

Nom et Prénom : EL KRIBEL SANAE

Date de soutenance : 26/06/2021

Directeur de Thèse : OUZZANI TOUHAMI AMINA

Sujet de Thèse :

Sélection et utilisation des *Trichoderma* spp. pour promouvoir la croissance des céréales et la lutte contre le complexe fongique responsable la pourriture racinaire

Résumé :

L'identification morphologique et moléculaire des *Trichoderma*, collectés des sols et des boues des laveries des phosphates et des racines des plantes se développant sur ces boues, a permis de les rapprocher à l'espèce *Trichoderma asperellum*. L'estimation de la solubilisation de phosphate de roche et de Tricalcium phosphate par les trente isolats de *Trichoderma* a été étudiée sur les milieux NBRIP et Pikovskaya. L'ensemble des isolats ont montré une bonne croissance radiale et une sporulation importante mais aucune zone claire autour de la colonie de *Trichoderma* n'a été observée. L'estimation quantitative a montré qu'il y a une augmentation simultanée de la concentration de phosphore soluble en fonction du temps et une diminution du pH. L'activité phytase des isolats de *Trichoderma* a été estimée in vitro sur le bouillon Pikovskaya modifié avec trois combinaisons différentes de phosphate lié (TCP) et de phosphates disponibles (KH₂PO₄). L'activité enzymatique maximale a été enregistrée chez les isolats TR-B 98 (3) ; T1 ; TR-TB 2000 ; TS-B 98 ; TR-EM 2 ; TR-B 98 (1) et TR-B 98/2002 (2), dans le bouillon contenant TCP seul, avec des valeurs qui dépassent 525.25 U/ml et qui atteignent 632.6 U/ml après 72h d'incubation. L'étude de l'activité antagoniste des *Trichoderma* vis à vis de six espèces fongiques responsables de la pourriture racinaires chez le blé et l'orge (*Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. roseum*, *Bipolaris sorokiniana* 1, *Curvularia spicifera* et *B. sorokiniana* 2) a été effectuée également in vitro. La plupart des isolats de *Trichoderma* testés ont présentés, en confrontation directe et par la production des substances volatiles, des pourcentages de colonisation qui ont varié de 49.33 à 75.43% et ont permis une inhibition importante de la croissance mycélienne et de la germination des spores des espèces pathogènes avec des pourcentages d'inhibition dépassant 70%. En confrontation indirecte, par la production des substances diffusibles, l'inhibition de la croissance mycélienne et de la germination des spores de l'ensemble des isolats pathogènes étudiées ont été faibles, avec respectivement des pourcentages d'inhibition de 29,5 et de 20,5%. In vivo, les *Trichoderma* étudiés ont montrés un effet positif sur la croissance et le rendement des plants de blé et d'orge se développant sur des substrats renfermant des concentrations croissantes de phosphate de roche. Les *Trichoderma* ont pu également coloniser avec le temps les substrats de culture étudiés et les racines des plantes de blé et d'orge de ces substrats, avec des pourcentages qui dépassent 62.43%, même quatre-vingt jours après l'installation de culture.

MOTS-CLES:

Trichoderma asperellum, boues de phosphates, identification morphologique, identification moléculaire, solubilisation de phosphate, Tricalcium phosphate, phosphate de roche, activité antagoniste, activité phytase, blé, orge, protection, croissance, rendement.

Abstract :

The morphological and molecular identification of *Trichoderma* collected from the soil and sludge from phosphate laundries and from the roots of plants growing on this sludge has made it possible to relate them to the species *Trichoderma asperellum*. The estimate of the solubilization of rock phosphate and Tricalcium phosphate by the thirty isolates of *Trichoderma* was studied on NBRIP and Pikovskaya media. All isolates showed good radial growth and heavy sporulation, but no clear areas around the *Trichoderma* colony were observed. Quantitative estimation showed that there is a simultaneous increase in the concentration of soluble phosphorus over time and a decrease in pH. The phytase activity of *Trichoderma* isolates was estimated in vitro on Pikovskaya broth modified with three different combinations of bound phosphate (TCP) and available phosphates (KH₂PO₄). Maximum enzyme activity was recorded in TR-B 98 isolates (3);

T1; TR-TB 2000; TS-B 98; TR-EM 2; TR-B 98 (1) and TR-B 98/2002 (2), in broth containing TCP alone, with values exceeding 525.25 U / ml and reaching 632.6 U / ml after 72 hours of incubation. The study of the antagonist activity of *Trichoderma* against six fungal species responsible for root rot in wheat and barley (*Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. roseum*, *Bipolaris sorokiniana* 1, *Curvularia spicifera* and *B. sorokiniana* 2) was also performed in vitro. Most of the *Trichoderma* isolates tested showed, in direct confrontation and by the production of volatile substances, colonization percentages which varied from 49.33 to 75.43% and allowed significant inhibition of mycelial growth and spore germination of pathogenic species with percentages of inhibition exceeding 70%. In indirect confrontation, by the production of diffusible substances, the inhibition of mycelial growth and spore germination of all the pathogenic isolates studied were weak, with inhibition percentages of 29.5 and 20.5%. respectively. In vivo, the *Trichoderma* studied showed a positive effect on the growth and yield of wheat and barley plants growing on substrates containing increasing concentrations of rock phosphate. The *Trichoderma* were also able to colonize over time the growing substrates studied and the roots of the wheat and barley plants of these substrates, with percentages exceeding 62.43%, even eighty days after the cultivation installation.

KEY WORDS:

Trichoderma asperellum, phosphate sludge, morphological identification, molecular identification, phosphate solubilization, tricalcium phosphate, rock phosphate, antagonist activity, phytase activity, wheat, barley, protection, growth, yield.

ملخص:

إن التحديد المورفولوجي والجزئي لفطريات التريكوودرما، التي تم جمعها من التربة والحماة من مغاسل الفوسفات ومن جذور النباتات التي تنمو على هذه الحماة، جعل من الممكن ربطها بالنوع التريكوودرما أسبريلوم. تمت دراسة تقدير تحلل الفوسفات الصخري والفوسفات ثلاثي الكالسيوم بواسطة ثلاثين عزلة من فطري التريكوودرما على وسائط NBRIP و Pikovskaya. أظهرت جميع العزلات نمواً شعاعياً جيداً و وتبوعاً كثيفاً، ولكن لم يتم ملاحظة مناطق واضحة حول المستعمرات. أظهر التقدير الكمي أن هناك زيادة في تركيز الفوسفور المتحلل مع مرور الوقت متزامنة مع انخفاض في حموضة الوسط السائل. تم أيضاً تقدير نشاط إنزيم الفيتاز لعزلات التريكوودرما في وسط Pikovskaya السائل المعدل بثلاثين تركيزاً مختلفة من الفوسفات ثلاثي الكالسيوم والفوسفات المتاح (KH₂PO₄). تم تسجيل أقصى نشاط للإنزيم في عزلات (TR-B 98 3 ؛ T1 ؛ TS-B 98 ؛ TR-TB 2000 ؛ TR-EM 2 ؛ TR-B 98/2002 (و) TR-B 98 1) ، في الوسط الذي يحتوي على الفوسفات ثلاثي الكالسيوم وحده ، مع قيم تتجاوز U/ml 525.25 وتصل إلى 632.6 U/ml بعد 72 ساعة من الحضنة. كما أجريت في المختبر دراسة نشاط مضادات التريكوودرما ضد ستة أنواع فطرية مسؤولة عن تعفن الجذور في القمح والشعير. أظهرت معظم عزلات التريكوودرما المختبرة، في المواجهة المباشرة وعن طريق إنتاج المواد المتطايرة، نسب استعمار تراوحت من 49.33 إلى 75.43٪. وسمحت بكبح كبير لنمو الفطريات وإنبات الجراثيم المسببة للأمراض مع نسب تثبيط تتجاوز 70٪. في المواجهة غير المباشرة، عن طريق إنتاج المواد القابلة للانتشار، كان تثبيط النمو الفطري وإنبات الأبوغ لجميع العزلات الممرضة المدروسة ضعيفاً، بنسب كبح 29.5 و 20.5٪ على التوالي .

أظهرت التريكوودرما التي تمت دراستها تأثيراً إيجابياً على نمو وإنتاجية نباتات القمح والشعير التي تنمو في أوساط تحتوي على تركيزات متزايدة من الفوسفات الصخري. كما تمكنت التريكوودرما مع مرور الوقت من استعمار أوساط الزراعة المدروسة وجذور نباتات القمح والشعير لهذه الأوساط، بنسب تزيد عن 62.43٪ ، حتى بعد مرور ثمانين يوماً من الزراعة.

الكلمات المفتاحية: تريكوودرما أسبريلوم ، حماة الفوسفات ، التعريف المورفولوجي ، التعريف الجزئي ، تحلل الفوسفات ، فوسفات ثلاثي الكالسيوم ، الفوسفات الصخري ، النشاط المضاد ، نشاط الفيتاز ، القمح ، الشعير ، الحماية ، النمو ، المحصول.