

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Ecole nationale supérieure agronomique
Département : Botanique
Spécialité : Interaction plante- pathogène
et protection des plante

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة
القسم : علم النباتات
التخصص: تفاعل النباتات-ممرضات
النباتات وحماية النبات

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention Du Diplôme De Master

THEME

**Caractérisation biochimique et évaluation de l'effet biostimulant d'une collection de
Trichoderma spp. et essai de formulation d'un biofertilisant**

Présenté par : DJABOUB Dalia &
HAZOURLI Yasmine.

Soutenu Publiquement le : 11/11/2021

Devant le jury composé de :

Mémoire dirigé par :

Mme BOUREGHDA H.

Professeur à l'ENSA

Président :

M. KEDDAD A.

Maître Assistant A à l'ENSA

Examineur :

M. TRAIKIA A.

Maître Assistant A à l'ENSA

Promotion : 2016-2021

Sommaire

LISTE DES TABLEAUX.....	I
LISTE DES FIGURES.....	III
LISTE DES ABREVIATIONS.....	VI
LISTES DES ANNEXES.....	VII
INTRODUCTION GENERALE.....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	2
I. Généralités sur le genre <i>Trichoderma</i>	4
1 Historique de la taxonomie et position systématique.....	4
2 Présence de <i>Trichoderma</i> dans le monde.....	6
3 Présence de <i>Trichoderma</i> en Algérie.....	8
4 Ecologie de <i>Trichoderma</i>	8
5 Morphologie et développement de <i>Trichoderma</i>	8
6 Colonisation de la rhizosphère.....	9
7 <i>Trichoderma</i> comme agent de biocontrôle.....	10
8 Modes d'action de <i>Trichoderma</i>	10
8.1 Mode d'action direct.....	10
8.2 Mode d'action indirecte.....	11
9 Production des métabolites importants par <i>Trichoderma</i>	12
II. Caractérisation biochimique de <i>Trichoderma</i>	13
1 Solubilisation des éléments minéraux.....	13
2 Production des sidérophores.....	13
3 Production de l'acide indole acétique.....	14
4 Production d'enzymes.....	14
4.1 Les cellulases.....	14
4.2 Les hémicellulases.....	14
4.3 Les protéases.....	14
III. Pouvoir biofertilisant et biostimulant de <i>Trichoderma</i>	15
1. Les biostimulants et les biofertilisants.....	15
2. La biostimulation.....	15
2.1 Molécules responsables.....	15
2.2 Classification des biostimulants.....	16

2.3	Les champignons dans la biostimulation	17
2.3.1	Les champignons mycorhiziens	18
2.3.2	Les champignons endophytes	18
2.4	Effet biostimulant de <i>Trichoderma</i>	19
3.	La biofertilisation	20
3.1	Définition de la fertilisation	20
3.2	Importance et dangers de la fertilisation	20
3.3	Définition de la biofertilisation	21
3.4	Les bienfaits agronomiques de la biofertilisation.....	21
3.5	Rôle de <i>Trichoderma</i> dans la fertilisation des sols.....	21
4.	Les facteurs influençant l'efficacité des biostimulants et biofertilisants	22
5	L'effet biostimulant et bio fertilisant de <i>Trichoderma</i> sur blé	23
6	Processus de formulation des biostimulants et biofertilisants.....	23
6.1	Définition de la formulation.....	23
6.2	Processus de formulation d'un biofertilisant	23
6.2.1	Choix du microorganisme et des souches.....	23
6.2.2	Choix du transporteur (Substrat).....	24
6.2.3	Choix de type de formulation	25
6.2.4	Les additifs.....	25
6.2.5	Emballage des biofertilisants	26
7	Commercialisation des biofertilisants à base de <i>Trichoderma</i>	26
MATERIEL ET METHODES		2
I.	Matériel	29
1	Matériel fongique	29
2	Matériel végétal.....	30
II.	Méthodes	30
1	Purification des isolats de <i>Trichoderma</i> spp.	30
2	Caractérisation biochimique.....	31
2.1	Solubilisation du phosphate	31
2.2	Production de protéases.....	32
3	Essais de formulation d'un biofertilisant.....	33
3.1	Préparation du matériel fongique	33
3.2	Préparation des substrats du biofertilisant.....	33

3.3	Calcul des Unités formant colonie (UFC).....	34
4	Effet biostimulant <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> de <i>Trichoderma</i> spp. sur blé.....	35
4.1	Désinfection du matériel végétal.....	35
4.2	Analyse phytosanitaire des semences.....	36
4.3	Préparation de la suspension de spores	36
4.4	Effets des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur la germination des graines de blé et sur la croissance des coléoptiles <i>in vitro</i>	37
4.5	Effets des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur les paramètres de croissance des plantules de blé <i>in vivo</i>	38
4.5.1	Traitement des semences	38
4.5.2	Dispositif expérimental.....	38
4.5.3	Mesure des paramètres de croissance (poids frais, poids sec, hauteur des plants, et longueur des racines)	39
5	Analyses statistiques	39
	RESULTATS ET DISCUSSION.....	2
I.	Caractérisation biochimique de la collection de <i>Trichoderma</i> spp.	40
1	Résultats	40
1.1	Solubilisation du phosphate	40
1.2	Production des protéases	43
2	Discussion	46
II.	Essais de formulation d'un biofertilisant à base de <i>Trichoderma</i> spp.	47
1	Résultats	47
1.1	Apparition du mycélium.....	47
1.2	Calcul de la UFC (Unité Formant Colonie)	48
2	Discussion	49
III.	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur la germination des graines et la croissance des coléoptiles de blé <i>in vitro</i>	50
1	Résultats	50
1.1	Analyse phytosanitaire des semences.....	50
1.2	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur la germination et la croissance des coléoptiles des graines de blé <i>in vitro</i>	51
2	Discussion	58
IV.	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur l'émergence et la croissance du blé <i>in vivo</i>	59
1	Résultats	59

1.2	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur l'émergence du blé <i>in vivo</i> (taux de germination et vitesse d'émergence).....	59
1.3	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur le développement végétatif <i>in vivo</i> ..	61
1.4	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur le poids frais et poids sec des plants de blé <i>in vivo</i>	63
1.5	Effet des isolats de <i>Trichoderma</i> spp. sur la longueur du végétal et des racines des plants de blé <i>in vivo</i>	64
2	Discussion	69
CONCLUSION		69
Références Bibliographiques.....		71
ANNEXES		

Résumé :

En plus de son potentiel en biocontrôle, *Trichoderma* agit comme biostimulant des plantes par l'action de différents mécanismes directs, ainsi que biofertilisant en agissant sur la disponibilité des éléments nutritifs du sol. Dans ce travail, une caractérisation biochimique d'une collection d'isolats appartenant à trois espèces de *Trichoderma* (*T. atroviride*, *T. longibrachiatum* et *T. gamsii*) a été réalisée. L'évaluation de leur capacité solubilisatrice de phosphate a donné des résultats prometteurs pour les trois espèces, et a montré une variation de ce paramètre au sein de la même espèce. TL.8 (*T. longibrachiatum*) a marqué l'indice de solubilisation le plus important (IS=2,35). Par ailleurs, l'évaluation de production de protéases n'a pas donné de résultats. L'isolat TA.13 (*T. atroviride*) a été utilisé pour la formulation d'un biofertilisant à base de maïs et de riz. Le comptage d'UFC a montré une viabilité plus importante sur la formulation à base de riz. Une évaluation de la capacité biostimulante de ces isolats a été faite sur blé dur variété « Vitron », en premier lieu *in vitro* puis sous serre à conditions contrôlées (*in vivo*). Des résultats positifs ont été trouvés *in vivo* pour TL.9, TL.8, TN3, TG.2 et TG.12, induisant l'augmentation de plusieurs paramètres de croissance, dont celle du poids frais qui est liée (corrélée) à la solubilisation du phosphate.

Mots clés : *T. atroviride*, *T. longibrachiatum*, *T. gamsii*, solubilisation du phosphate, TA.13, germination, stimulation de la croissance.

Abstract

In addition to its biocontrol potential, *Trichoderma* acts as a plant biostimulant by the action of various direct mechanisms, as well as a biofertilizer by acting on the availability of soil nutrients. In this study, a biochemical characterization of a collection of isolates belonging to three *Trichoderma* species (*T. atroviride*, *T. longibrachiatum* and *T. gamsii*) was performed. The evaluation of their phosphate solubilizing capacity gave promising results for all three species, and showed variation in this parameter within the same species. TL.8 (*T. longibrachiatum*) scored the highest solubilization index (SI=2,35). Furthermore, the evaluation of protease production did not give any results. Isolate TA.13 (*T. atroviride*) was used for the biofertilizer formulation based on maize and rice as substrates. The CFU (Colony Forming Unity) showed a higher viability on the rice-based formulation. An evaluation of the biostimulant capacity of these isolates was done on the variety "Vitron" of durum wheat, first *in vitro* and then under controlled greenhouse conditions (*in vivo*). Positive results were found *in vivo* for TL.9, TL.8, TN3, TG.2 and TG.12, increasing several growth parameters, including that of fresh weight which is related (correlated) to phosphate solubilization.

Keywords : *T. atroviride*, *T. longibrachiatum*, *T. gamsii*, phosphate solubilization, TA.13, germination, growth promotion.

ملخص:

بالإضافة إلى نجاعة *Trichoderma spp.* في مكافحة البيولوجية، فإنها تعمل أيضا كمحفز حيوي للنباتات من خلال عدة آليات مباشرة، وكذلك كسماد حيوي بالعمل على توفير العناصر الغذائية في التربة. في هذه الدراسة، تم إجراء توصيف كيميائي حيوي لمجموعة من العزلات التي تنتمي إلى ثلاثة أنواع من *Trichoderma*: (*T. atroviride*) (*T. longibrachiatum*, *T. gamsii*) لتقييم دور هذه العزلات في تحلل الفوسفات أعطى نتائج واعدة بالنسبة للأنواع الثلاثة، وتبين في بعض الحالات وجود اختلاف في هذا المعيار حتى على مستوى نفس النوع، وسُجل لدى العزلة TL.8 (*T. longibrachiatum*) أعلى مؤشر للتحلل ($IS=2.35$) بالمقابل، لم يُسفر تقييم إنتاج البروتيناز عن أي نتائج إيجابية.

من ناحية أخرى، تم استخدام TA.13 (*T. atroviride*) لمحاولة صنع سماد حيوي أول أساسه الذرة، وآخر الأرز. وأظهر حساب الـ UFC فترة حياة أطول للفطر في السماد الذي أساسه الأرز. في القسم الثالث من الدراسة، أُجري تقييم لقدرة مختلف العزلات على التحفيز الحيوي للقمح الصلب "Vitron" أولا في المختبر ثم في الدفيئة تحت ظروف مراقبة. تم الحصول على نتائج إيجابية بالنسبة لـ TL.9, TL.8, TN3, TG.2, TG.12 أين أدت العزلات إلى تحفيز العديد من معايير النمو، بما في ذلك الوزن الطازج PF الذي أثبتت الدراسة وجود علاقة طردية بينه وبين قدرة العزلات على تحلل الفوسفات.

الكلمات المفتاحية: *T. atroviride*, *T. longibrachiatum*, *T. gamsii* ، تحلل الفوسفات، TA.13، انبات ، تحفيز النمو.