

الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للعلوم الفلاحية  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE El-Harrach  
ALGER

## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

**Département :** Botanique

**Spécialité :** Interaction plantes-pathogènes et protection des plantes

### THEME

**Purification et analyse de l'activité antagoniste des métabolites secondaires de *Trichoderma atroviride* P.Karsten (*Ta.13*) *in vitro* à l'égard de quelques espèces de champignons phytopathogènes.**

**Présenté par :**

GOUMGHAR Hind

**Soutenu le :** 06/07/2017

### Jury :

Président : M. BOUZNAD Z.

Professeur (ENSA, Alger)

Promoteur : Mme BOUREGHDA H.

Maitre de conférences A (ENSA, Alger)

Examineurs : Mme. LASSOUANE N.

Maitre de conférences B (ENSA, Alger)

M. TRAIKIA A.

Maitre-assistant A (ENSA, Alger)

**Promotion : 2012/2017**

## TABLE DES MATIERES

---

I.	LISTE DES FIGURES	
II.	LISTE DES TABLEAUX	
III.	LISTE DES ABREVIATIONS	
	<b>INTRODUCTION</b> .....	1
	<b>PARTIE I : Synthèse bibliographique</b>	
1	La lutte biologique .....	6
1.1	Définition de la lutte biologique.....	6
1.2	Historique .....	7
1.3	L'utilisation des champignons en lutte biologique .....	8
1.4	Les biopesticides .....	8
1.5	Les biofongicides à base de <i>Trichoderma</i> .....	9
2.	Données sur le genre <i>Trichoderma</i> .....	10
2.1	Description .....	10
2.2	Evolution de la taxonomie du genre <i>Trichoderma</i> : .....	11
2.3	Mode d'action .....	16
2.3.1	Introduction .....	16
2.3.2	La compétition.....	17
2.3.3	L'antibiose.....	17
2.3.4	Le mycoparasitisme.....	18
2.3.5	L'induction des mécanismes de défense de la plante.....	19
2.3.6	La stimulation de la croissance des plantes.....	20
3.	Les métabolites secondaires de <i>Trichoderma</i> spp.....	21
3.1	Définition .....	21

3.2	Les différents métabolites secondaires isolés chez <i>Trichoderma</i> spp.....	22
3.2.1	Les pyrones .....	22
3.2.2	Les dicetopipérazines .....	23
3.2.3	Les peptaibols.....	24
3.2.4	Les polyketides.....	25
3.2.5	Les terpènes.....	26

## **PARTIE II : Matériel et méthodes**

1.	Matériel fongique .....	28
1.1	L'agent antagoniste .....	28
1.2	Les agents pathogènes .....	28
2.	Méthodes .....	29
2.1	Évaluation de l'activité antagoniste <i>in vitro</i> de l'isolat Ta.13 vis-à-vis de quelques agents phytopathogènes.....	29
2.1.1	La confrontation directe .....	29
2.1.2	La confrontation indirecte .....	29
2.2	Production des métabolites secondaires de l'isolat Ta.13 de <i>T.atroviride</i> .....	31
	- Culture liquide de l'isolat Ta.13 .....	31
2.3	Extraction des métabolites secondaires de l'isolat Ta.13.....	32
2.4	Concentration du solvant à l'aide du rotavapor, et la récupération de l'extrait brut... 33	
2.5	Évaluation de l'activité antifongique de l'extrait brut du filtrat de culture de l'isolat Ta.13 <i>in vitro</i> .....	33
2.6	Analyse de l'extrait brut par chromatographie sur couche mince (CCM) et mise en évidence du 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone (6pp) chez l'isolat Ta.13.....	34
2.7	Fractionnement de l'extrait brut et purification des métabolites secondaires.....	36
2.8	Évaluation de l'activité antifongique des métabolites secondaires purifiés de l'isolat Ta.13 <i>in vitro</i> .....	38
3	Les analyses statistiques.....	39

## **PARTIE III : Résultats et discussion**

<b>1</b>	<b>Résultats</b> .....	<b>41</b>
1.1	Effet <i>in vitro</i> de l'isolat <i>T. atroviride</i> (Ta.13) sur la croissance mycélienne des six agents phytopathogènes.....	41
1.1.1	La confrontation directe.....	41
1.1.2	La confrontation indirecte .....	42
1.2	Extraction, fractionnement et purification des métabolites secondaires .....	46
1.2.1	Extraction des métabolites secondaires.....	46
1.2.2	Evaluation de l'activité antagoniste de l'extrait brut du filtrat de culture de l'isolat Ta.13 <i>in vitro</i> .....	47
1.3	Analyse de l'extrait brut et mise en évidence du 6-pentyl- $\alpha$ -pyrone (6pp) chez l'isolat Ta.13.....	51
1.4	Fractionnement de l'extrait brut et purification des métabolites secondaires.....	51
1.5	Evaluation de l'activité antifongique des métabolites secondaires purifiés (6pp, A, B, C) de l'isolat Ta.13 <i>in vitro</i> .....	54
1.5.1	Evaluation de l'activité antifongique du métabolite secondaire 6pp .....	54
1.5.2	Evaluation de l'activité antifongique du métabolite secondaire A.....	56
1.5.3	Evaluation de l'activité antifongique du métabolite secondaire B.....	59
1.5.4	Evaluation de l'activité antifongique du métabolite secondaire C.....	61
<b>2.</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>63</b>
	<b>CONCLUSION</b> .....	<b>70</b>
	<b>ANNEXES</b> .....	<b>83</b>
	<b>RESUME</b> .....	<b>89</b>

## Résumé :

La lutte biologique s'avère une méthode prometteuse, pour empêcher ou réduire les dégâts causés par les différents agents phytopathogènes. Les champignons du genre *Trichoderma* sont des champignons communs trouvés dans le sol, qui ont été largement étudiés et utilisés dans ce contexte. Cet agent de biocontrôle influence le développement et la survie des autres agents phytopathogènes. L'isolat *Ta.13* de l'espèce *Trichoderma atroviride* a démontré son activité antagoniste par confrontation directe et indirecte où il a inhibé significativement la croissance mycélienne de *B. cinerea*, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *M. majus*, *M. nivale* et *R. solani*, avec un pourcentage d'inhibition variable. Ce résultat a été même observé avec l'application de l'extrait brut du filtrat de culture. Par ailleurs, cet isolat produit de grandes quantités de métabolites secondaires qui réduisent la croissance mycélienne de *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *M. majus*, *M. nivale* et *R. solani*. Parmi ces produits, le 6pp et trois autres métabolites non identifiés (A, B, C) ont été testés. Le 6pp est le métabolite le plus efficace à l'égard de ces champignons, suivie par le métabolite B, en revanche le métabolite A a montré un effet moins inhibiteur que ces deux derniers. Quant au métabolite C son effet été très significatif sur *M. majus*.

**Mots clés :** *Trichoderma; atroviride*; Métabolite secondaire; 6pp; Biocontrôle.

## Abstract :

Biological control is a promising method of preventing or reducing the damage caused by different phytopathogenic agents. Species of genus *Trichoderma* are common fungi found in soil, which have been widely studied and used in this context. This biocontrol agent influences the development and survival of other phytopathogenic agents. The isolate *Ta.13* of *Trichoderma atroviride* demonstrated its antagonistic activity by direct and indirect confrontation, where it significantly inhibited the mycelial growth of *B.cinerea*, *F.culmorum*, *F.pseudograminearum*, *M.majus*, *M.nivale* and *R.solani*, with variable percentage. This result was even observed with the application of the crude extract of the culture filtrate. Moreover, this strain produces large quantities of secondary metabolites which reduce the mycelial growth of *F.culmorum*, *F. pseudograminearum*, *M.majus*, *M.nivale* and *R.solani*. Of these products, 6pp and three other unidentified metabolites (A, B, C) were tested. 6pp is the most effective metabolite for these fungi. Followed by the metabolite B, on the other hand the metabolite A showed a less inhibiting effect than the latter two. As for the metabolite C, its effect was very significant on *M. majus*.

**Keys words:** *Trichoderma; atroviride; secondary metabolit; 6pp; Biocontrol.*

## الملخص:

المكافحة البيولوجية هي وسيلة واعدة لمنع أو تقليل الأضرار الناجمة عن مسببات الأمراض النباتية المختلفة. تعتبر الفطريات من نوع *Trichoderma* والقائنة في التربة من الفطريات الأكثر شيوعاً، والتي تمت دراستها واستخدامها على نطاق واسع في هذا السياق. هذه الفطريات تؤثر على نمو وبقاء مسببات الأمراض النباتية الأخرى. العزلة *Ta.13* من النوع *T.atroviride* أظهرت قدرتها التضادية من خلال تقليل نمو العوامل الممرضة من خلال المواجهة المباشرة وغير المباشرة. حيث قامت بتثبيط نمو الفطريات *B.cinerea*, *F. culmorum*, *F. pseudograminearum*, *M. majus*, *M. nivale* et *R. solani*

بشكل معنوي، ومع تفاوت في نسبة التثبيط. وقد لوحظت هذه النتيجة حتى مع تطبيق المستخلص الخام المركز. وعلاوة على ذلك هذه العزلة قادرة على إنتاج كميات كبيرة من المركبات الثانوية التي تقلل من نمو لفطريات *F. Culmorum* و *F. pseudograminearum*, *M. majus*, *M. nivale* et *R. solani* ومن بين هذه المنتجات، 6pp وثلاث مركبات مجهولة أخرى (A، B، C) والتي تم اختبارها. وتبين أن 6pp هو المادة الأكثر فعالية. تلاه المركب B، ولكن المركب A وأظهر تأثير مثبط أقل من الآخرين. أما بالنسبة لتأثير المركب C فقد كان كبيراً جداً على *M. majus*.

الكلمات المفتاحية: *Trichoderma atroviride*, المركبات الثانوية، 6pp، مكافحة البيولوجية