

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Biotechnologies et Agro-écologie
Mémoire de Fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

Recherche de microorganismes bénéfiques à partir de la rhizosphère

Présenté Par :

Mlle LAREF Khaoula

Mlle AKROUT Nour El Houda

Membre du jury:

Président : BENSAID F. M.A.A. Université Blida1

Examinatrice : MEKHALDI D. Docteur Université Blida1

Promotrice : BENKORTEBY H. M.A.A. Université Blida1

2021/2022

Remerciement

Avant tous, nous remercions **ALLAH** de nous avoir donné le courage, la patience et la chance d'étudier et suivre, le chemin de la science.

Nous remercions Mme **BENSAID F .** de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements vont également à Mme **MEKHALDI D .** d'avoir pris le temps d'examiner notre mémoire et d'avoir accepté de participer à ce jury.

Nous tenons à remercier plus particulièrement Mme **BENKORTEBY H .** qui nous a régulièrement suivis dans la réalisation de ce travail, pour son soutien, ses conseils, sa simplicité, sa générosité scientifique et ses qualités humaines.

Nous remercions également toute l'équipe du laboratoire de notre Université

Enfin, nos profonds remerciements s'adressent à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance à :

Mes parents

Ma très chère mère **Zineb** la lumière de mes jours la Source de mes efforts la flamme de mon cœur merci pour ton amour ta tendresse ta présence et ta patience.

Mon père **Rachid** l'homme de ma vie mon exemple éternel ma Source de joie et de bonheur merci pour les valeurs nobles l'éducation et le soutien permanent Venu de toi.

Ce travail est le résultat de longues années de sacrifices et de privations que vous consentis pour mon éducation, et ma formation. Vous m'avez inculqué la droiture, la tolérance et l'amour.

Je vous souhaite la bonne santé et que dieu vous garde.

Acceptez ce travail comme le fruit de vos sacrifices.

À mes frères **Ismail, Mohamed** et **Abderrahmane** que je souhaite un avenir radieux plein de réussite, que dieu les protèges.

A ma sœur **Bessma** et son fils **Zino** pour leur présence et leur amour

Ma binôme **Houda** qui a été à mes côtés durant cette expérience, et avec laquelle j'ai partagé de très bons moments et qui je la souhaite beaucoup de bonheur et réussite.

Je tiens à remercier mon trésor et cher homme **Mohamed** qui m'a beaucoup soutenu et encouragé à réaliser ce travail.

Khaoula

Dédicace

Je dédie ce Modest travail

A ma mère **Rachida** source d'affection de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour.

A mon père **Tahar** source de respect, en témoignage de ma profonde reconnaissance pour tout l'effort et le soutien incessant qui m'a toujours apporté.

A mon frère **Zinou** et ma sœur **Hadil**.

A tous ma famille **AKROUT** et **DJANINE**.

En particulière, je dédie ce travail à ma copine et sœur, à qui je lui souhaite un succès durable

Ma binôme : **LAREF khaoula**.

A tous me amis.

Houda

Recherche de microorganismes bénéfiques à partir de la rhizosphère

Résumé

La rhizosphère est la région du sol influencée par les racines et les micro-organismes associés. Cette région est caractérisée par sa biodiversité microbienne, et notamment sa richesse en bactéries et champignons microscopiques qui peuvent exercer plusieurs activités bénéfiques sur les plantes. Ces microorganismes ont aussi été utilisés dans plusieurs applications biotechnologiques, dans différents domaines tels que l'agriculture, d'où la nécessité d'investir la rhizosphère pour bien les étudier.

A cet effet, nous avons réalisé des isolements à partir de la rhizosphère d'une espèce végétale cultivée (l'orge, *Hordeum vulgare*) dans le but de rencontrer des microorganismes, dont les genres sont connus pour leurs intérêts bénéfiques aussi bien pour la plante qu'en biotechnologique. Les résultats obtenus indiquent la présence des microorganismes intéressants dans la rhizosphère de l'orge, avec une majorité dominante du genre *Trichoderma* à un pourcentage de 33,33%, suivi d'*Aspergillus* avec 23,8% et *Cladosporium* à 19,4%. Il a été aussi noté la présence d'*Alternaria* à 14,24% et *Fusarium* à 9,52%. Les isolats ainsi obtenus ont été purifiés et conservés pour des études ultérieures.

Mots clés : Sol, rhizosphère, microorganismes bénéfiques, isolement, biotechnologie.

Search for beneficial microorganisms from the rhizosphere

Abstract

The rhizosphere is the region of soil influenced by roots and associated microorganisms. This region is characterized by its microbial biodiversity, and in particular its richness in bacteria and microscopic fungi which can exert several beneficial activities on plants. These microorganisms have also been used in several biotechnological applications, in different fields such as agriculture, hence the need to invest in the rhizosphere to study them well.

To this end, we carried out isolations from the rhizosphere of a cultivated plant species (barley, *Hordeum vulgare*) in order to meet microorganisms, whose genera are known for their beneficial interests both for the plant than in biotechnology. The results obtained indicate the presence of interesting microorganisms in the barley rhizosphere, with a dominant majority of the genus *Trichoderma* at a percentage of 33.33%, followed by *Aspergillus* with 23.8% and *Cladosporium* at 19.4%. It was also noted the presence of *Alternaria* at 14.24% and *Fusarium* at 9.52%. The isolates thus obtained were purified and stored for subsequent studies.

Keywords: Soil, rhizosphere, beneficial microorganisms, isolation, biotechnology.

البحث عن الكائنات الحية الدقيقة المفيدة من منطقة الجذور

ملخص

الجذور هي منطقة التربة المتأثرة بالجذور والكائنات الحية الدقيقة المرتبطة بها. تتميز هذه المنطقة بالتنوع البيولوجي الميكروبي ، وعلى وجه الخصوص ثرائها في البكتيريا والفطريات المجهرية التي يمكن أن تمارس العديد من الأنشطة المفيدة على النباتات. تم استخدام هذه الكائنات الحية الدقيقة أيضًا في العديد من تطبيقات التكنولوجيا الحيوية ، في مجالات مختلفة مثل الزراعة ، ومن ثم الحاجة إلى الاستثمار في منطقة الجذور لدراستها جيدًا

لهذا الغرض قمنا بعزل من المنطقة المحيطة بالجذور لنوع نباتي (الشعير) مزروع من أجل مقابلة الكائنات الحية الدقيقة ، التي يُعرف أجناسها بفوائدها المفيدة للنبات أكثر من التكنولوجيا الحيوية. تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى وجود كائنات دقيقة مثيرة للاهتمام في منطقة المحيطة بالجذور للشعير ، مع الغالبية السائدة من نوع تريكودرما بنسبة 33.33% ، تليها اسبرجيلوس بنسبة 23.8% وكلاوسوريوم بنسبة 19.4% . كما لوحظ وجود *الترنريا* بنسبة 14.24% و فيوزاريوم بنسبة 9.52% . تم تنقية العزلات التي تم الحصول عليها بهذه الطريقة وتخزينها للدراسات اللاحقة

الكلمات المفتاحية: التربة ، المنطقة المحيطة بالجذور ، الكائنات الحية الدقيقة المفيدة ، العزل ، التكنولوجيا الحيوية.

Liste des figures

Figure 01 : Représentation schématique des zones de la rhizosphère.....	05
Figure 02 : Types principaux de mycorhizes.....	09
Figure 03 : Comparaison entre les différents types de mycorhizes.....	10
Figure 04 : Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère.....	17
Figure 05 : Préparation des échantillons et présentation de la zone de prélèvement.....	24
Figure 06 : Préparation de milieu de culture PDA.....	25
Figure 07 : Aspect morphologique de différentes colonies fongiques obtenues.....	30
Figure 08 : Observation microscopique de deux isolats fongique	31
Figure 09 : Le pourcentage de la flore fongique de l'orge.....	31
Figure 10 : Concentration de l'espèce dans 1 g de sol (UFC/g).....	32

Liste des tableaux

Tableau 01 : Les différentes catégories de rhizodépôts selon leur composition biochimique et leur mode de libération.....	06
Tableau 02 : Applications biotechnologique des métabolites de certains champignons et bactéries de la rhizosphère.....	20
Tableau 03 : Les caractères macroscopique des isolas fongiques.....	29
Tableau 04 : Fréquences et concentration des espèces fongiques de sol de rhizosphère d'orge.....	31

Liste des abréviations

CMA : Champignons mycorhiziens arbuscule.

PGPR : Plant growth promoting rhizobacteria (Bactéries promotrices de la Croissance des Plantes).

AIA : Acide indole acétique.

P : Phosphore.

N : Azote.

UFC : Unité format colonie.

PDA : Potato dextrose agar

Table de Matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....01

Chapitre 1 : partie bibliographique

I. Généralité sur la rhizosphère.....04

I.1.La rhizosphère.....04

I.2.Activité de la rhizosphère.....05

I.3.Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère.....06

I.4.Microbiologie du sol de la rhizosphère.....06

II. Microorganismes bénéfiques à la plantes07

II.1.Les Champignons bénéfiques à la plante.07

II.1.1.Les mycorhizes.08

II.1.1.1.Les endomycorhizes.08

II.1.1.1.a.Endomycorhizes à arbuscules.08

II.1.1.1.b.Endomycorhizes à pelletons intercellulaires.....08

II.1.1.1.c.Endomycorhizes éricoïdes.....	08
II.1.1.1.d.Ectendomycorhizes.....	09
II.1.1.2.Ectomycorhizes.....	09
II.1.1.3.Gloméromycète.....	10
II.1.2.Le genre <i>Trichoderma</i>	10
II.1.2.1.Historique et taxonomie.....	10
II.1.2.2.Morphologie.....	12
II.1.2.3.Ecologie.....	12
II.1.2.4.Utilisation de <i>Trichoderma</i>	13
II.2.Les bactéries bénéfiques à la plante.	13
II.2.1.Les Rhizobia.....	13
II.2.2.Les diazotrophes.....	14
II.2.2.1. <i>Azotobacter</i>	14
II.2.2.2. <i>Azospirillum</i>	14
II.2.3. <i>Pseudomonas</i>	14
II.2.4. <i>Bacillus</i>	14
II.3.Autres microorganismes bénéfiques à la plante.....	15
II.3.1.Les protozoaires.....	15
II.3.2.Les nématodes.....	15
III. Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes et la protection contre les maladies.....	15
III.1.Mécanismes des champignons impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes et la protection contre les maladies.....	15

III.1.1.Absorption de l'eau et des éléments nutritifs.....	15
III.1.2.La protection contre les agents pathogènes.....	16
III.1.3.La production de phytohormones.....	16
III.1.4.Agrégation des sols.....	17
III.1.5.Résistance au stress hydriques.....	17
III.2.Mécanismes des bactéries impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes et la protection contre les maladies.....	17
III.2.1.Les PGPR phytostimulatrices.....	18
III.2.1.1.La fixation de l'azote.....	18
III.2.1.2.La solubilisation du phosphate.....	18
III.2.1.3.La solubilisation du potassium.....	18
III.2.1.4.La production des sidérophores.....	18
III.2.1.5.La production des phytohormones.....	18
III.2.2.Les PGPR phytoprotectrices.....	19
III.2.2.1.La compétition pour l'espace et les nutriments.....	19
III.2.2.2.L'Antibiose.....	19
III.2.2.3.Le parasitisme.....	19
III.2.2.4.Résistance systémique induite ISR (Induced Systemic Resistance).....	20
IV. Applications biotechnologiques des microorganismes de la rhizosphère.....	20

Chapitre 2: Matériels et méthodes

I. Objectif de l'étude.....	23
------------------------------------	-----------

II. Présentation de la station d'échantillonnage.....	23
III. Préparation de milieu de culture.....	24
III.1.Milieu d'isolement et multiplication.....	24
III.1.1. Milieu PDA (Potato dextrose agar)	24
III.2.Milieu de conservation.....	25
IV. isolement.....	25
IV.1.Dilution en série.....	25
IV.2.Ensemencement.....	26
V. Dénombrement des colonies.....	26
VI. Purification.....	27
VII. Caractérisation morphologiques des colonies obtenues	27
VIII.Conservation des isolats.....	27

Chapitre 3 : Résultats et discussion

I. Résultats	29
I.1.Caractérisation macroscopique.....	29
I.2.Caractérisation microscopique.....	32
II. Discussion	32
III. Conclusion.....	36
Références bibliographiques.	

Introduction

Dans le sol, la rhizosphère associée aux plantes représente l'écosystème le plus dynamique assurant une association étroite entre les racines des plantes et les communautés microbiennes, un grand nombre de ces microorganismes sont bénéfiques à la plantes, tels que les mycorhizes et les bactéries stimulant de la croissance des plantes (Lugtenberg et *al.*, 2013).

Ces microorganismes ont une grande importance biotechnologique dans plusieurs domaines d'application en agriculture, en médecine et en industrie notamment pharmaceutique, textile et agroalimentaire (Maddau et *al.*, 2004).

Il a été démontré que leur présence dans la rhizosphère peut réduire considérablement l'utilisation de produits chimiques. Ils agissent aussi sur la stimulation de la croissance, du développement des plantes et le rendement des cultures par leur action de synthèse de phytohormones et l'apport en nutriments et minéraux assimilables tels que l'azote, le phosphate, potassium. Ils aident à protéger les plantes contre les maladies, provoquées par des nématodes, des insectes et d'autres microorganismes phytopathogènes. Ils peuvent agir comme des remédiateurs des stress abiotiques comme ; la salinité, les métaux lourds et la sécheresse (Arora et *al.*, 2012).

Certaines études ont montré des mécanismes utilisés par les microorganismes bénéfiques de la rhizosphère, pour surmonter les conditions défavorables dues aux stress biotiques et abiotiques tels que la synthèse de métabolites secondaires, la production des antibiotiques, la compétition et la production des enzymes lytiques (Cao et *al.* , 2009).

Les travaux ont été montré que lors de l'inoculation de *Piriformospora indica*, un endophyte qui colonise les racines des plantes, une résistance contre deux champignons pathogènes vasculaires *Fusarium culmorum* et *Blumeria graminis* a été observée. La protection contre l'agent pathogène foliaire semble être produite par un mécanisme de résistance induite, où s'est produite une réaction de défense impliquant la mort localisée des cellules hôtes (Waller et *al.*, 2005) .

Le présent travail comporte une étude bibliographique concernant les microorganismes bénéfiques de la rhizosphère, et un essai expérimental, qui consiste à isoler ce type de

microorganismes à partir de la rhizosphère d'une espèce végétale cultivée (l'orge, *Hordeum vulgare*), de la station expérimentale de notre faculté.

L'objectif de notre travail est d'abord de connaître la microflore bénéfique de la rhizosphère de l'orge, en identifiant les microorganismes qui y sont associés, et de contribuer à mettre en place une base microbiologique du sol, intéressante pour d'autres études ultérieures, à des fins biotechnologiques.

Partie bibliographique

I. Généralité sur la rhizosphère:

I.1. La rhizosphère:

Le terme rhizosphère (éthymologiquement rhiza : racine, Sphair: ce qui entoure) a été décrit la première fois en 1904 par un microbiologiste allemand (Hiltner). La rhizosphère est définie aujourd'hui comme étant le lieu d'interaction entre le sol, la plante et les microorganismes, cette zone d'interaction s'étend de quelques micromètres à plus de 2 mm en dehors de la surface racinaire (Kennedy et Luna, 2004).

La rhizosphère représente la mince couche du sol qui entoure les racines absorbantes et dont la composition est profondément modifiée par l'activité et le métabolisme de la racine. Elle diffère de la masse du sol par son pH, son potentiel d'oxydoréduction, par l'abondance et la composition de la matière organique et enfin par sa forte activité biologique qui se traduit par une teneur élevée en CO₂.

Cette zone d'interaction peut être divisée en trois zones distinctes (Figure 01) : l'endorhizosphère (intérieur de la racine), le rhizoplan (surface racinaire) et l'ectorhizosphère ou le sol rhizosphérique (sol lié à la racine par opposition au sol distant) (Lepinay, 2015).

L'endorhizosphère : Certaines microorganismes vivent au contact direct de la racine, voire même pénètrent dans les tissus rhizodermiques et corticaux, sans pour autant être parasites ou prédatrices. Ceci souligne le fait que l'interface entre la racine et la microflore s'étend à l'intérieur de la racine.

Le rhizoplan : Désigne la surface racinaire et les microorganismes qui y sont fortement adhérents.

L'ectorhizosphère : Représente la zone extérieure qui se trouve directement après le rhizoplan.

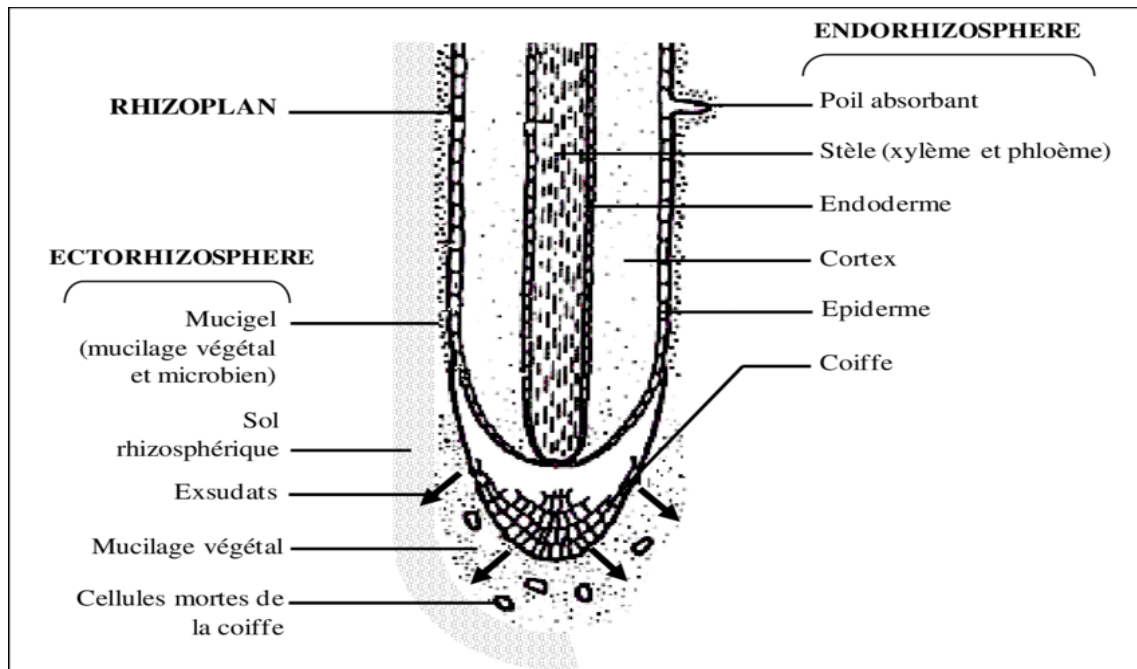


Figure 01: Représentation schématique des zones de la rhizosphère (Lepinay, 2015).

I.2. Activité de la rhizosphère:

L'activité de la rhizosphère est conditionnée par la dynamique de la biomasse racinaire, environ 30, 50 et 75 % de la biomasse racinaire totale se trouvent respectivement dans les 10, 20 et 40 premiers centimètres du sol (Canadell et *al.*, 1996). Jusqu'à 30% des composés photosynthésés par la plante (Hinsinger et *al.*, 2009) y sont remis à la disposition des micro-organismes qui y vivent, par le biais d'un processus de rhizodéposition (sécrétion racinaire active, exsudation racinaire passive, rhizodépôts de types mucilages, lysats, gaz) (Lynch et *al.*, 1990; Armstrong et *al.*, 1994) (tableau 01).

Ces composés incluent une grande quantité d'acides organiques et de sucres, ainsi que des quantités plus limitées de composés organiques complexes. Ils sont transformés en biomasse microbienne ou ré-oxydés en CO₂.

Les microorganismes vivants de la rhizosphère bénéficient de cette activité végétale.

Tableau 01: Les différentes catégories de rhizodépôts selon leur composition biochimique et leur mode de libération (Lynch et *al.*, 1990; Armstrong et *al.*, 1994).

Types de rhizodépôts	Composition biochimique et mode de libération
Les exsudats	Composés hydrosolubles de faible poids moléculaire, libérés passivement par les racines vers la solution du sol selon un gradient de concentration. Représentés principalement par des sucres (glucose, fructose, maltose ...) des acides aminés, carboxyliques et phénoliques et en moins grande proportion par des vitamines, des régulateurs de croissance, des enzymes et des nucléotides.
Les sécrétions	Composés de poids moléculaire variable, libérés par transport actif. Ce sont notamment des glucides.
Les mucilages	Composés de poids moléculaire élevé. Libérés principalement au niveau des apex voire même des poils absorbants. Représentés par des polysaccharides, d'acides aminés et des protéines.
Le mucigel	correspondant aux composés gélatineux de la nature polysaccharidique produits à la fois par les racines et les populations microbiennes de la rhizosphère .ce gel favorise le contact entre les particules de sol. Et la surface racinaire et améliore donc le transfert des éléments minéraux et de l'eau vers la racine.par ailleurs, le mucigel assure une fonction de lubrification permettant la progression de la racine dans le sol.
Lysats	Constituent le contenu cellulaire libéré suite a l'autolyse de cellules épidermiques âgées de la paroi racinaire.

I.3.Facteurs déterminant la richesse et l'activité de la rhizosphère:

D'une façon générale, l'activité microbienne dans la rhizosphère est régie :

Par des facteurs de l'environnement climatique, notamment : l'humidité de l'air, température, radiation solaire, teneur en CO₂.

Par des facteurs de l'environnement édaphique, notamment : teneur du sol en eau et en oxygène, température du sol, teneur du sol en éléments assimilables par les plantes, présence de composés phytotoxiques.

Par des échanges de « molécules signal entre les racines des plantes et les microorganismes qui leur sont associés » (champignons, bactéries...).

La rhizosphère est modifiée en termes de communauté et diversité microbienne. La racine filtre activement ces communautés (Turner et *al.*, 2013).

I.4. Microbiologie du sol de la rhizosphère:

La rhizosphère est constituée d'un ensemble des microorganismes, elle comprend des bactéries, des champignons, des protozoaires et des virus. Ces microorganismes jouent un rôle primordial dans les cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote et autres éléments (Prescott et *al.*, 2003). Les bactéries et les champignons sont les plus abondants et métaboliquement les plus actifs (Noumeur, 2008 ; Malek, 2015).

De nombreuses symbioses et synergies sont observées entre les plantes, les bactéries et les champignons (Hinsinger et *al.*, 1996). Ces interactions peuvent être classées en trois catégories:

Neutre: qui n'a aucun effet visible sur la croissance et la physiologie de la plante (Beattie, 2006).

Négative: qui influence sur la croissance et la physiologie de la plante tel que les phytopathogènes (Beattie, 2006).

Positive: qui stimulent directement la croissance des plantes par la production d'hormones et autres ou indirectement par la production de substances capables de supprimer ou ralentir la croissance et le développement des agents phytopathogènes (Whipps, 2001 ; Beattie, 2006).

II. Microorganismes bénéfiques à la plantes:

La rhizosphère est colonisée naturellement par des bactéries bénéfiques telles que les rhizobactéries et des champignons bénéfiques comme les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA) qui améliorent le développement des végétaux (Lugtenberg et *al.*, 2013).

II.1. Les Champignons bénéfiques à la plante:

Les champignons sont l'une des composants majeurs de l'ensemble des organismes vivants des sols, parmi ces champignons ceux qui sont bénéfiques à la plante : les mycorhizes et les champignons du genre *Trichoderma*.

Les associations symbiotiques plante-champignon étant les plus répandues dans les écosystèmes terrestres (Smith et Read, 2008). Cette association mutualiste est caractérisée par un échange bidirectionnel généralement bénéfique pour la plante que pour le champignon (Jakobsen, 1999).

II.1.1. Les mycorhizes:

Les mycorhizes entretiennent des relations très intimes avec la plante. Ils apportent à la plante des éléments nutritifs, tels que le phosphore et renforcent ses défenses naturelles vis-à-vis de stress d'origine biotique ou abiotique.

Il existe deux types principaux (les endomycorhizes et les ectomycorhizes) (figure 02).

II.1.1.1. Les endomycorhizes:

Les endomycorhizes (ou mycorhizes internes) sont la forme la plus répandue. Ce sont des mycorhizes qui pénètrent à l'intérieur des racines pour mieux s'y associer. Il existe plusieurs types d'endomycorhizes (figure 03).

II.1.1.1.a. Endomycorhizes à arbuscules:

Ils sont associés avec les plantes herbacées et ligneuses. Ces endomycorhizes arbusculaires, aussi appelés mycorhizes à vésicules et arbuscules (ou mycorhizes vésiculo-arbusculaires) tirent leur nom des vésicules intercellulaires (souvent des gouttes d'huile, stockage de réserve pour le champignon) et des structures intracellulaires rappelant un petit arbre (Martin, 2010).

II.1.1.1.b. Endomycorhizes à pelotons intercellulaires:

Chez les endomycorhizes à pelotons intracellulaires, les hyphes forment des amas dans les cellules corticales. Elles impliquent des basidiomycètes en association avec les Orchidacées (Selosse, 2016).

II.1.1.1.c. Endomycorhizes éricoïdes:

Les hyphes forment des pelotons dans des racines transitoires de faible diamètre. Elles impliquent des Ascomycètes ou Basidiomycètes en symbiose avec les Ericales (Selosse, 2016).

II.1.1.1.d. Ectendomycorhizes:

Appelées aussi mycorhizes ectendotrophes ou mycorhizes de type arbutoïde: le champignon forme des pelotons intracellulaires comme les endomycorhizes, et un manteau autour de la racine comme les ectomycorhizes. C'est le cas chez les Pyroles qui exploitent, comme les Orchidacées, leurs champignons mycorhiziens comme source de carbone.

Dans cette symbiose, le réseau dense et étendu des hyphes des champignons mycorhiziens aide la plante à explorer un volume accru de sol et à accéder à des endroits inaccessibles pour les racines. Le champignon permet à la plante d'améliorer sa nutrition en apportant principalement de l'eau, du phosphore et de l'azote (Selosse, 2016).

II.1.1.2. Ectomycorhizes:

Les ectomycorhizes (ou mycorhizes externes) concernent seulement 5 % des plantes vasculaires, en majorité des arbres des forêts tempérées et boréales (comme les Fagacées, les Pinacées ou les Bétulacées) et des champignons de la division des Ascomycètes, des Basidiomycètes ou des Zygomycètes. Ces mycorhizes ne pénètrent pas à travers des parois cellulaires à l'intérieur des cellules de la plante, mais entourent simplement les racines, formant un manteau de mycélium et un réseau entre les parois des cellules de la racine (Martin, 2010).

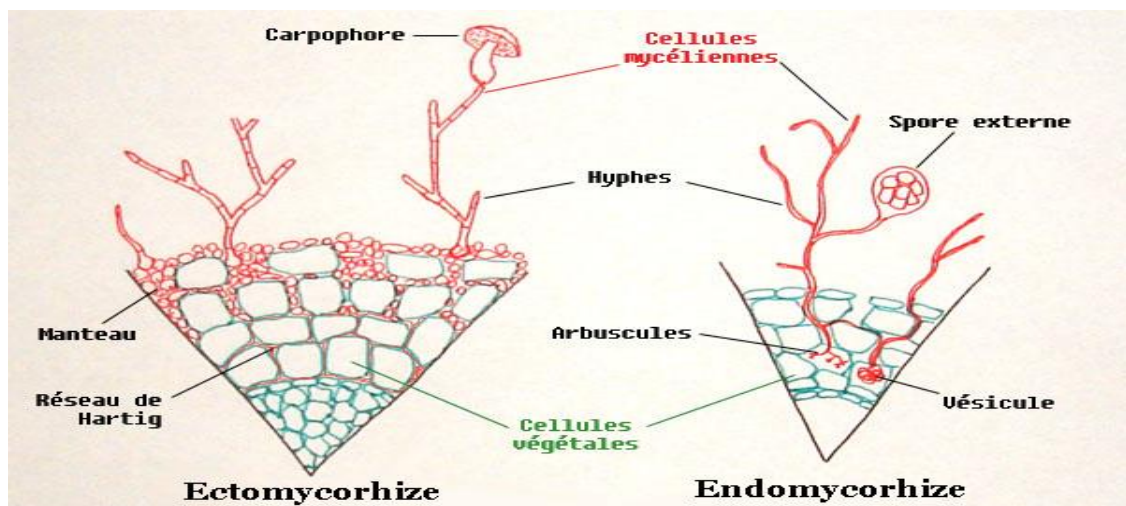


Figure 02:Types principaux de mycorhizes :les endomycorhizes et les ectomycorhizes (Martin, 2010).

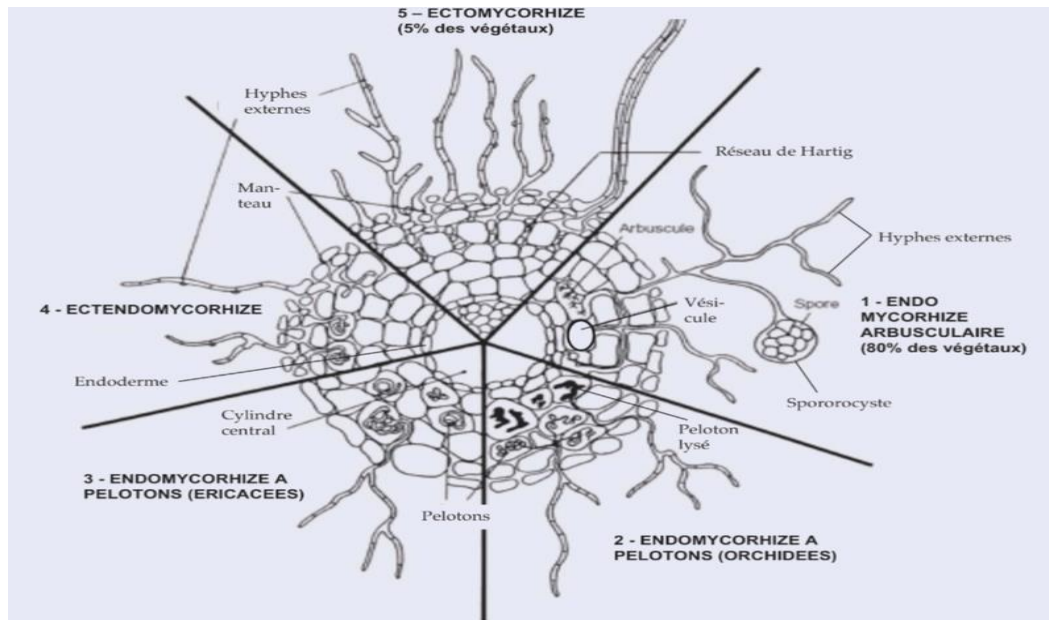


Figure 03 : Comparaison entre les différents types de mycorhizes (Martin, 2010).

II.1.1.3. Gloméromycète:

Glomus est l'un des genres de la famille des Glomeraceae, dans la division Glomeromycota. Il est le plus grand genre de champignons mycorhiziens arbusculaires (AM), avec environ 85 espèces décrites, et toutes forment des relations symbiotiques (mycorhize) avec les racines des plantes (Cannon et al., 2008).

Plusieurs espèces sont cultivées et vendues comme inoculant mycorhizien pour les sols agricoles, dont *Glomus intraradices*, qu'il a démontré une capacité d'adaptation à plusieurs types de sol et de conditions environnementales. Ce champignon mycorhizien est efficace pour transférer de l'eau et des nutriments aux plants et offre de très bonnes performances en champ pour une variété de cultures (Duan et al., 2010).

II.1.2. Le genre *Trichoderma* :

Sont des champignons saprophytes qui contribuent dans la stimulation de la croissance des plantes et la protection contre les maladies.

II.1.2.1. Historique et taxonomie :

Le terme «*Trichoderma*» a été introduit dans la mycologie en 1794 par Person (Rifai, 1969 ; Bisset et al., 1991; Monte et al., 2003 ; Chaverri et Samuel., 2003 ; Degenkolb et al., 2008). Les champignons anamorphes du genre *Trichoderma*, en tant que tels n'ont pas de

reproduction sexuée connue, et ce caractère ne peut donc être utilisé pour leur systématique (Widden et Scottolin, 1988 ; Vining et *al.*, 1990 ; Fujita et *al.*, 1994 ; Samuel, 2006).

Si on répertorie succinctement les dates les plus importantes qui ont marqué la systématique des *Trichoderma sp.*, on se rend vite compte que leur position taxonomique n'a pas été facile, En 1794, Persoon décrit le premier *Trichoderma sp* et établit 4 espèces.

En 1821, Fries classa les *Trichoderma sp* parmi les Gastéromycètes.

En 1860, Tulasne a reconnue l'absence de formes téléomorphes (sexuées) chez ce genre.

En 1871, Harz insiste sur l'importance des caractères morphologiques (phialides).

En 1916, Waksman décrit ce qu'il trouve être 6 nouvelles souches de *Trichoderma sp.* En utilisant des critères macroscopiques.

En 1926, Abbot identifie 4 espèces de *Trichoderma* avec d'autres critères.

En 1939, Bisby propose une unique espèce : *Trichoderma viridae*. Durant 24 ans, toute espèce fongique à spores vertes était considérée comme étant un *Trichoderma sp.*

En 1963, Gutter et Monbasher ont démontré la variabilité des espèces de *Trichoderma* en fonction des conditions environnementales.

En 1969, Rifai propose une classification.

Sont utilisable avec le concept «d'espèces agrégées », basé sur les caractères microscopiques. Une espèce agrégée est une entité composée de groupement d'espèces très similaires, difficiles à séparer. Neuf espèces agrégées sont décrites (*T. aureoviridae* Rifai, *T. hamatum* Bain, *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudemans, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Webster et Rifai, *T. polysporum* Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai et *T. viridae* Gray), tout en tolérant une certaine variabilité au sein de chaque espèce agrégée (Rifai., 1969).

En 1991, Bissett regroupe les espèces agrégées dans 5 sections (*Trichoderma*, *Pachybasium*, *Hypocreanum*, *Longibrachiatum* et *Saturnisporum*) (Leuchtman, 1996) se basant sur la morphologie des conidiophores et des phialides (Lieckfeldt et *al.*, 1998 ; Landreau., 2001 ; Dodd et *al.*, 2002).

D'après (Bissett et *al.*, 2004), la position taxonomique actuelle des *Trichoderma sp* est la suivante :

Embranchement : Amastigomycota et/ou Eumycètes.

Sous embranchement : Ascomycotina.

Classe : Sordariomycètes.

Ordre: Hypocréales.

Famille: Hypocraceae.

Genre: *Trichoderma*.

II.1.2.2. Morphologie:

Les colonies fongiques peuvent être légèrement floconneuses ou bien compactées en touffes. Entre ces deux extrêmes, existent des aspects intermédiaires. Les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des phialides. La conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile en forme de cercle. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, correspondant à la conidiogenèse (Mohamed-Benkada, 2006).

II.1.2.3. Ecologie:

Les *Trichoderma sp* sont des saprophytes omniprésents dans le sol. Ils sporulent abondamment, ont peu de besoins nutritionnels, peuvent croître rapidement et produire des gammes diversifiées de métabolites secondaires. En outre, ils ont la capacité de transformer une variété extrêmement large de matériaux organiques naturels. Ils sont bien connus comme hyper-producteurs d'enzymes de dégradation comme les chitinases et les cellulases. Ils ont été promus indirectement comme agents de lutte biologique et stimulateurs de croissance des plantes (Papavizas, 1985 ; Elad, 2000 ; Freeman et *al.*, 2004 ; Dubey et *al.*, 2007; Jayalakshmi et *al.*, 2009). Les espèces de *Trichoderma* utilisent généralement les sources d'azote à partir de composés d'ammonium et de protéines, l'assimilation du nitrate est rare et dépend de l'espèce (Mahesh et *al.*, 2005). Les substrats carbonés très diversifiés comprennent une large gamme de sucres ; certaines espèces peuvent utiliser l'inuline, raffinose, saccharose, acides

tannique et gallique (Stevenson et Weimer, 2002 ; Gond et *al.*, 2007 ; Olejnikova et *al.*, 2011).

II.1.2.4. Utilisation de *Trichoderma*:

Trichoderma ont la capacité de contrôler des agents phytopathologiques du sol connu depuis la fin des années 1920 (Mohamed-benkada, 2006). Ils ont été utilisés comme agents de lutte biologique contre un large spectre de phytopathogènes (*Fusarium*, *Phytophthora* ; *Rhizoctonia*, *Phythium*, *Botrytis cinerea*...). Leur antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un microparasitisme ou une antibiose (Lepovoiere, 2003).

Les travaux de (Lynch et *al.*, 1991) ont montré que certaines souches de *Trichoderma* semblaient une action stimulatrice sur la croissance de certaines plantes.

II.2. Les bactéries bénéfiques à la plante:

Les bactéries promotrices de la croissance des plantes « PGPR » (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), sont définies comme des bactéries présentes dans la rhizosphère, pour lesquelles un effet positif sur le végétale est reconnu. D'après Kloepper (1993), les PGPR se distinguent par leur capacité à coloniser la surface racinaire, survivre, se multiplier et être compétitif vis-à-vis des autres microorganismes, tout en stimulant la croissance des plantes.

Dans la rhizosphère, ces bactéries peuvent se retrouver aux niveaux intra ou extracellulaire (Gray et Smith, 2005). Au niveau intracellulaire, les bactéries sont dites endophytiques et colonisent l'apoplaste. Ces bactéries font parties de la famille des Rhizobiums. Généralement symbiotiques. Au niveau extracellulaire, elles sont localisées en surface ou à proximité des racines, elles sont libres (non symbiotiques) à différents genres et espèces dont les plus étudiés sont : *Azospirillum sp*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp et fluorescentes* (Lemanceau, 1992).

II.2.1. Les Rhizobia :

Ces bactéries colonisent les cellules végétales dans les nodules racinaires , où elles convertissent l'azote atmosphérique en ammoniac à l'aide de l'enzyme nitrogénase. Outre leurs activités fixatrices de l'azote atmosphérique, les Rhizobia contribue considérablement à l'amélioration de la disponibilité des phosphates pour la plante par mobilisation de formes

organiques et inorganiques, elles peuvent aussi produire des phytohormones et des siderophores (Saharan et Nohra, 2011).

II.2.2. Les diazotrophes :

Sont des bactéries libres fixatrices d'azote sont utilisées pour la stimulation de la croissance des plantes. Il y a deux genres importants : les *Azobacter* et les *Azospirillum*.

II.2.2.1. *Azotobacter* :

Azotobacter paspali, décrite par (Dobereiner et Pedrosa, 1987) est une bactérie aérobie stricte, non symbiotique, fixatrice de l'azote atmosphérique, isolée à partir de la rhizosphère de *Paspalum notatum* (herbe de bahia), est une herbe tropicale qui possède une grande spécificité d'hôte. *Azotobacter paspali* affecte positivement la germination des graines et leur développement, il est noté que l'inoculation des cultures de blé par ce genre augmente le rendement de 30% (Saharan et Nohra, 2011).

II.2.2.2. *Azospirillum* :

Ces bactéries colonisent la rhizosphère des graminées. Ces bactéries stimulent la croissance des plantes par divers mécanismes, en particulier en synthétisant des hormones végétales (auxines) (Venderleyden et Jos, 2017).

II.2.3. *Pseudomonas* :

Les *Pseudomonas* et les *Pseudomonas* fluorescentes sont des bactéries ubiquistes, rencontrées souvent dans les sols, classées comme étant les meilleurs candidats PGPR (Saharan et Nohra, 2011). Les effets bénéfiques de la bactérisation des graines sont observés lors de l'inoculation des graines de pomme de terre *Solanum tuberosum* par *P.fluorescens* et *P. putida* (Bur et al., 1978 ; Alabovette et al., 1993) ont démontré que lors de l'utilisation de *Fusarium oxysporum* non pathogène, *P. fluorescens* et *P. putida* se manifestent comme principales candidates de contrôle biologique du flétrissement fusarien, avec une application bénéfique pour la suppression des fusarioses chez plusieurs espèces des plantes (Chung et al., 2005).

II.2.4. *Bacillus* :

Bacillus sp a été découvert comme une bactérie du sol, qui a été utilisée comme biopesticide dans l'agriculture et la lutte contre les moustiques. Précisément *B. thuringiensis* a été largement appliqué dans le contrôle des insectes ravageurs des cultures en raison des protéines insecticides produites par la bactérie lors de la sporulation (Abad et al., 2008).

II.3. Autres microorganismes bénéfiques à la plante :

II.3.1. Les protozoaires :

Un organisme eucaryote, unicellulaires et hétérotrophes. Ils sont d'autant plus nombreux que les sols sont humides et riches en matières organiques, soit 1 à 2 millions par gramme de terre. Il joue un rôle important dans la rhizosphère, il détruit pour sa nourriture une foule de bactéries pathogènes et surtout d'agents de putréfaction. Aussi il participe à la libération de l'azote pour la plante, il consomme l'équivalente de 6 bactéries afin de répondre à ses besoins nutritifs en carbone. Alors que les besoins en azote sont moindres par rapport aux bactéries, cette consommation entraîne la libération de cinq unités d'azote ; la minéralisation de l'azote augmente de 5 à 20% grâce aux protozoaires (Pauline, 2011).

II.3.2. Les nématodes :

Les nématodes (Nematoda), ou vers ronds, constituent un embranchement de vers non segmentés. Dans la rhizosphère certains nématodes qui sont libres ont un rôle de décomposeurs, transformant les matières végétales et animales mortes en terreau noir, appelé humus qui stocke l'eau, les éléments nutritifs comme l'azote, le phosphore et le potassium qui sont nécessaires à la croissance des plantes (Donkin et Williams, 2005).

III. Mécanismes impliqués dans la stimulation de la croissance des plantes et la protection contre les maladies :

III.1. Chez les champignons :

La nutrition minérale et l'augmentation de l'absorption de l'eau par la plante sont certainement les bénéfices les plus connus des mycorhizes. Celles-ci confèrent toutefois plusieurs autres avantages aux plantes et aux écosystèmes, notamment l'agrégation du sol, la

protection contre les pathogènes et la résistance aux stress environnementaux (Tao et Zhiwei, 2005).

III.1.1. Absorption de l'eau et des éléments nutritifs :

La fonction la plus étudiée chez les mycorhizes est celle de l'absorption de l'eau et des éléments minéraux, notamment le phosphore qui peu mobile et souvent en faible concentration dans le sol. Grâce à la grande couverture du sol le réseau mycélien, les hyphes peuvent transporter l'eau et les éléments nutritifs vers la plante qui permettent une croissance vigoureuse et un rendement plus élevé (Bolan, 1991 ; Smith et Read, 1997).

On estime que 80% du phosphore absorbé par les plantes mycorhizées peut être fourni par les champignons arbusculaires. Dans certains cas, les bactéries fixatrices de l'azote et les champignons mycorhiziens s'associent pour dissoudre des minéraux permettant ainsi aux cultures de se développer dans les sols pauvres en azote et en phosphore solubles présentent en faible concentration (Fortin et *al.*, 2008).

III.1.2. La protection contre les agents pathogènes :

En conditions naturelles, la très grande majorité des végétaux, y compris les plantes vivrières, vivent en association symbiotique avec des champignons mycorhiziens qui, non seulement, approvisionnent leurs hôtes en eau et en éléments minéraux, mais assurent une protection des racines contre les champignons pathogènes (Read, 2011). Le manteau des spores mycorhiziennes agit comme une barrière mécanique contre les pathogènes qui tenteraient de pénétrer dans la racine. De plus, la partie active du manteau agit aussi comme une barrière physiologique en dégradant les toxines et les enzymes produites par les pathogènes pour dégrader les tissus des racines (Harley et Smith, 1983). Après la colonisation des racines par les champignons mycorhiziens, l'hôte peut produire des inhibiteurs contre les pathogènes (Harley et Smith, 1983).

III.1.3. La production de phytohormones :

La production hormonale du champignon affecte généralement le port de la plante en favorisant la croissance de la partie aérienne par rapport à la partie racinaire. En effet, Brea et Azcon-aguilar (1982) ont noté que les champignons mycorhiziens produisent des substances comme l'auxine, la gibbérelline et la cytokinines qui stimulent la croissance des plantes. Elles sont impliquées dans plusieurs processus : la division cellulaire, la différenciation et la

formation de faisceaux vasculaires, et elles ont un effet positif sur l'initiation de la croissance et l'élongation des racinaires. Elles augmentent également la ramification des racines et améliorent l'absorption de minéraux et d'eau (Patten et Glick, 2002 ; Ahmad et Kibret, 2013 ; Gupta et *al.*, 2015).

III.1.4. Agrégation des sols :

Les mycorhizes sont connus par leur aptitude à sécréter une glycoprotéine nommée la glomaline. Les champignons Mycorhiziens peuvent en produire des quantités importantes et par la suite jouer un rôle majeur dans stabilité du sol. Cette substance rassemble les particules les plus fines entre elles pour former des agrégats. Ces derniers ont un rôle fondamental dans la fertilité des sols en retenant l'eau et les éléments minéraux et en favorisant l'aération (Fortin et *al.*, 2008).

III.1.5. Résistance au stress hydriques :

Les champignons endomycorhiziens entraînent une augmentation de la résistance de la plante au manque d'eau (Brunner et *al.*, 2001). En effet, le fin mycélium des champignons mycorhiziens (2-5 μm) peut aller puiser l'eau dans de petits interstices et agrégats du sol qui ne sont pas accessibles aux poils absorbants (10-20 μm de diamètre).

III.2. Chez les bactéries :

Les PGPR interviennent sur la croissance des plantes selon plusieurs mécanismes, de manière directe (sont des phytostimulatrices) ou indirecte (sont des phytoprotectrices) (figure 04).

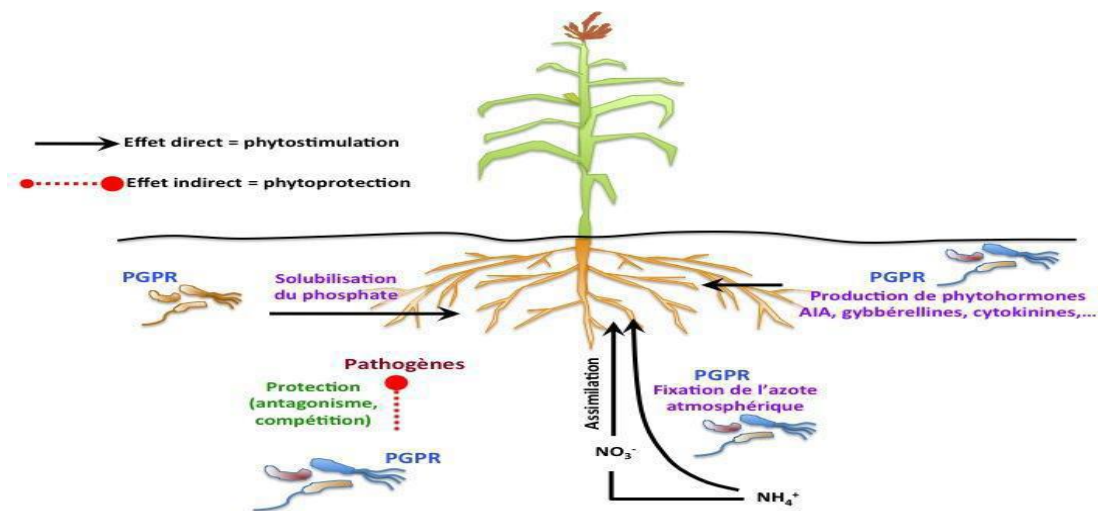


Figure 04: Interactions entre les plantes et les bactéries dans la rhizosphère (KHAN *et al.*, 2009).

III.2.1. Les PGPR phytostimulatrices : elles influencent la croissance des plantes par :

III.2.1.1. La fixation de l'azote :

L'azote se trouve fréquemment sous forme gazeuse (N_2), inaccessible aux plantes (Arora *et al.*, 2012).

Les rhizobactérie ont la capacité d'établir des interactions symbiotiques par la colonisation et forme de nodules racinaires dans le végétale, dans lesquelles l'azote est fixé en ammoniacque qui est rapidement transformé en nitrates et le rendre disponible pour l'hôte (Munees et Mulugeta, 2013).

III.2.1.2. La solubilisation du phosphate :

Le phosphore (P) a un rôle important dans le métabolisme de la plante, il est l'un des éléments nutritifs essentiels pour la croissance et le développement des végétaux. Le phosphore est absorbé principalement pendant la croissance végétale et, par la suite, la majeure partie du phosphore absorbée est transférée dans les fruits et les graines pendant les étapes de reproduction.

III.2.1.3. La solubilisation du potassium :

Les bactéries solubilisant le potassium (KSB) peuvent solubiliser les minéraux porteurs de K et convertir le K insoluble en formes solubles, elles le rende disponible pour l'absorption par les plantes (Rogers *et al.*, 1998).

III.2.1.4. La production des sidérophores :

Le fer est un nutriment vital pour presque toutes les formes de vie (Neiland, 1995). Certains PGPR produisent des sidérophores, composés de faibles poids moléculaire, généralement inférieurs à 1 kDa contenant des groupements fonctionnels capables de capter le fer en le rendant assimilable par les plantes (Kirdi et Zermane, 2010).

III.2.1.5. La production des phytohormones :

Il existe deux sources de phytohormones naturellement disponibles pour les plantes : production endogène par les tissus de la plante et exogène par des microorganismes associés. Les PGPR produisent différentes phytohormones tels que : l'AIA (Acide indole acétique : auxines), l'acide gibbérellique et les cytokinines. Ce sont des petites molécules de signal produites en très faible concentration influençant les processus biochimiques, physiologiques et morphologiques dans les plantes (Han *et al.*, 2005 ; Baca et Elmerich, 2007).

III.2.2. Les PGPR phytoprotectrices : elles favorisent la croissance des plantes en réduisant le niveau de certaines maladies. Pour cela, elles peuvent agir :

III.2.2.1. La compétition pour l'espace et les nutriments :

La compétition pour l'espace et les nutriments est un mécanisme biologique utilisé par les PGPR pour éliminer les phytopathogènes. Cette compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit les éléments nutritifs, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour leur croissance (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Shameer et Prasad, 2017). Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit le nombre de sites habitables pour les micro-organismes pathogènes et, par conséquent, leur croissance (Piano *et al.*, 1997).

III.2.2.2. L'Antibiose :

La production et la libération des molécules qui tuent ou réduisent la croissance des pathogènes cibles est le mécanisme le plus efficace par lequel les microorganismes peuvent contrôler les maladies des plantes, (Harman et Shores, 2007). Il consiste à produire des antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène par l'agent antagoniste. Ces molécules bioactives sont des métabolites secondaires à faible poids moléculaire tels que les antibiotiques comme le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), cyanure d'hydrogène (HCN) et la phénazine qui agissent comme des facteurs contre l'attaque des pathogènes (Corbaz, 1990 ; Babalola, 2010 ; Shameer et Prasad, 2017).

III.2.2.3. Le parasitisme :

Ce mécanisme implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste. L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques telles que les glucanases, les chitinases et les lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène, d'extraire des nutriments et d'inhiber leur croissance (Corbaz, 1990).

III.2.2.4. Résistance systémique induite ISR (Induced Systemic Resistance) :

L'expression de mécanismes de défense systémique chez les plantes peut être initiée suite à l'interaction avec certaines rhizobactéries non pathogènes lors d'un phénomène appelé ISR, ce mécanisme rend la plante plus résistante contre d'éventuelle attaque des agents pathogènes (virus, bactéries et champignons). De nombreux composants bactériens tel que les lipopolysaccharides (LPS), sidérophores, lipopeptides cycliques, peuvent induire une résistance systémique des plantes (Gupta *et al.*, 2015 ; Shameer et Prasad, 2017).

L'ISR peut être divisée en trois étapes principales que sont la perception des molécules actives produites par le PGPR ou élicitation, la transmission d'un signal systémique dans la plante et l'expression des mécanismes de défense de l'hôte (Ongena *et al.*, 2006).

IV. Applications biotechnologiques des microorganismes de la rhizosphère :

Les micro-organismes de la rhizosphère sont considérés comme un important réservoir de métabolites bioactifs (Zhang *et al.*, 2006). Les métabolites primaires, tels que les acides aminés, les enzymes, les vitamines, les acides organiques et l'alcool, sont utilisés comme suppléments nutritionnels ainsi que dans la production de produits industriels par

biotransformation. Alors que les métabolites secondaires sont des composés organiques qui sont principalement utilisés dans l'industrie biopharmaceutique et l'agriculture en raison de leur capacité à réduire les maladies infectieuses chez les êtres humains et les végétaux (Maddau et *al.*, 2004).

Tableau 02 : Applications biotechnologique des métabolites de certains champignons et bactéries de la rhizosphère.

Les métabolites	Microorganismes	Applications	Références
Acide organique : Acide citrique, acide gluconique, acide acétique et l'acide malique	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus oryzae</i> , <i>Aureobasidium pullulans</i>	Industrie agro alimentaire (comme un additif alimentaire et rehausseur de gout)	Botton et <i>al.</i> , 2000
Enzymes : Protéase, glucoamylase et amylase	<i>Aspergillus niger</i>	Industrie	Bensmail, 2012
Vitamine : La riboflavine (vitamine B ₂) La cyanocobalamine (vitamines B ₁₂)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Pseudomonas denitrificans</i>	Industrie	Survase et <i>al.</i> , 2006
Antibiotiques	<i>Pinicillium sp</i> , <i>Bacillus sp</i> et <i>streptomycese</i> et <i>Actinomyces</i>	Médecine	Omura, 1992
Agents thérapeutiques : Les lcaloïdes et les stéroïdes	<i>Aspergillus</i> , <i>Pénicillium</i> et <i>Rhizopus</i>	Médecine	Marienhagen et Bott, 2013
Bioinsectisides	<i>Bacillus thuringiensis</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>P. aureofaciens</i> et <i>Streptomyces</i> spp.	Agriculture	Canan, 2013
Biofongicid	<i>Trichoderma</i> spp. et <i>Beauveri</i>	Agriculture	Chandler et <i>al.</i> , 2011

	<i>bassiana . Trichoderma harzianum</i>		
Hormones de croissance : Les auxines, les gibbérellines, cytokinines	<i>Azospirillum, Bacillus, Paenibacillus, Pseudomonas, Rhizobium</i>	Agriculture	Spence et Bais, 2015
Pigments : Blue Rose	<i>Penicillium herquei</i> <i>P. oxalicum</i>	Industrie agro alimentaire et cosmétique	Dufossé, 2006

Matériels et méthodes

I. Objectif de L'étude :

Notre étude est une tentative de recherche de microorganismes bénéfiques isolés à partir de la rhizosphère. Elle consiste à isoler des espèces fongiques, dites bénéfiques, à partir d'échantillons de sol prélevés de la partie de la rhizosphère.

Pour réaliser cette étude, nous avons procédé aux étapes suivantes :

1. l'isolement des microorganismes du sol à partir de la rhizosphère d'une céréale (l'orge).
2. Dénombrement de la flore microbienne totale.
3. Caractérisation morphologique des isolats.
4. Purification des isolats.
5. Conservation des isolats obtenus.

Les manipulations ont été réalisées au niveau du laboratoire P.F.E, Département de Biotechnologie de l'université Blida -1.

II. Préparation des échantillons et présentation de la zone de prélèvement :

Le prélèvement des échantillons a été effectué à partir du sol de la rhizosphère d'orge (*Hordeum vulgare*) située au niveau de la station de notre faculté Blida1.

Le prélèvement a été réalisé, durant le mois d'avril, selon un échantillonnage aléatoire en forme zigzag. Le choix de cette rhizosphère associée a été motivé selon la disponibilité de la plante et son importance économique (figure 05).

Nous avons effectué cinq prélèvements de rhizosphère, collectés dans un même contenant et si tôt réservés au réfrigérateur du laboratoire.

Au laboratoire, les échantillons du sol ont été d'abord débarrassés des grosses mottes, ensuite le sol entourant les racines a été raclé puis nettoyé des débris et tamiser pour récupérer la partie fine du sol qui va être utilisé pour préparer la solution mère (figure 05).



Zone de prélèvement de la rhizosphère

(Parcelle de culture d'orge)



Préparation des échantillons

Figure 05 : Préparation des échantillons et présentation de la zone de prélèvement.

III. Préparation de milieu de culture:

III.1. Milieu d'isolement et multiplication:

III.1.1. Milieu PDA (Potato dextrose agar) :

C'est un milieu de base utilisé pour mettre en évidence un grand nombre de champignons.

200g de pomme de terre, déjà pelée, ont été coupée en lamelle et bouillis dans de l'eau distillée pendant 20 minutes sur une plaque chauffante, puis on récupère le jus en le filtrant à travers une passoire. Dans une fiole de 1 litre, on verse le jus de pomme de terre et on lui additionne 20g de glucose et 20g d'agar agar et l'eau distillé sterile. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un agitateur magnétique munie d'une source de chaleur pour dissoudre l'agar (Rapilly, 1968).

Le milieu a été stérilisé à l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C. A son refroidissement il a été répartie, conditions stérile, dans les boites de Pétri et réservé à part (figure 06).



Figure 06 :Préparation de milieu de culture PDA.

III.2. Milieu de conservation :

Le milieu de culture de conservation a été préparé avec un jus de 120 g de pomme de terre (préparé comme précédemment), additionné de 20g de gélose (Rapilly, 1968). Le mélange a été homogénéisé par agitation et dissolution à l'aide d'un agitateur magnétique muni d'une plaque chauffante. Le milieu a été stérilisé à 120° C pendant 20 minutes. Au refroidissement, le milieu a été réparti dans des tubes en verre, en position inclinée.

IV. isolement :

Pour réduire la concentration microbienne à une concentration plus facile à compter lorsqu'elle est étalée sur une surface de milieu de culture, on applique la dilution en série.

IV.1. Dilution en série :

1 g de sol, déjà préparé, a été additionné à 9 ml d'eau distillée stérile. La solution obtenue a été mélangé à l'aide d'un vortex pendant 2 minutes pour former la solution initiale.

Cette solution constitue la concentration 10^{-1} pour la série de dilution qui va suivre, réalisée selon Rapilly, 1968. Cinq tubes à essai contenant chacun 9 ml d'eau distillée stérile ont été préparé pour répartir les concentrations de 10^{-2} à 10^{-5} . Nous avons prélevé 1ml de la solution initiale pour les ajouter dans le tube suivant pour faire la dilution 10^{-2} . Le tube a été agité à l'aide du vortex pour homogénéiser la solution et disperser les particules. On répète les mêmes étapes jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-5} .

IV.2. Ensemencement :

Les concentrations retenues sont 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . A partir de chaque tube, nous avons prélevé 1ml de la suspension à l'aide d'une micropipette pour ensemer dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA. A l'aide d'un râteau (pipette Pasteur façonnée) on étale le volume prélevé sur toute la surface de la boite. L'ensemencement a été réalisé en conditions stériles.

Les boites Pétri ainsi ensemencées ont été incubées à 27°C pendant 5 à 7 jours. Deux boites ont été ensemencées par chaque dilution.

V. Dénombrement des colonies :

La détermination du nombre de microorganismes est faite par comptage des colonies selon la formule suivante (Dutruc-Rosset, 2003) :

$$N = \frac{\Sigma \text{ colonies}}{V_{\text{ml}} \times (n_1 + 0,1n_2) \times d}$$

N: Nombre de colonies par gramme de sol.

Σ colonies: Somme des colonies des boîtes interprétables.

V: Volume de solution déposée (1ml).

n_1 : Nombre de boîtes considéré à la première dilution retenue.

n_2 : Nombre de boîtes considéré à la seconde dilution retenue.

d: La dilution retenue.

Le pourcentage de la population microbienne a été aussi calculé selon la formule suivante :

$$\%E.M = \frac{C}{C_t} \times 100$$

% E.M : Pourcentage d'espèce microbienne.

C: Nombre de colonies d'espèce microbienne.

C_t: Nombre total de colonies.

VI. Purification :

Les isolats ont été purifiés en réalisant des repiquages successifs sur milieu PDA, par le prélèvement d'une partie de l'apex mycélien du pourtour de la colonie, à l'aide d'une anse en condition stérile.

VII. Caractérisation morphologiques des colonies obtenues :

La morphologie des colonies a été caractérisée par une observation macroscopique sur la base de l'aspect et la couleur des colonies dans la boîte de Pétri et microscopique par montage de lames avec le bleu de méthylène pour mettre en évidence l'aspect du mycélium, des conidies et des conidiophores, à l'aide d'un microscope photonique.

VIII. Conservation des isolats :

Les isolats ont été ensemencés dans des tubes contenant le milieu de conservation incliné et conservés au réfrigérateur à 4°C, après avoir laissés pour incubation et croissance de colonie.

Résultats et discussions

I. Résultats :

I.1. Caractérisation macroscopique :

Après 5 à 7 jours d'incubation nous avons observé des caractères morphologiques différents sur le milieu PDA.

On a remarqué que la concentration 10^{-4} été la plus effective (une meilleure mise en évidence).

Les colonies obtenues ont présentés différents aspects morphologiques. Elles pouvaient être de couleurs noires, rosâtres, verdâtres, grises et marron. Les aspects rencontrés étaient entre des colonies surélevés cotonneuses ou duveteuses et rases poudreuses ou granuleuses. Sur la base de cette morphologie, nous avons pu reconnaître certaines espèces fongiques (figure 07) et (tableau 03).

Parmi les espèces que nous avons pu reconnaître *Trichoderma.sp* avec 33,33% et $3,18.10^4$ UFC/g , *Aspergillus sp* avec 23,80% et $2,27.10^4$.UFC/g , *Cladosporium sp* 19,04% et $1,81.10^4$ UFC/g , *Alternaria sp* avec 14,24% et $1,36. 10^4$ UFC/g , *Fusarium sp* avec 9,52% et $0,90. 10^4$ UFC/g (tableau 04).

Tableau 03 : Les caractères macroscopiques des isolas fongiques

Les isolats	La couleur	L'aspect de colonie
<i>Aspergillus sp</i>	Noir	poudreux
<i>Aspergillus sp</i>	Marron	Duveteux à poudreux
<i>Trichoderma sp</i>	Mycélium est blanc et les spores sont de couleur verte	Granuleux
<i>Fusarium sp</i>	Brun foncé à rouge marron	Cotonneux
<i>Alternaria sp</i>	Gris à noir	Duveteux
<i>Cladosporium sp</i>	vert-brun à revers	velouté à

	gris-noirâtre	poudreux
--	---------------	----------

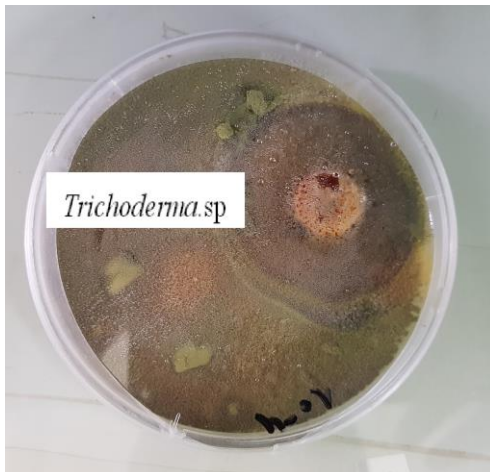
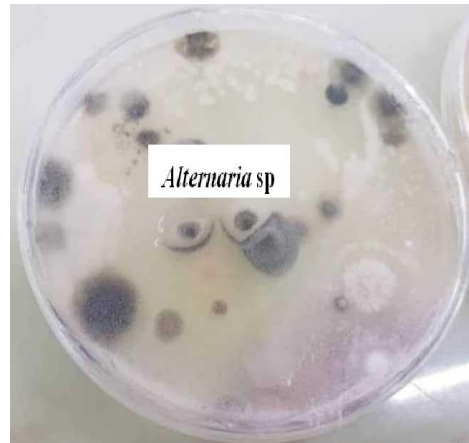
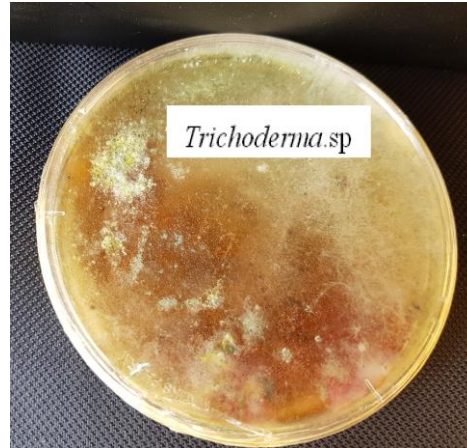
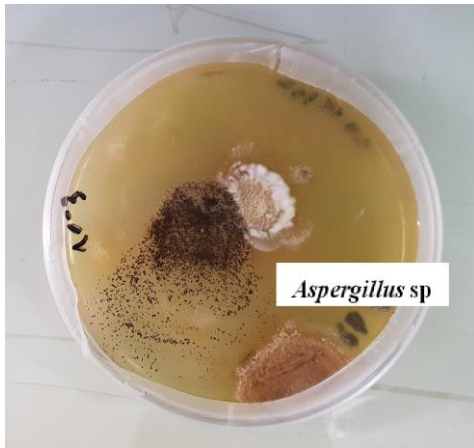


Figure 07 : aspect morphologique de différentes colonies fongiques obtenues.

Tableau 04 : Fréquences et concentration des espèces fongiques de sol de rhizosphère d'orge.

Espèce	Fréquence	10 ⁴ UFC/g
<i>Aspergillus</i> sp	23,80%	2,27.
<i>Trichoderma</i> .sp	33,33%	3,18
<i>Fusarium</i> sp	9,52%	0,90
<i>Alternaria</i> sp	14,24%	1,36
<i>Cladosporium</i> sp	19,04%	1,81

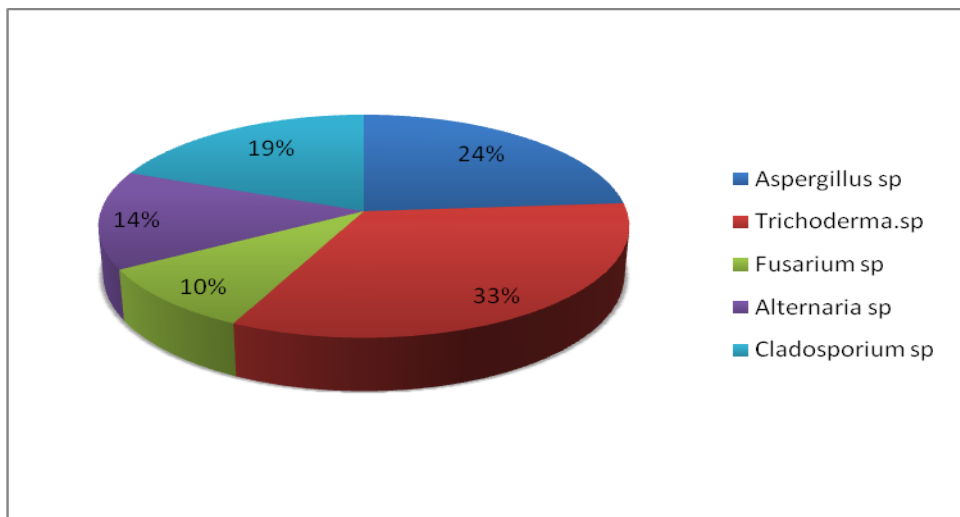


Figure 08 : le pourcentage de la flore fongique de l'orge.

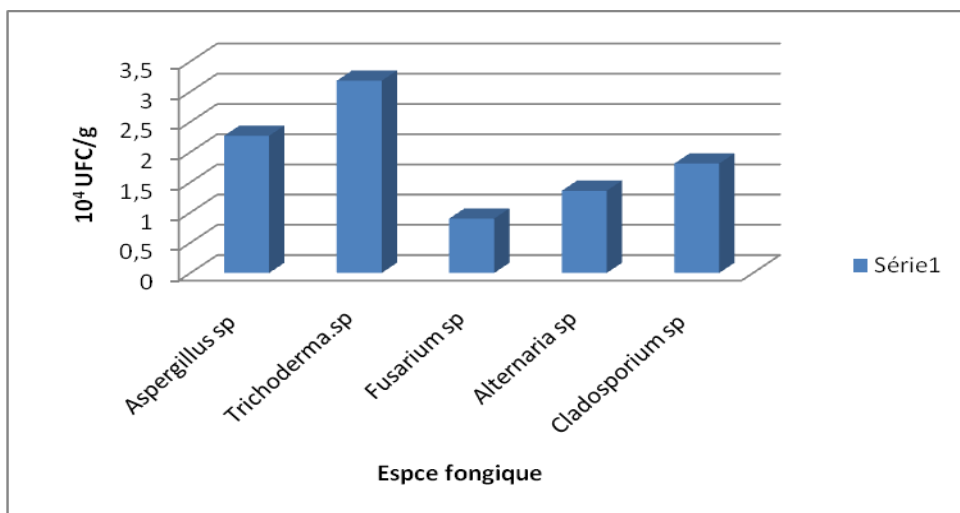
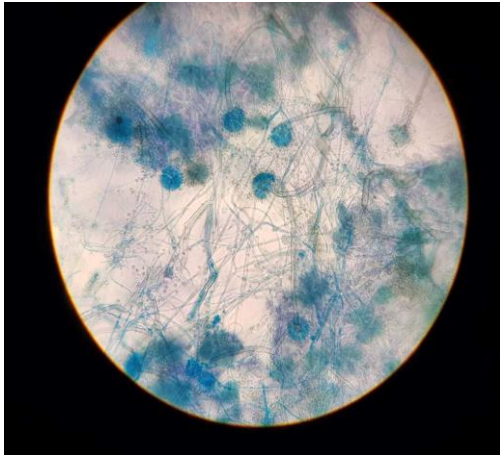


Figure 09 : Concentration de l'espèce dans 1 g de sol (UFC/g).

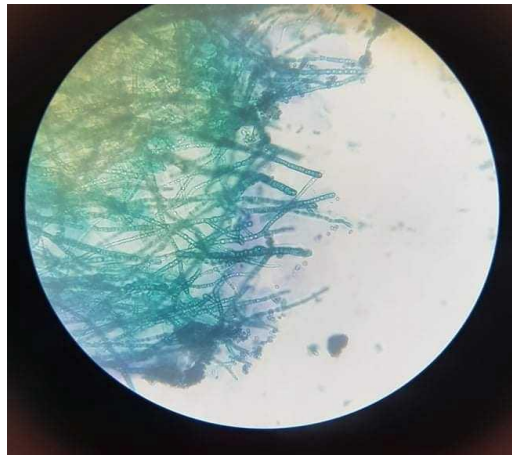
I.2. Caractérisation microscopique:

Une observation microscopique a été effectuée, mais on a réussi à visualiser juste deux espèces (figure 1).

Dans la première, on a observée la présence d'un mycélium non septé lié à des phialides (*Aspergillus niger*). dans la deuxième, il ya la présence des conidies libres et un mycélium septé (*Cladosporium sp*).



Aspergillus niger



Cladosporium sp

Figure 10: Observation microscopique de deux isolats fongiques.

II. Discussion :

Trichoderma sp. Sont des champignons naturellement présents dans le sol et représentent des constituants des communautés fongiques de la rhizosphère. Ils sont présents sur la surface des racines de nombreuses plantes (Harman et Kubicek, 1998). Ils sont d'excellents compétiteurs saprophytes car ils possèdent une croissance rapide et sont capables de se développer avec des teneurs en éléments nutritifs faibles par rapport à d'autres champignons saprophytes, sont capables de coloniser la rhizosphère et d'apporter leurs bienfaits durant toute la vie des plantes annuelles (Harman, 2000). Deux propriétés concernant *Trichoderma* sp peuvent être citées : ils améliorent la croissance et la productivité des plantes (Lindsey et al., 1967) et ils possèdent un effet suppressif des maladies dans le sol en tant que champignons antagonistes (agent de bio contrôle) (Chet et Baker, 1981). Des travaux ont montré que les maladies courantes des plantes telles que la pourriture des racines, la fonte des semis, le flétrissement, la pourriture des fruits et d'autres maladies des plantes peuvent être contrôlées par *Trichoderma* sp. (Mbarga et al., 2012). Les métabolites

secondaires sécrétés par *Trichoderma* sp. ont prouvé son rôle dans la suppression de la croissance des micro-organismes pathogènes et la stimulation de la croissance des plantes (Contreras-Cornejo et al., 2015). De plus, l'interaction entre la plante et *Trichoderma* spp. régule avec succès l'architecture racinaire, augmente la longueur des racines latérales et primaires qui se traduisent par l'efficacité de l'absorption des nutriments par la plante (Yedidia et al., 2001).

Aspergillus est l'un des champignons communs dans le sol de la rhizosphère (Wijeratne et al., 2003). Certains *Aspergillus* sont connus pour produire des produits chimiques favorisant les plantes tels que l'acide gibbérellique et l'acide indole acétique (Islam et al., 2014). Les *Aspergillus* sp ont été utilisés comme agents biologiques grâce à leurs différents mécanismes d'action durant l'antagonisme notamment mycoparasitisme par lyse mycélienne, et l'antibiose par synthèse des substances volatiles et / ou non volatiles (Dammi- Remadi, 2008). En effet, *A.niger* a montré une activité antifongique in vitro et in vivo contre les pathogènes (Mohamed & Abdel-Sater, 2001). De plus, (Senthilkumar et al., 2011) ont démontré la présence de diverses substances antifongiques qui sont actives contre *F. oxysporum*.

Les espèces de *Cladosporium*, champignons endophytes largement répandus dans le monde, sont connues pour être actives dans la protection des plantes contre différents stress biotiques et abiotiques. Basées sur la sécrétion de métabolites secondaires bénéfiques, ces espèces améliorent la capacité des plantes à s'adapter à de nouveaux habitats et à maintenir la santé et la performance des plantes. Parmi les métabolites sécrétés, un rôle clé est joué par les gibbérellines, hormones responsables de la stimulation de la croissance des plantes, notamment dans la germination des graines, l'allongement des tiges et l'expansion des feuilles (Hamayun et al., 2009). Le genre *Cladosporium* produit des métabolites naturels tels que la cladosporine qui peut agir comme antimicrobienne et insecticide (Pasqualotto, 2010).

Le *Fusarium* et de *Alternaria* sont des genres fongiques présents dans les de la rhizosphère végétale (Rodriguez et Régina, 2008), sont des phytopathogènes qui causent des maladies tels que l'alternariose au niveau des feuilles, et le fusariose (la fonte des semis, la pourriture des tiges et des racines), et d'autres maladies des céréales (Samson et al., 1996).

Ces pythopathogènes peuvent être contrôlées en appliquant des pratiques culturales : des fongicides, des cultivars résistants et des agents de lutte biologique tels que *Trichoderma* sp, *Aspergillus* sp (Waqas et al., 2015 ; Harman et Uphoff, 2019).

Durant le prélèvement on a remarqué une plante atteinte à la fusariose au niveau des racines, mais elle ne présente pas des symptômes de flétrissement au niveau de la partie foliaire. Donc on suggère que la plante a acquis une résistance, car le sol est bien garanti en microorganismes bénéfiques.

Conclusion

Dans cette étude, un isolement et caractérisation des différents microorganismes de la rhizosphère d'orge (*Hordeum vulgare*) ont été effectuée, dans le but d'observer des espèces bénéfiques aux plantes.

A cause de contamination et certain facteur limitant tel que la température, on a perdu plusieurs colonies notamment les bactéries. Donc les résultats ont été beaucoup plus liés aux champignons.

A base de caractérisation macroscopique nous avons pu reconnaître des différents genres fongiques. Les résultats ont montré la présence des genres très intéressants comme *Trichoderma* avec 33,33%, *Aspergillus* avec 23,8% et *Cladosprium* 19,4% qui peuvent être utilisés comme des agents de biocontrôle de nombreux ravageurs des plantes.

L'identification de ces champignons bénéfiques est purement qualitative. Donc il est d'intérêt primordial de fixer les points suivants comme perspectives :

De compléter l'identification des souches jusqu'au niveau de l'espèce par les caractéristiques microscopiques et moléculaires.

Etudier la présence du potentiel biotechnologique des espèces identifiées.

Références bibliographiques

- Anwar J et Iqbal Z. 2017. Effet des conditions de croissance sur l'activité antibactérienne de *Trichoderma harzianum* contre certaines bactéries pathogènes. *Sar. J. Agri.* **33** : 501–510.
- Arora N.K., Tewari S., Singh S., Lal N et Maheshwari D.K. 2012. PGPR for protection of planthealth under saline conditions. In: Maheshwari DK (ed.) *Bacteria in agrobiologie. Stress avant et après traitement par biopile et par désorption thermique : influence de la rhizosphère* 448-469.
- Bensmail S. 2012. Optimisation de la production de la protéase acide par *aspergillus niger* sur un milieu solide : purification et caractérisation, Thèse de Magistère, Université M'hamedBougara de Boumerdès, 141 p.
- Bissett J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J.Bot*, **69** : 2357-2372.
- Bolan N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant And Soil*, **vol. 134**:189-207.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gouthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y et Veau P. 2000. Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Collection Biotechnologie. 2è édition, Masson, Paris, **498** : 17-18, 34-206.
- Brea JM et Azcon-Aguilar C. 1982. Production of plant growth regulation substances by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Appl Environ Microbiol*, **43**:810-813.
- Brunner I et Brodbeck S. 2001. Response of mycorrhizal Norway spruce seedlings to various nitrogen loads and sources. *Environnemental pollution*, **n°114** : 223-233.
- Canadell J., Jackson R.B., Ehleringer J.R., Mooney H.A., Sala, O.E et Schulze E.D. 1996. Maximum rooting depth of vegetation types at *global scale*. *Oecologia*, **108** : 583-595.
- Canan U., 2013. Micro-organismes dans la lutte biologique contre les ravageurs - une revue (application de toxines bactériennes et effet des facteurs environnementaux), *progrès actuels de la recherche biologique*, **10** : 5772-55786.
- Cao R., Liu X., Gao K., Mendgen K., Kang Z., Gao J., Dai Yet Wang X. 2009. Mycoparasitisme of endophytic fungus isolated from reed from soilborn phytopathogeny fungi and production of cell-walls degrading enzymes in vitro. *Current Microbiology*, **59** : 548-592.

- Chandler D., Bailey A.S et Tatchell G.M. 2011. Le développement, la réglementation et l'utilisation de biopesticides pour la lutte intégrée contre les ravageurs. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* **366** :1987–1998.
- Chauhan J., Tomar Y., Indrakumar S., Seema A et Debarati A. 2009. Effect of growth hormones on seed germination and seedling growth of black gram and horse gram. *J Am Sci*, **5** : 79–84.
- Chaverri P., Castlebury L.A., Samuels G.J et Geiser D.M. 2003. Multilocus phylogenetic structure of *Trichoderma harzianum*/*Hypocrea lixii* complex. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **27**: 302-313.
- Chet I et Baker R. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, **71**: 286–290.
- Cooper K.M et Grandison G.S. 1987. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on infection of tamarillo (*Cyphomandra betacea*) by *Meloidogyne incognita* in fumigated soil. *Plant Disease*, **n°71**:1101-1106.
- Corbaz R. 1990. Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. 284 p.
- Dalpé, Y., 2005. Les mycorhizes : un outil de protection des plantes main non une panacée. *Phytoprotection*, **V. 86, n°1** : 53-59.
- Degenkolb T., Dohren H.V., Nielsen N.F., Samuels G. J et Bruckner H. 2008. Recent advances and future prospects in peptaibiotics, hydrophobin, and mycotoxin research, and their importance for chemotaxonomy of *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Chem. Biodivers*, **5**: 671-680.
- Dodd S.L., Lieckfeldt E., Chaverr I.P., Overton B.E et Samuels G.J. 2002. Taxonomy and phylogenetic relationships of two species of *Hypocrea* with *Trichoderma* anamorphs. *Mycological Progress*, **1** : 409-428.
- Donkin S.G et Williams P.L. 1995. Influence of developmental stage, salts and food presence on various end points using *Caenorhabditis elegans* for aquatic toxicity testing. *Environmental Toxicology and Chemistry. An International Journal*, **14 (12)** : 2139-2147.
- Duan. 2010. L'effet positif du *G. intraradices* a été augmenté par son habileté à coloniser rapidement et il a sûrement contribué à produire une bien plus grande fraction de la biomasse fongique que le *Gi. margarita*, lorsque

les deux ont été inoculés ensemble. Department of Pathology, University Health Network, Toronto, Ontario, Canada. **10 (7) : 7905–7912.**

- Dubey S.C., Suresh M et Singh B. 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f sp. Ciceris for integrated management of chickpea. *wilts. Biol. Contr*, **40** : 118-127.
- Dufossé, L. 2006. Microbial Production of food grade pigments. Food grade pigments, *Food Technol. Biotechnol.***44 (3) : 313–321.**
- Elad Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop. Prot*, **19** : 709-714.
- Elad, Y., Chet I., Boyle P et Henis Y. 1983. Parasitism of *Trichoderma spp.* on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology*, **73** : 85–88.
- Fortin J.A. 2008. Les mycorhizes : la nouvelle révolution verte. Québec. Édition multimondes, 131 p.
- Freeman S., Minz D., Kolesnik I., Barbul O., Zreibil A., Maymon M., Nitzani Y., Kirshner B., Rav-David D., Bilu A., Dag A., Shafir S et Elad Y. 2004. *Trichoderma* biocontrol of *Colletotrichum acutatum* and *Botrytis cinerea*, and survival in strawberry. *Eur. J. Plant Pathol*, **110** : 361-370.
- Gond S. K., Verma V. C., Kumar A., Kumar V et Kharwar R.N. 2007. Study of endophytic fungal community from different parts of *Aegle marmelos Correae* (*Rutaceae*) from Vanasi (India). *World J. Microbiol. Biotechnol*, **23** : 1371–1375.
- Harman G.E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis*, **84** : 377–393.
- Hinsinger P., Bengough A.G., Vetterlein D., Young I.M. 2009. *Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance*. *Plant and Soil*, **vol. 321, n°5**: 117-152.
- Jayalakshmi S.K., Raju S., Usha Rani S., Benagi V.I et Sreeramulu K. 2009. *Trichoderma harzianum* L1 as a potential source for lytic enzymes and elicitor of defense responses in chickpea 121 (*Cicer arietinum* L.) against wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceri. *Australian Journal of Crop Science*, **3**: 44-52.
- Leuchtmann A., Petrini O et Samuels G. 1996. Isozyme subgroups in *Trichoderma* section Longibrachiatum. *Mycologia*, **88**: 384-394.

- Lieckfeldt E., Samuels G. J., Börner T et Gams W. 1998. *Trichoderma koningii*: neotypification and *Hypocrea* teleomorph. *Can. J. of Bot*, **76**: 1507-152.
- Lindsey D.L et Baker R. 1967. Effect of certain fungi on dwarf Tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, *57*: 1262–1263.
- Lou J., YuR., Wang X et Mao Z. 2016. Ether 9-méthylque d’alternariol provenant du
- Lynch J.M et Whipps J.M. 1990. *Substrate flow in the rhizosphere*. *Plant and Soil*, **vol. 129, n°1** : 1-10.
- Maddau L., Franseschini A et Marras F. 2004. Endophytic fungi of forest trees as a source of bioactive metabolites, 239 p.
- Mahesh B., Tejesvi M.V., Nalini M.S., Prakash H.S., Kini K.R., Subbiah V et Shetty H.S. 2005. Endophytic mycoflora of inner bark of *Azadirachta indica*. *A. Juss. Curr. Sci*, **88** : 218-219.
- Marienhagen J et Bott M. 2013. Génie métabolique des micro-organismes pour la synthèse de produits naturels végétaux. *J Biotechnol*. **163** :166–178.
- Meyer S.L.F. 2001. Application de *Burkholderia cepacia* et *Trichoderma virens* seuls et en combinaisons contre *Meloidogyne incognita* sur poivron. *Nematropica*, **31** : 75–86.
- Mohamed-Benkada M. 2006. Evaluation du risque fongique en zones conchylicoles: substances toxiques de souches marines du genre *Trichoderma*. Thèse de Doct., Univ. Nantes, France :139 p.
- Monte E. et Liobell A. 2003. *Trichoderma* in organic agriculture, Proceedings V World Avocado Congress : 725-733 pp.
- Motlagh M.R.S et Samimi Z. 2013. Évaluation de *Trichoderma* spp en tant qu'agents biologiques dans certains agents pathogènes des plantes. *Anne. Biol. Rés*, **4** : 173-179.
- Nandini B., Hariprasad P., Shankara H.N., Prakash H.S et Geetha N.2017. Extrait total de protéines brutes de *Trichoderma* spp induit une résistance systémique du millet perlé contre le pathogène du mildiou. *3 Biotech*, **7** : 183 p.
- Olejnikova P., Hudecova D., Burgstaller W., Krystofova S et Varecka L. 2011. Transient excretion of succinate from *Trichoderma atroviride* submerged mycelia reveals the complex movements and metabolism of carboxylates. **100** : 55-66.
- Omura S. 1992. Tendances dans la recherche de métabolites microbiens bioactifs. *J Ind Microbiol*, **10 (3–4)** :135–156.
- Osmani S.A. 2007. The *Aspergillus* Genomics. Medical Aspects, *Biotechnology*, and Research Methods, CRC Press, (ISBN 978-1-4200-0851-7).

- Papavizas G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium* biology, ecology and the potential for biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol*, **23**: 23-77.
- plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, **68(3)** : 205-210.
- Rifai M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycol. Pap*, **116** : 1-56 .
- Samuels G.J. 2006. *Trichoderma*: systematics, the sexual state and ecology. *Phytopathology*, **96** :195-206.
- Schaap P. 2011. Evolutionary crossroads in developmental biology: *Dictyostelium discoideum*. *Development*, **vol. 138**, no 3 : 387–396.
- Schroth M.N et Hancock J.G. 1981. Selected topics in biological control. *Annu Rev Microbiol*, **34** : 453-476.
- Schroth M.N et Hancock J.G. 1982. Disease suppressive soil and root colonizing bacteria *Science* 216, 1376-1381.
- Selosse M.A. 2016. Existe-t-il des plantes sans symbiose. *Les Amis du Muséum National d'Histoire Naturelle*, Publication trimestrielle, Les Amis du Muséum, p. 24.
- Smith S.E et Read D.J. 1997. Mycorrhizal symbiosis. Second edition. Academic Press ; harcourt brace and company Publishers, 605 p.
- Spence C et Bais H. 2015. Rôle des régulateurs de croissance des plantes en tant que signaux chimiques dans les interactions plantes-microbes : une épée à double tranchant. *Curr Opin Plant Biol*. **27** : 52–58.
- Stevenson D.M et Weimer P.J. 2002. Isolation and characterization of a *Trichoderma* strain capable of fermenting cellulose to ethanol. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, **59** : 721-726.
- Survase S.A., Bajaj I.B et Singhal R.S. 2006. Production de vitamines. *Technologie alimentaire Biotechnol*, **44 (3)**:381–396.
- Tao L et Zhiwei Z. 2005. Arbuscular mycorrhizas in a hot and aride ecosystem in southwest China. *Appl Soil Ecol*, **29**: 135-141.
- Turner T.R., James E.K et Poole P.S. 2013. *The plant microbiome*. *Genome Biology*, **vol. 14**, n° 6 : 20.
- Vining L.C., 1990. Fonctions of secondary metabolites. *Annu. Rev. Microbiol*, **44** : 395-42.

- Widden P. et Scattolin V. 1988. Competitive interactions and ecological strategies of *Trichoderma spp.* colonizing spruce. *Mycologia*, **80** : 795-803.
- Wiese M.V. 1987. Compendium des maladies du blé. Société américaine de phytopathologie. 124 p.
- Zhang H.W., Song Y.C et Tan R.X. 2006. Biology and chemistry of endophytes. *Natural Products Reports*, **23** : 753-771.