n2 : nombre de boîtes considéré à la seconde dilution retenue ; d1 : la première dilution retenue.

#### III.1 Le pourcentage

Le pourcentage de la population sur le milieu PDA, par rapport à la charge fongique totale est calculé pour chaque boîte interprétable selon la formule suivante (Dutruc-Rosset G., 2003).

$$\% \text{ AF} = \frac{C.AF}{Ct} \times 100$$

Où % AF : pourcentage de population ; C. AF : nombre de colonies ; Ct : Nombre total de colonies (Dutruc-Rosset G., 2003).

# **Résultat et Discussion**

## Résultats et discussion

---

Les cultures réalisées à partir des dilutions décimales d'échantillon de sol ont abouti à des aspects, de texture et de couleurs différentes sur milieu PDA.

La reconnaissance des espèces fongiques est basée essentiellement sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour, etc.) et sur les observations microscopiques basant sur les caractères du mycélium et des conidies ou spores (forme des spores, forme des organes de fructification, etc.) (Botton *et al*, 1990 ; Guiraud, 1998).

### **I. Etude macroscopique**

#### **L'aspect des colonies**

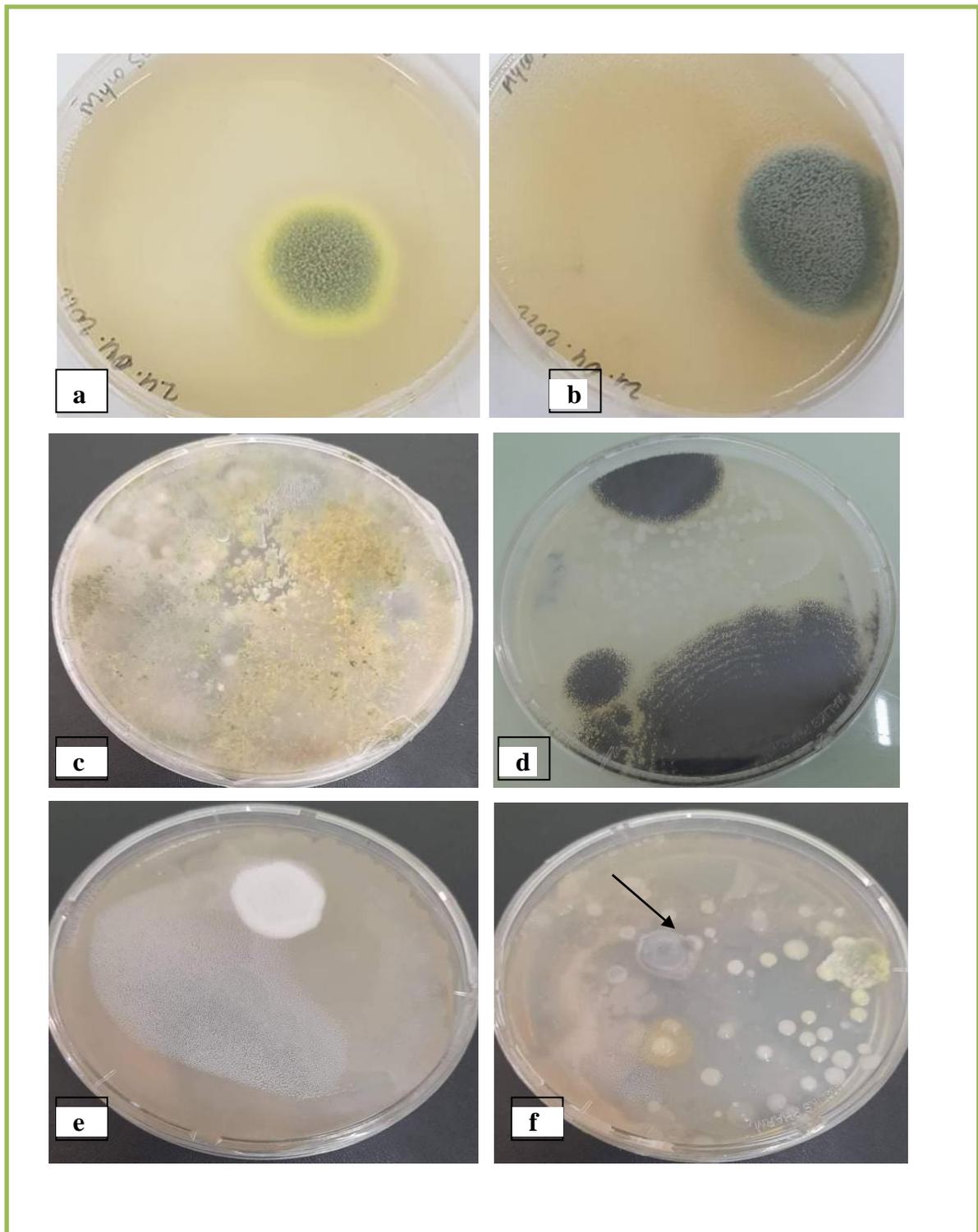
Les champignons forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses, parfois certaines colonies peuvent avoir une apparence glabre, absence ou faible aérien (figure n°8 ; tableau n°3).

#### **Le relief des colonies**

Peut être très variable en fonction des genres fongiques : petites colonies, ou au contraire, colonies étendues, envahissantes (figure n°8 ; tableau n°3).

#### **La couleur des colonies**

Les colonies ont présenté plusieurs couleurs entre le blanc, le jaune, l'orange, allant jusqu'au le vert, le noir (figure n°8 ; tableau n°1).



**Figure n°8 :** Aspect morphologique macroscopique des espèces fongiques dans des boîtes Pétri a. *Aspergillus*, b. *Penicillium* c. *Trichoderma*, d. *Rhizopus*, e. *Fusarium*, f. *Verticillium*

## Résultats et discussion

**Tableau n°01 : L'aspect macroscopique de colonies fongiques obtenues**

Espèce	Couleur	Taille proportionnelle	Aspect	Forme et contour
<i>Aspergillus</i>	Vert foncé à Noirâtre	Grande	Veloutée poudreuse	Circulaire Régulière
<i>Penicillium</i>	Brun verdâtre	Grande	Velouté poudreuse	Circulaire Régulière
<i>Trichoderma</i>	Jaune verdâtre à Verte	Petite, étalés	Laineux et zoné	Circulaire
<i>Rhizopus</i>	Noire	Grande	Duveteux puis granuleux	Circulaire Irrégulière
<i>Fusarium</i>	Blanche	Grande	Floconneux	Circulaire Irrégulière
<i>Verticillium</i>	Blanchâtre passe rapidement à Noirâtre	Moyenne	Cotonneux	Circulaire irrégulière

Sur la base de la morphologie des colonies dans les boîtes de Pétri, nous avons pu reconnaître six (06) populations appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Verticillium*, (figure n°8). *L'Aspergillus* a présenté une couleur vert foncé et un aspect velouté à poudreux.

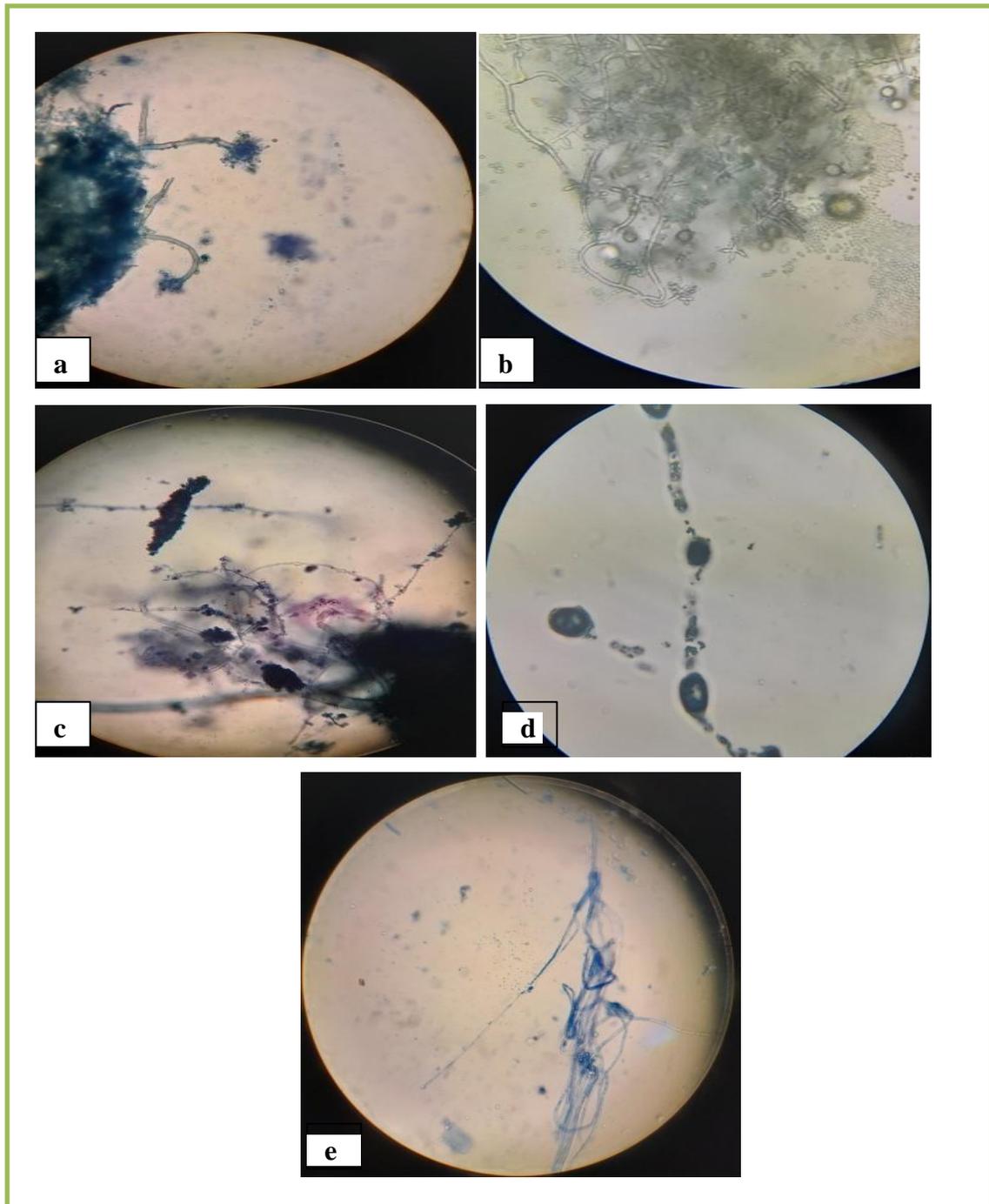
Le genre *Penicillium* a une couleur brun verdâtre et un aspect velouté. *Trichoderma* a montré une couleur jaune verdâtre et un aspect laineux et zoné. *Rhizopus* a présenté une couleur noire et un aspect duveteux puis granuleux. *Fusarium* a donné une couleur blanche et un aspect floconneux (figure n°8).

Le *Verticillium* a montré une couleur blanchâtre qui passe rapidement à noirâtre avec un aspect cotonneux (figure n°8).

## Résultats et discussion

### II. Etude microscopique

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame et lamelle et coloration de la préparation au bleu de méthylène (figure n°9) (Cahagnier et Richard-Molard ., 1998)



**Figure n°9:** Aspect microscopique des espèces fongiques au grossissement 10×40

a. *Aspergillus* ; b. *Trichoderma* ; c. *Rhizopus* ; d. *Verticillium* ; e. *Fusarium*.

## Résultats et discussion

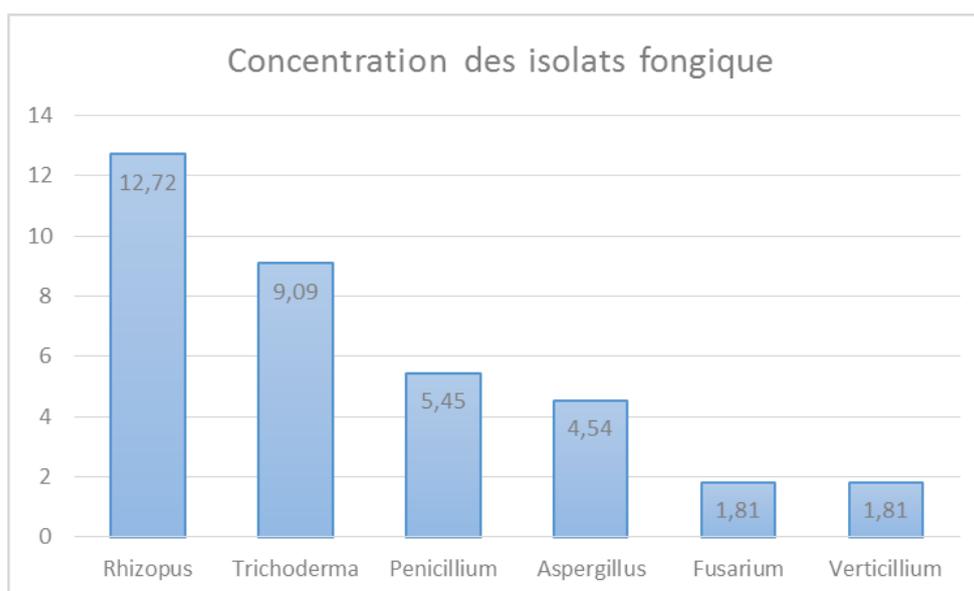
### III. Dénombrement

Le calcul de la concentration et le pourcentage ont révélé que le genre *Rhizopus* possède les valeurs les plus élevées avec une concentration de  $12,72 \times 10^3$  UFC /g et un pourcentage de 35,89%.

Nous avons obtenus d'autres genres tels que *Trichoderma* avec une concentration de  $9,09 \times 10^3$  UFC /g et un pourcentage de 25,61%, suivi de genre *Penicillium* avec une concentration de  $5,45 \times 10^3$  UFC /g et un pourcentage de 15,38%, l'*Aspergillus* a donné une concentration de  $4,54 \times 10^3$  UFC /g et un pourcentage de 12,82%, une concentration de  $1,81 \times 10^3$  UFC/g et un pourcentage de 5,12% pour les deux genres *Fusarium* et le *Verticillium*.

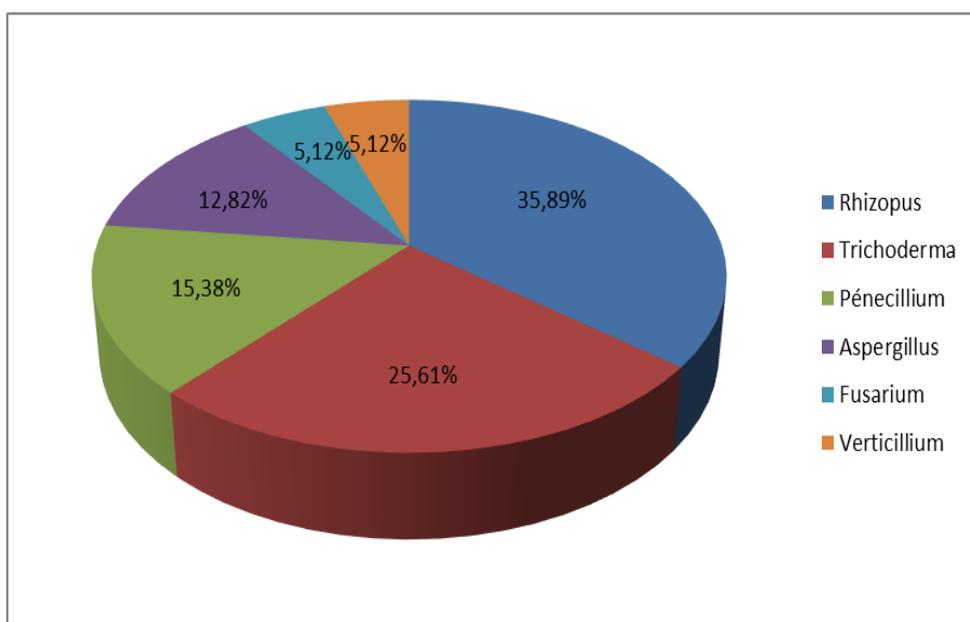
**Tableau n°2** : Concentration et taux de biomasse des populations fongiques obtenus

Genre	Concentration ( $10^3$ UFC /g)	Pourcentage (%)
<i>Rhizopus</i>	12,72	35,89
<i>Trichoderma</i>	9,09	25,61
<i>Penicillium</i>	5,45	15,38
<i>Aspergillus</i>	4,54	12,82
<i>Fusarium</i>	1,81	5,12
<i>Verticillium</i>	1,81	5,12



**Figure n°10** : Concentration des isolats fongique

## Résultats et discussion



**Figure n°11** : Pourcentage des isolats fongiques.

Ce cercle représente les fréquences de champignons isolés du sol. Nous constatons que le plus grand pourcentage est enregistré par *Rhizopus*, suivi de *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*.

*Fusarium* et *Verticillium* ont enregistré les plus faibles valeurs.

Les différents microorganismes isolés ont été conservés afin de contribuer à installer une banque mycologique pour des études ultérieures.

#### IV. Discussion générale

Ces genres fongiques sont présents dans la majorité des sols, des travaux rapporte que *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Rhizopus* sont des souches autochtones, habituellement isolées à partir de la plupart des sols (Alvarez-Rodriguez et *al.*, 2003 et Boiron, 1996).

La biomasse de ces populations peut changer selon le contenu de matières organiques du sol, la texture du sol, le pH, l'humidité, la température, et d'autres facteurs climatiques (Ruark et Zarnoch, 1992 ; Madigan et *al.*, 1997 ; Subler et Kirsch, 1998 ; Peuk, 2000 ; Smith et *al.*, 2000 )

Cependant les populations fongiques sont variables d'un type de sol à un autre. Dans notre cas, nous avons mis en évidence la présence des populations fongiques diversifiées au

## Résultats et discussion

---

genre *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Verticillium*. Abdelaziz (2006) a pu isoler le genre *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* à partir du sol.

Le genre *Rhizopus* est un champignons qui existe dans les sols. La majorité des espèces de *Rhizopus* sont saprobiques (décomposeurs) et se nourrissent d'une variété de matière organique morte (Lennartsson et al., 2014)

Dans notre analyse le genre *Rhizopus* a enregistré une majorité de la biomasse microbienne dans le sol échantillonné.

Effectivement, le sol du verger des oliviers contient une couverture importante de matière organique et des débris végétaux. Ce qui peut expliquer l'abondance obtenu de la population de *Rhizopus* dans le sol analysé.

Nous avons remarqué que les genres *Trichoderma*, *Penicillium*, *Aspergillus* ont présenté des valeurs de concentration et de pourcentage assez importantes, ce qui peut indiquer que leur présence dans le sol est considéré bénéfique surtout par leur action probable d'antagonisme par compétition sur les populations microbiennes pathogènes dans le sol.

En effet, les genres *Fusarium* et *Verticillium* ont présenté une biomasse très faible à comparer avec les populations fongiques déjà discutés. A savoir que *Fusarium* et *Verticillium* sont des microorganismes fongiques pathogènes qui vivent dans le sol.

Notre analyse de sol a aussi révélé la présence du *Verticillium*, pathogène qui attaque les oliviers, ce qui explique que certains oliviers du verger (endroit du prélèvement) souffrent d'un état de dépérissement, selon notre observation in situ.

Parmi les genres que nous avons isolés, certains ont aussi présenté, selon la bibliographie, des intérêts en biotechnologie tels que les genres *Rhizopus*, ces champignons présentent un métabolisme complexe et produisent une variété d'enzymes, la production d'aliments et de boissons fermentés. Le genre *Trichoderma* largement utilisé pour la production d'antibiotiques, améliorent la croissance et la productivité des plants, possèdent un effet suppressif des maladies dans le sol en tant que champignons antagonistes (Bigirimana et al., 1997).

# Conclusion

# Conclusion

---

## Conclusion

Le sol contient une diversité de microorganismes, entre-autre fongiques, aussi bien intéressante pour les plantes qu'en biotechnologie.

Notre travail consiste à étudier la mycoflore d'un sol, échantillonné à partir des vergers des oliviers de notre faculté, dans le but de mettre en évidence l'intérêt des populations fongiques pouvant exister.

Les résultats de notre travail montrent une abondance de la population du genre *Rhizopus* avec une concentration de  $12,72 \times 10^3$  UFC/g et un pourcentage de 35,89%, et d'autres genres tels que *Trichoderma* avec une concentration de  $9,09 \times 10^3$  UFC/g et un pourcentage de 25,61%, suivi de *Penicillium* avec une concentration de  $5,45 \times 10^3$  UFC/g et un pourcentage de 15,38%, puis *Aspergillus* avec une concentration de  $4,54 \times 10^3$  UFC/g et un pourcentage de 12,82%. Nous avons aussi retrouvé des espèces de populations pathogènes à faible biomasse des genres *Fusarium* et *Verticillium* avec une même concentration de  $1,81 \times 10^3$  UFC/g et un pourcentage de 5,12%, (agent causal de verticilliose chez les oliviers).

D'après les analyses que nous avons obtenus, il semble que le sol des oliveraies contient une biomasse microbienne assez abondante et bénéfiques surtout composés de microorganismes fongiques décomposeurs, vu le couvert en matière organique et débris végétaux. Il existe notamment des agents pathogènes fongiques mais de moindre abondance. La collection des quelques genres que nous avons pu isolés à partir de ce sol, peut constituer une possible banque mycologique à intérêt biotechnologique aussi bien dans le domaine agricole ou bien industriel, selon les capacités bénéfiques de ces populations isolées.

Au terme de ce travail quelque perspective peut être envisagée :

- ❖ engager des études ultérieures pour mettre en valeur leur intérêt dans la biotechnologie ou d'autre domaine tel qu'agriculture.
- ❖ Nous envisager de continuer les recherches est testé d'autre méthodes, valorisé les espèces.
- ❖ Effectuer plusieurs d'échantillonnage pour augmenter le nombre des espèces fongique du sol isolé.
- ❖ Déterminer les principaux métabolites synthétisés par ces champignons, qui auraient un impact bénéfique.
- ❖ engager des études ultérieures pour mettre en valeur leur intérêt dans la biotechnologie ou d'autre domaine tel qu'agriculture.
- ❖ Reconnaître des espèces fongique étude plus précise, et créer une banque mycologique en riche.

# **Références**

# **Bibliographiques**

## Références bibliographique

---

### Références bibliographique

**Alexander M. (1977).** Introduction to soil microbiology. 2<sup>ème</sup> Wiley J. et Sons Ed. Inc. NY. 467pp.

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

**Albino, U.B. et Andrade, G. (2006).** Évaluation du groupe fonctionnel des micro-organismes comme bioindicateurs sur le microcosme de la rhizosphère. In : Rai M.K. (ed) Hand book of Microbial Biofertilisants. Presse de produits alimentaires. 29-49 pp.

**Ali, I., Akbar, A., Anwar, M., Yanwisetpakdee, B., Prasongsuk, S., Lotrakul, P. and Punnapayak, H. (2014).** Purification and characterization of extracellular, polyextreilic a-amylase obtained from halophilic *Engyodontium album*. Iranian J.Biotech. 35-40 pp.

**Adjanooun A., Baba-Moussa L.S., Dagbénonbakin G., Saïdou A et Toukourou F. (2017).** Utilisation des microorganismes du sol pour accroître la productivité agricole. Ed. Isbn, Bénin. 76 p

**Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1990) .** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2<sup>ème</sup> édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34-428.

**Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. & Veau P. (1999).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. Masson. Paris.

**Burgstaller et Schinner. (1993).** Leaching of metals with fungi. Journal of Biotechnology, vol. 27pp.

## Références bibliographique

---

**Brundrett M.C. (2009)** Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. 37-77pp.

**Baltazar, M., Correia, S., Guinan, K. J., Sujeeth, N., Bragança, R., et Gonçalves, B. (2021).** Recent advances in the molecular effects of biostimulants in plants: An overview. In Biomolecules.

**Bigirimana, J., Meyer, G. de, Poppe, J., Hoefte, Elad, Y. (1997).** Induction of systemic resistance on bean by trichoderma harzianum. In Mededelingen- Faculteit Landbouwkundige en toegepaste Biologische Wetenschappen Universiteit Gent.

**Clark H.E., Geldriche E.F.B., Kabler P.W. et Huff C.B. (1985).** Identification of Industrial microorganismes. Appl. Microbiol. Process Biochem.

**Chabasse, D. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, Bioforma. France. 25-27pp.

**CHITINE F. (2005).** Sol-Actif agent naturel de bio-stimulation. Protéger les plantes en restaurant la biodiversité dans les agro-écosystèmes. PEE, 2pp.

**Davet, P., et Rouxel, F. (1997).** Detection et isolation des champignons du sol. INRA. Paris. 17-54pp.

**Dutruc-Rosset G. (2003).** Techniques analytiques et de contrôle (Codex oenologique). Partie microbiologique. Office International de la Vigne et du Vin, 23pp.

**Fatima S.A ., Khalid .M., Muhammad .A ., Akbar. A ., Samiullah, Junaid .B ., Said. Q., Imran. A. (2016)** Biotechnologie of Penicillium Genus.

**Frac M, Hannula S.E, Belka M et Je dryczka, M. (2018).** Fungal Biodiversity et Their Role in Soil Health.

**Johanne C. (2002).** Le pouvoir antagoniste de *Trichoderma* phytopathologiste Horti-

## Références bibliographique

---

Protection inc. Conférence présentée lors des journées horticoles régionales à St-Rémi.

**Gobat J. M., Aragno M. et Matthey W. (2003).** Le sol vivant bases de pédologie biologie des sols. Deuxième édition, Presse polytechniques et universitaires romandes. 568 pp.

**Gobat J.M, Aragno M et A., Matthey W. (2004).** The living soil fundamentals of soil science and soil biology. Science Publishers, Enfield.

**Gobat J., Aragno M et Matthey W. (2010).** Le sol vivant bases de pédologie, biologie des sols. PPUR Presses polytechniques. 255-260 pp.

**Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I. et Lorito M. (2004).** Trichoderma species opportunistic a virulent plant symbiont. Nature Reviews Microbiology. 43-56 pp.

**Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. (2004).** Trichoderma species opportunistic avirulent plant symbionts. 43–56 pp.

**Houbraken J.; Frisvad C.; Robert A. (2011).** Fleming's Penicillin producing strain is not *Penicillium chrysogenum* but *P. rubens*.

**Kirk P.M., Cannon P.F., David J.C. et Stalpers J.A. (2001).** Dictionary of the Fungi, 9<sup>th</sup> ed., Walling ford, UK, CABI Publishing.

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

**Lavelle P et Spain A. (2001).** Soil organisms .Soil ecology Ed. Springer. New York, 654pp.

**Lecellier A. (2013).** Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. These de Doctorat, Biologie-Biophysique, Université Reims Champagne-Ardenne.

## Références bibliographique

---

**Locatelli A. (2013).** Prévalence de pathogènes humains dans les sols français, effet des facteurs pédoclimatiques, biologiques et du mode d'utilisation des sols (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne. 3pp.

**Metting F. (1992).** Soil microbial ecology: applications in agricultural and environmental management. Marcel Dekker Inc. NY. 646edxxxxxxxxxxxxxxxxpp.

**Mueller G.M., Schmit J.P. (2007).** Fungal biodiversity: what do we know what can we predict biodiversity and Conservation. 1-5pp.

**Nor H.A et Norazwina Z. (2018).** Isolation and identification of soil fungi isolates from forest soil for flooded soil recovery IOP Conf.

**Onodera, Y. KH., Mukumoto Y., Katsuyaya, Y., Saiganji, A., Tani, Y. (2001).** Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Polym. Degrad. Stabil.* 72:323.

**Patterson T. F., McGinnis, M. R. (2009).** The fungi: description. Site Doctor Fungus.

**Quénéa K., Derenne S., Largeau C., Rumpel C., Mariotti A. (2004).** Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil. *Org Geochem* 35: 1355–1370.

**Rapilly F. (1968).** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Epiphyties* Volume 19. Edition INRA, Paris. pp. 25-39.

**Roger P.A et Garcia J.L., (2001).** Introduction à la microbiologie du sol. Cou. Dép, Gén, Bio. Mic, App., Ecole Sup. Ing. Univ. Provence., la Méditerranée, France, 192pp.

**Roger P et Garcia J.L. (2001).** Introduction à la Microbiologie du sol. Ed. Marseille, 192pp.

**Rabie G.H. (2005).** Role of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of soilrhizosphere spiked with poly aromatic hydrocarbons. *Mycobiology.* 33-41pp.

## Références bibliographique

---

**Roesch L.F., Fulthorpe R.R., Riva A, et al. (2007).** Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. 283-290pp.

**Stengel P., and Gelin S. (1998).** Sol: interface fragile. Editions Quae.

**Stajich J.E., Berbee M.L., Blackwell M., Hibbett D.S., James T.Y., Spatafora J.W., Taylor J.W. (2009).** Primer—the fungi. *Current Biol.* 19, R840.

**Smaoui S. (2010).** Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de doctorat en Génie de Procédés et environnement. Université de Toulouse. France : 251pp.

**Sidhoum W. (2011).** Diversité des mycorhizes arbusculaires chez la variété sigoise d'olivier (*Olea europaea*) étude de leurs efficacités sur la croissance des plantes, intérêt des m.oenagriculture, Univ. Oran, Algérie, 180pp.

**Thorn G., Elsas J.D., Trevors J.T et Wellington E.M.H. (1997).** The fungi in soil. *Modern soil microbiology*, 63-127pp.

**Taylor D.L et Robert L. Sinsabaugh. (2015).** The Soil Fungi: Occurrence, Phylogeny, and Ecology. New Mexico DOI: 10.1016/B978-0-12-415955-6.00004-9.

**Wainwright M. (1992).** An Introduction to Fungal Biotechnology. John Wiley & Sons. 202pp.

**Wang C.J.K et Zabel R.A. (1992).** Identification manual for fungi from utility poles in the eastern United States. Ed. State University of New York Press. 356 pp.

**Zak J.C., Willig M.R., Moorhead D.L et Wildman H.G. (1994).** Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1101-8.

**Zhang, D., Duine J.A et Kawai F. (2002).** The extremely high Al resistance of *Penicillium janthinellum* F-13 is not caused by internal or external sequestration of Al. *Biometals.* 15:167–174pp.

## Références bibliographique

---

**Zarafi A.B et Dauda W.P. (2019).** Exploring the importance of fungi in agricultural biotechnology.

### **Sites webs**

[https://www.researchgate.net/publication/319480773\\_Biotechnology\\_of\\_Penicillium\\_Genus](https://www.researchgate.net/publication/319480773_Biotechnology_of_Penicillium_Genus)

[https://wiki.tripleperformance.fr/wiki/Trichoderma#cite\\_note-3](https://wiki.tripleperformance.fr/wiki/Trichoderma#cite_note-3)

[https://www.researchgate.net/publication/319480773\\_Biotechnology\\_of\\_Penicillium\\_Genus](https://www.researchgate.net/publication/319480773_Biotechnology_of_Penicillium_Genus)

<http://droguet-sebastien.e-monsite.com/pages/activites-technologiques-terminale-2014-2015/at03-etude-des-mycetes.html>

<https://doi.org/10.3390/biom11081096>

## Annexe01

**Tableau n°1 :** Composition pour 1 litre de milieu PDA

<b>Constituants</b>	<b>Quantités</b>
Pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
L'agar- agar	20g
L'eau distillée	1L

**Tableau n°2:** Composition pour 1 litre de milieu de conservation

<b>Constituants</b>	<b>Quantités</b>
Pomme de terre	120g
Agar-agar	15 à18 g
L'eau distillée	1L

## Annexe 02 : Matériels utilisés



\_ Agitateur magnétique



\_ Incubateur



\_ bec bunsen



\_ Fiole



\_ Boite pétrie



\_ Flacon



\_ Balance



\_ Tube à essai



\_ Tube creux