



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences Agronomiques

# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

## Thème

Étude de l'effet antagoniste des espèces fongiques contre *Fusarium oxysporum* f.  
sp *ciceris* agent pathogène du pois chiche (*Cicer areitinum* L).

Présenté par : GHERBI Amel, BOUZIANE Leila et MEKHALIF Imane

Soutenu le : 24/06/2023

Devant le jury :

Président : Dr F BELKASMI .....MCB (Université de BBA)

Encadrant : Dr D. MOUTASSEM ..... MCA (Université de BBA)

Examineur : Dr A MERIBAI ..... MCB (Université de BBA)

Année universitaire : 2022/2023

## **Étude de l'effet antagoniste des espèces fongiques contre *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris* agent pathogène du pois chiche (*Cicer areitinum* L).**

### **Résumé**

Ce travail porte sur l'isolement, l'identification et l'effet antagoniste des *Trichoderma* isolés à partir du sol sur *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris* (Foc) agent du flétrissement vasculaire du pois chiche. Dans les essais *in vitro*, l'ensemble de souches fongiques testées ont montré un effet inhibiteur très remarquable sur la croissance mycélienne de Foc avec des fréquences variables entre 28 et 85% par le test direct et entre 56.73 et 66.08% par confrontation indirecte. Les spores des espèces fongiques antagonistes ont montré un effet positivement significatif dans l'inhibition de la germination des spores de Foc. Cette inhibition a été marquée variable entre 47 et 88.33%. Par ailleurs, les filtrats de culture ont également inhibé la croissance mycélienne du Foc, dont l'intervalle d'efficacité est variable entre 9.72 et 100%. L'efficacité avec l'augmentation de la concentration. Toutefois, les filtrats ont exposé aussi une inhibition très remarquable sur la germination des spores de Foc avec des fréquences variables entre 6.12 et 83.33%. Les traitements *in vivo* exposent une diminution de la gravité de la maladie entre 57.62% et 79.66 %.

**Mots-clés.** *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *Trichoderma* sp, espèces fongiques, antagonisme.

**Study of antagonistic effect of fungal species against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick), causal agent of chickpea vascular wilt.**

**Abstract**

This work deals with the isolation, identification and the antagonistic effect of *Trichoderma* isolated from soil on *Fusarium oxysporum* sp causative agent of vascular wilt of chickpea. In *in vitro* tests, use of strains of *Trichoderma* sp scored zones of inhibition of mycelial growth of 28 and 85% by the direct test and 56.73 to 66.08% % by the indirect test. In addition, the culture filtrates also inhibited the mycelial growth of Foc, with an efficacy range 9.72 to 100%. Moreover, the culture filtrates also inhibited the mycelial growth of Foc, whose efficiency range is variable between 9.72 and 100%. Efficiency with increasing concentration. However, the filtrates also exhibited a very remarkable inhibition on the germination of Foc spores with variable frequencies between 6.12 and 83.33%. The spores of the antagonistic fungal species showed a positively significant effect in inhibiting the germination of Foc spores. This inhibition was marked variable between 47 and 88.33%. In *in vivo* treatments, results show a decrease in disease severity between 36.01 disease severity between 47 and 88.33%.

**Keywords.** *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, *Trichoderma* sp, fungal species, antagonisme..

**ملخص**

يركز هذا العمل على عزل وتعريف وتأثير التريكوثيرما المعزول من التربة على *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Foc) عامل الذبول الوعائي للحمص. في الاختبارات المعملية ، أظهرت مجموعة السلالات الفطرية التي تم اختبارها تأثيرًا مثبتًا ملحوظًا للغاية على النمو الفطري لـ Foc بترددات متغيرة بين 28 و 85% عن طريق الاختبار المباشر وبين 56.73 و 66.08% بالمواجهة غير المباشرة. أظهرت أبواغ الأنواع الفطرية المضادة تأثير معنوي إيجابي في تثبيط إنبات جراثيم Foc. هذا التثبيط كان متفاوتًا بين 47 و 88.33%. علاوة على ذلك ، فإن عوامل الترشيح المزروعة تمنع أيضًا النمو الفطري لـ Foc ، والتي يتراوح مدى كفاءتها بين 9.72 و 100%. الكفاءة مع زيادة التركيز. ومع ذلك ، أظهرت الفلاتر أيضًا تثبيطًا ملحوظًا جدًا لإنبات جراثيم Foc بترددات متغيرة بين 6.12 و 83.33%. أظهرت العلاجات في الجسم الحي انخفاضًا في شدة المرض بين 36.01 و 88.33%.

**الكلمات المفتاحية.** أوكسيسبوروم الفيوزاريوم و. ص *ciceris* ، *Trichoderma* sp ، الأنواع الفطرية ، العداء.

# *Remerciement*

Tout d'abord nous remercions Dieu qui nous a permis de mener cette mémoire de fin d'étude

Nous adressons ici notre remerciement à :

Monsieur MOUTASSEM Dahou de nous avoir dirigé au long de ce travail et nous avoir fait bénéficier de son expérience, sa gentillesse et ses orientations qui ont été d'un grand apport pour établir ce mémoire.

Nos remerciements à tous nos enseignants et enseignantes pour leur patience et bien vaillance au long de notre parcours universitaire.

Nous exprimons nos sincères remerciements et notre gratitude à tous les membres du jury pour avoir évalué ce travail,

Nous tenons tout d'abord à remercier sincèrement Dr F BELKACMI qui nous a fait l'honneur de présider ce jury,

Nos remerciements sincères et respectueux également à Mr A MERIBAI qui a accepté de faire part de ce jury, d'examiner et juger notre travail

# *Dédicace*

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Je dédie ce travail à

A Mon Père Bachir Pour m'avoir donné la vie et la joie de vivre. Vos conseils et bénédictions n'ont jamais  
fait défaut

Ma chère maman Louiza la prunelle de mes yeux, qu'elle trouve ici ma plus profonde gratitude et tout  
mon amour pour sa patience et son soutien et surtout pour ses prières pour moi tout au long de mes  
études. Je lui souhaite une santé meilleure et longue vie. et ma grande mère hafsa

À mon cher mari **ABED SAMED**, pour la patience et le soutien dont il a fait preuve pendant toute la durée  
de ce travail et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitude. Merci infiniment et ma belle-  
mère Omlkhir et oncel ali

A mes sœurs Samira fayza yamna fatma Nadjet Qui ont partagé avec moi les joies et les peines de la vie.

À mes amis Amel Ines Imene qui ont été présents dans les bons et les mauvais moments.

*Leila*

# *Dédicace*

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Je dédie ce travail à

A mon très cher père Lakhder, Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux

Ma chère maman Souhila, Je lui souhaite une santé meilleure et longue vie

Et mon mari TAIBI *Milod*, Tu m'as compris, soutenu sans condition, et je suis heureuse de partager cette aventure ainsi que le reste de ma vie avec toi. Et sans oublier mon petit fils *ADEM* et ma sœur Taibi asma

À mes amis

Imene, leila, Ines qui ont été présents dans les bons et les mauvais.

*Amel*

# *Dédicace*

الحمد لله الذي بنعمته تتم الصالحات

Je dédie ce travail à

A mes chers parents, PAPA NASER et MAMAN NASSIMA pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes sœur Khawla Donia Bouthaina et la petite jolie Rihab et le seule frère islem Qui ont partagé avec moi les joies et les peines de la vie.

A mon grand-père Youcef et Ma grande mère Malika qui je vos adore

À mes amis

Amel, leila, Ines qui ont été présents dans les bons et les mauvais

## *Imane*

## TABLE DES MATIERES

|                                   |           |
|-----------------------------------|-----------|
| <b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>   |           |
| <b>LISTE DES FIGURES.....</b>     |           |
| <b>LISTE DES ABREVIATION.....</b> |           |
| <b>INTRODUCTION</b>               | <b>01</b> |

### CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

|   |    |
|---|----|
| 1. 1. Matériel biologique .....   | 03 |
| 1.1. Matériel fongique .....  | 03 |
| 1.2. Matériel végétal .....   | 03 |
| .....   |    |
| 2. Isolement des espèces fongique antagonistes à partir du sol rhizosphérique.....          | 03 |
| 2.1. Prélèvement des échantillons de sols rhizosphériques.....                              | 03 |
| 2.2.Purification et obtention des cultures monospores .....                                 | 04 |
| .....   |    |
| 2.3. Obtention de la culture monospores .....   | 04 |
| 3. Tests antagonistes in vitro .....  | 07 |
| 3.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture .....                           | 07 |
| 3.2. Confrontation par contact indirect sur milieu de culture .....                         | 07 |
| 3.3. Analyse de la compétitive entre les spores de Trichoderma et les spores de Foc .....   | 08 |
| 3.4. Sélection des isolats .....  | 09 |
| .....   |    |
| 2.3.4. Effet des filtrats de culture.....   | 09 |
| 3.4.1. Préparation des filtrats .....   | 09 |
| 3.4.2. Activité antifongique des filtrats de culture sur la croissance mycélienne de Foc... | 09 |
| .4.3. Activité antifongique des filtrats de culture sur la germination des spores de Foc... | 10 |
| . Test antagonistes in vivo.....  | 10 |
| 4.1. Préparation de l'inoculum du Foc .....   | 10 |
| 4.2. Expression des résultats .....   | 11 |
| 4.2.1. Mesure de la sévérité d'attaque .....  | 11 |
| 4.2.2. Calcul de l'indice de flétrissement (DII) .....                                      | 12 |
| 4.2.3. Calcul de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress .....                             | 12 |

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| Curve).....                    |    |
| 5. analyses statistiques ..... | 12 |

## **CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION**

|  |           |
|--|-----------|
| 1. Présentation des résultats .....  | 13        |
| 1.1. Analyse de la mycoflore isolés à partir de la rhizosphère de pois chiche..... | 13        |
| 1.2. Description morphologique de quelques espèces fongiques recensées .....       | 13        |
| 1.2.1. Aspergillus sp .....  | 13        |
| 1.2.2. Pénicillium sp.....   | 14        |
| 1.2.3. Fusarium sp.....  | 14        |
| 1.2.4. Alternaria sp.....  | <u>14</u> |
| 1.2.5. Epicoccum sp.....   | 14        |
| 1.3. Résultats des tests antagonistes.....   | 15        |
| 1.3.1. Résultats des tests directs.....  | 15        |
| 1.3.2. Résultats des confrontations indirects.....                                 | 17        |
| 1.3.3. Effet de l'inhibition sporale.....  | 19        |
| 1.3.4. Effet des Filtrats de culture sur la croissance mycélienne du Foc.....      | 20        |
| 1.3.5. Effet des Filtrats de culture sur la germination des spores du Foc.....     | 24        |
| 1.4. Effet des espèces fongiques in vivo .....                                     | 24        |
| .....  |           |
| <b>DISCUSSION</b> .....  | 24        |
| <b>CONCLUSION</b> .....  | 30        |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....   |           |
| <b>RESUMES</b> .....   |           |

## LISTE DES FIGURES

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1.</b> Matériel fongique utilisés dans cette étude (A : Tsa 10 ; B : Tsa03 ; C : TsaDk ; D : Tsa Ik ; E : TsaJk ; F : Tsa 20 ; G : TsaDh ; H : Tsa 22).....   | 3  |
| <b>Figure 2.</b> Efficacité des huiles essentielles d' <i>E. globulus</i> sur la croissance mycélienne du Foc en traitement direct et indirect.....   | 11 |
| <b>Figure 3.</b> Effet de l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> sur la croissance mycélienne du Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±l'erreur standard. Les lettres a, b, ...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.....  | 13 |
| <b>Figure 4.</b> Résultats des traitements de la variété Flip 90-13C par les différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>E.globulus</i> . Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±l'erreur standard. Les lettres : a, b,... représentent le niveau de signification au seuil de 5%..... | 14 |
| <b>Figure 5.</b> Résultats des traitements de la variété Flip 90-13C par les différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>E.globulus</i> .....   | 14 |
| <b>Figure 6.</b> Résultats des activités antagonistes des <i>Trichoderma sp in vitro</i> . A) Résultats des tests antagonistes direct, B) Résultats des tests antagonistes indirect.....  | 15 |
| <b>Figure 7.</b> Résultats de test de confrontation A) directe et B) indirect des espèces de <i>Trichoderma sp</i> contre le Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±ES. Les lettres a, b, ...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.....                                      | 16 |
| <b>Figure 8.</b> Résultats de test des filtrats des cultures de dix espèces de <i>Trichoderma sp</i> contre le Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±ES. Les lettres a, b, ...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.....  | 17 |
| <b>Figure 9.</b> Effet des filtrats de culture de <i>Trichoderma sp</i> sur la croissance mycélienne du Foc <i>in vitro</i> .....   | 18 |
| <b>Figure 10.</b> Observations microscopiques de la zone de confrontation entre <i>Trichoderma sp</i> et le Foc. a) enroulement de mycélium de <i>Trichoderma sp</i> sur le Foc, b) vacuolisation et c) lyse des hyphes de Foc.....   | 18 |
| <b>Figure 11.</b> Résultats des tests antagonistes de sept espèces de <i>Trichoderma sp in vivo</i> .   | 20 |
| <b>Figure 12.</b> Résultats des tests antagonistes de onze espèces de <i>Trichoderma sp in vivo</i> . Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± ES. Les lettres indiquent une différence significative entre les moyennes à p<0,05.....  | 20 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 13.</b> Résultats d synergisme de confrontations direct (A) et indirect (B) des souches de <i>Trichoderma sp</i> avec l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> . Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions± ES. Les lettres a, b, ...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.....   | 21 |
| <b>Figure 14.</b> résultats des associations <i>Trichoderma sp</i> est l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> dans une test de contact direct. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions± ES. Les lettres a, b, ...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.....   | 23 |
| <b>Figure 16.</b> Résultats des associations <i>Trichoderma sp</i> et l'huile essentielle d' <i>E. globulus</i> dans un test de contact direct. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions± ES. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.....  | 25 |
| <b>Figure 17.</b> Synergisme entre les espèces de <i>Trichoderma sp</i> et l'huile essentielles <i>E. globulus</i> ( A. <i>Trichoderma</i> 8 20µL/mL;B <i>Trichoderma</i> 5 20µL/ml ; C. <i>Trichoderma</i> 30 20µL/mL ;D. <i>Trichoderma</i> 10 20µL/m L; E <i>Trichoderma</i> Dk 20µL/mL ; F <i>Trichoderma</i> Dh20µL/mL ; G <i>Trichoderma</i> Hk 20µL/mL ; H Témoin ). | 27 |
|   |    |
|   |    |

### Liste des tableaux

**Tableau 1** Effet synergique des associations *Trichoderma sp* et l'huile 22  
essentielle d'*E. globulus* dans un test de contact direct.

**Tableau 2** Effet synergique des associations *Trichoderma sp* et l'huile 23  
essentielle d'*E. globulus* dans un test de contact direct.

**Tableau 3** Effet synergique des associations *Trichoderma sp* et l'huile 24  
essentielle d'*E. globulus* dans les tests *in vivo*.

## LISTE DES ABREVIATION

**°C** : degrés celsius

**μL** : microlitre

**ANOVA** : annalyse of variance

**AUDPC** : area under the curve progressing of the desease

**Cm** : centimètre

**DI** : incidence

**DII** : l'index de l'intensité de la maladie

**Foc** : *Fusariumoxysporum*

**g** : gramme

**I** : indice d'hinibition

**ISM** : l'indice de sévérité moyenne

**ITGC** : institut technique des grandes cultures

**Kg** : kilogramme

**mL** : Millilitre

**ml** : millilitre

**Mm** : millimètre

**PDA** : potato dextrose agar

**PDB** : potato dextrose broth

**Ppm** : partie par million

**SAS** : Statistical Analysis System

**GLM** : General Liner Model.

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une légumineuse à graines qui constitue une source importante de protéines pour l'alimentation humaine et animale (Younesi et al., 2021 ; Bhar et al., 2021). Par son aptitude à fixer l'azote atmosphérique, cette culture joue un rôle déterminant dans la nutrition azotée par la fixation de l'azote atmosphérique (Moutassem et al., 2018 ; Bhar et al., 2021).

Par rapport à la moyenne mondiale (995 kg/ha), les performances de la culture de pois chiche en Algérie représente environ la moitié de la production mondiale. Divers facteurs sont impliqués dans cette faible productivité, dont les plus importants sont les mauvaises pratiques agronomiques et la sensibilité des cultivars de pois chiche aux maladies (Moutassem et al., 2018 ; Moutassem et al., 2019, Bhar et al., 2021).

En effet, la fusariose vasculaire, causée par *Fusarium oxysporum* Schlechtend : Pr. F. sp. ciceris (Padwick) T. Matuo & K. Satois est la maladie la plus dévastatrice de la culture de pois chiche après l'ascochytose [incitée par *Ascochyta rabiei* (Pass.) (Meseret et Getahun, 2022). dans les principales zones de production de pois chiches dans le nord-ouest de l'Algérie (Moutassem, 2020). Dans le Nord-Ouest du pays 98% des champs prospectés sont affectés par la fusariose du pois chiche (Moutassem, 2020). Cette maladie provoque de graves pertes de récolte pouvant atteindre 100 % dans les conditions favorables de développement de la maladie (Navas-Cortés, et al., 2000, Younesi et al., 2021 ; Bhar et al., 2021 ; Meseret et Getahun, 2022).

La fusariose du pois chiche est une maladie monocyclique dans laquelle le développement est entraîné par l'inoculum primaire de l'agent pathogène. L'agent pathogène causal pourrait survivre sur les résidus de culture (racines et tiges) enfouis dans le sol pendant au moins six ans (Hawareet al., 1996, Moutassem et al., 2019, Bhar et al., 2021 ; Meseret et Getahun, 2022). Dans ce cadre, la lutte contre cette maladie doit se concentrer sur l'exclusion des agents pathogènes en réduisant la quantité et/ou l'efficacité de l'inoculum initial (Jimenez-Díaz et al., 2015, Meseret et Getahun, 2022).

Pour réduire l'importance de cette maladie, les producteurs ont souvent recours à tout un arsenal de pesticides (Jarvis, 1993 ; Lumsden et Lewis 1989 ; Ole Becker et Schwinn, 1993) avec des résultats souvent mitigés (Besnard et Davet, 1993., De Waard et al., 1993., Jarvis, 1993). L'utilisation excessive de fongicides chimiques peut entraîner la pollution de l'environnement et avoir pour conséquence l'émergence de pathogènes résistants aux fongicides spécifiques et, par ailleurs, sont responsables de divers problèmes de santé chez les humains et les animaux (Gerhardson, 2002).

## Introduction

---

A cet effet, une réduction ou une élimination des applications des pesticides synthétiques dans l'agriculture est fortement souhaitable. Un des moyens les plus prometteurs est l'utilisation de nouveaux outils basés sur les agents de biocontrôle (Abhishek et al., 2021, Sharma et Gaur, 2021). Les microorganismes antagonistes à des agents phytopathogènes ont été découverts et certains d'entre eux sont utilisés comme agents de lutte biologique contre les maladies des plantes (Abhishek et al., 2021, Sharma et Gaur, 2021).

Beaucoup d'antagonistes existent sûrement dans la nature et entraînent une lutte biologique plus ou moins efficace sur les phytopathogènes (Joshi et al., 2021 ; Kumar et al., 2021). L'homme a toujours essayé d'augmenter l'efficacité des antagonistes à travers l'introduction de nouvelles grandes populations de ces microorganismes au champ où elle n'existe pas, ou à travers la stimulation de leur croissance en apportant des amendements au sol synergiques (Contreras-Cornejo et al., 2022 ; Kumhar et al., 2022). Dans les deux cas, le résultat est un accroissement des activités inhibitrices des antagonistes contre les pathogènes.

Dans ce contexte, une attention particulière a été portée aux champignons antagonistes, principalement à cause de leur potentiel à diminuer la densité de l'inoculum des champignons pathogènes (Dennis et Webster, 1971 ; Siya et al., 2022). De nombreux travaux ont démontré que les *Trichoderma* ont un potentiel de lutte intéressant contre divers agents pathogènes (Hariharan et al., 2023).

Les propriétés antagonistes des *Trichoderma* sont connues depuis longtemps puisque la première publication qui en fait mention date de 1887. Cependant, l'étude approfondie du phénomène d'antagonisme et de son application comme moyen de lutte à l'égard des parasites des plantes cultivées n'a débuté qu'entre les deux guerres mondiales (Siya et al., 2022). En effet, *Trichoderma* est capable d'attaquer différents agents pathogènes par des mécanismes variés dont les principaux sont l'antibiose, la compétition et le parasitisme qu'il utilise de manière complexe, indépendamment ou en synergie (Contreras-Cornejo et al., 2022 ; Kumhar et al., 2022).

L'objectif de ce travail est d'apporter un plus dans la lutte biologique par la mise en évidence de espèces fongiques indigènes bénéfiques pour les plantes. Ce travail consiste à la mise en évidence de l'activité antifongique des quelques souches fongiques contre *Fusarium oxysporum* f. Sp *ciceri* (Foc) agent de la fusariose vasculaire du pois chiche *in vitro* et *in vivo*.

**1. Matériel biologique****1.1. Matériel fongique**

Le matériel fongique pathogène est figuré par un isolat de *Fusarium oxysporum* f .sp. *ciceris* (Foc) ; agent responsable de flétrissement vasculaire du pois chiche. Cet isolat est originaire de la région d'Ain Témouchent (Algérie), isolé à partir des tiges de pois chiche présentant les symptômes de la maladie. L'isolat a été obtenu à partir de la collection de Foc récoltée par Moutassem (2020). Le test de pathogénicité effectué par le même auteur indique que l'isolat choisi a montré un aspect très agressif.

**1.2. Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué d'une seule variété de pois chiche Guab 4. Cette variété nous ont été fournées par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif, où elle est multipliée chaque saison.

**2. Isolement des espèces fongique antagonistes à partir du sol rhizosphérique****2.1. Prélèvement des échantillons de sols rhizosphériques**

Dans le but d'emporter des isolats fongiques antagonistes, des prélèvements des échantillons de sols rhizosphériques de plantes de pois chiche ont été effectués au cours de la saison agricole 2022-2023 dans la région de Mascara dans l'Ouest algérien. Les prélèvements ont été réalisés à l'aide d'une spatule propre à une profondeur de 15-25 cm pour arracher entièrement la plante saine de la lentille avec le sol adhérent aux racines (la rhizosphère).

Les échantillons des sols prélevés ont été placés dans des sacs en papiers craft, bien fermés, ramenés au laboratoire de phytopathologie. Les échantillons du sol ont été tamisés, séchés à l'air libre pendant 15 jours, puis conservés dans au réfrigérateur à 4°C en vue d'une analyse fongique.

L'isolement de la flore fongique antagoniste à partir du sol rhizosphérique a été effectué selon la technique de suspensions-dilutions décrite par Davet et Rouxel (1997). Cette technique consiste à additionner 1g de sol dans 9 ml d'eau distillée stérile. Une agitation a été effectuée sur le mélange en utilisant un agitateur vortex pendant 10 min. le mélange a été laissé reposer pendant 10 min. Un prélèvement de 1 ml de solution mère est mis aseptiquement dans 9 ml d'eau distillée stérile suivi d'une agitation ce qui signifie la concentration  $10^{-1}$ , ainsi de suite jusqu'à la dilution  $10^{-4}$ . Un ml de chaque suspension a été additionné à 9ml de PDA tiède, bien agitée avec un agitateur vortex. Le mélange a été versé dans des boîtes de boîte de Pétri stérile. Ces dernières ont été incubées à 25°C

pendant 7 à 15 jours. Après incubation, la fréquence d'isolement de chaque genre fongique a été calculée.

## **2.2. Purification et obtention des cultures monospores**

Les isolats fongiques poussés sur le milieu de culture ont été enlevés à l'aide d'une pince stérile, et transférés dans de nouvelles boîtes de pétri stériles contenant un milieu de culture PDA, bien scellées par le parafilm et incubés à  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ .

Les microorganismes isolés ont été purifiés par deux ou trois repiquages successifs, mono-colonie. Une fois purifié, chaque isolat est désigné par un numéro de code. La conservation des microorganismes ainsi désigné se fait au réfrigérateur à une température de  $4^{\circ}\text{C}$ .

## **2.3. Obtention de la culture monospores**

Pour étudier la variabilité culturelle des isolats fongiques, il est indispensable de réaliser des cultures monospores (Moutassem, 2020). L'obtention des cultures monospores est accomplie selon la technique décrite par Belabid (2003). Des cultures monospores ont été obtenues à partir de cultures fongiques âgées de 7 jours. Une suspension sporale est diluée dans l'eau physiologique, de façon à obtenir une concentration voisine de 20 spore/ml. Une goutte de suspension contenant 2 à 5 conidie ont été déposées et étalées à la surface du milieu PDA en boîte de Pétri. Après 24 heures d'incubation à l'obscurité et à  $25^{\circ}\text{C}$ , les germinations issues d'une unique spore sont d'abord repérées, au fort grossissement de la loupe binoculaire puis prélevées stérilement et déposées séparément sur le milieu de culture PDA en boîte de Pétri.

Après deux semaines d'incubation, le comportement de chaque thalle issu de la germination des spores est observé (aspect du mycélium et pigmentation). Si tous les thalles présentent des caractères morphologiques identiques entre eux et à ceux de la culture mère, un seul est choisi pour constituer le clone représentatif de l'isolat de départ. L'observation des colonies est faite sept à huit jours après la mise en culture. Les colonies sont ensuite déterminées, ce qui permet d'établir la fréquence d'isolement de chaque espèce fongique pour chaque échantillon.

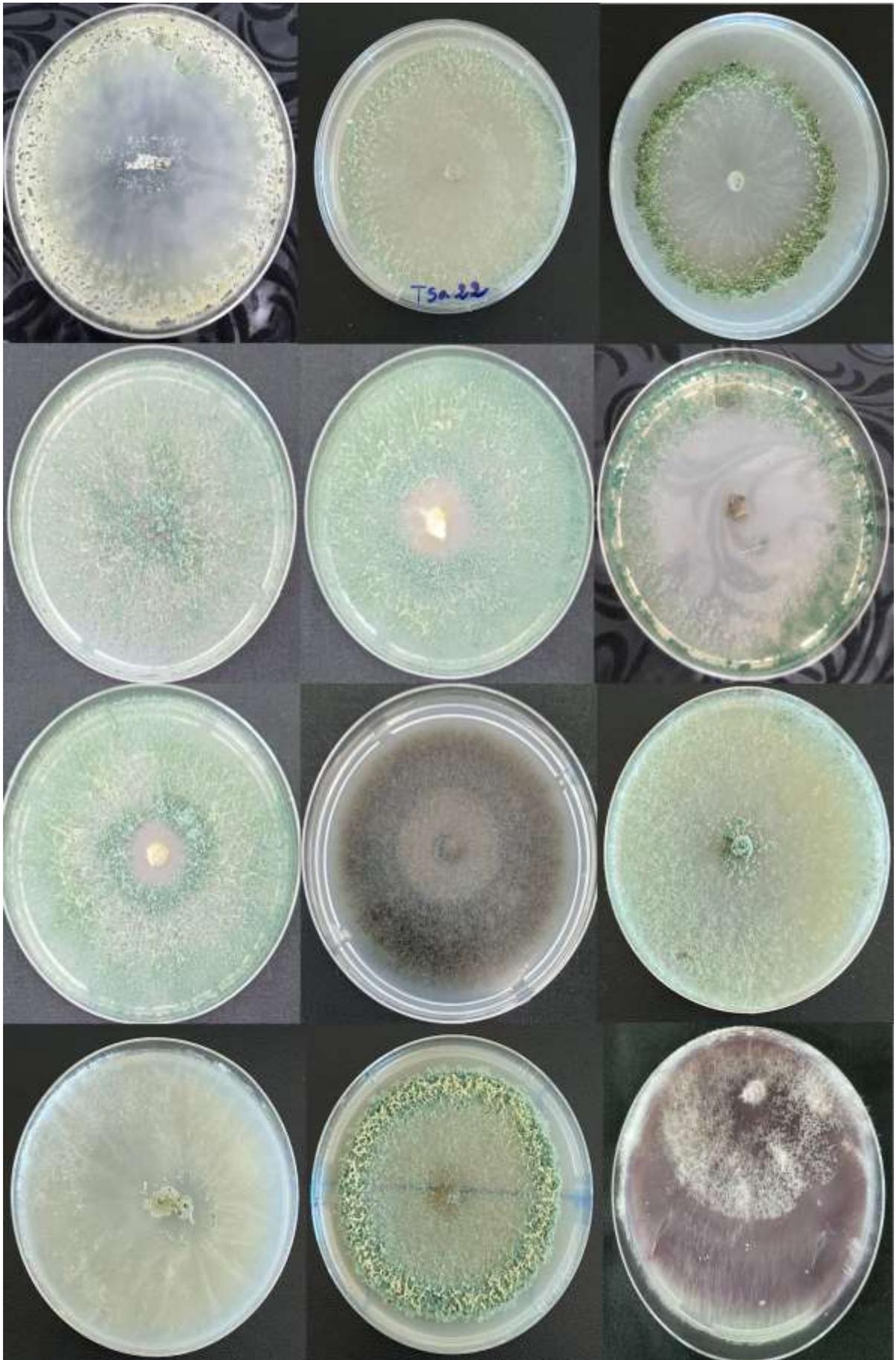


Figure 1. Matériel fongique utilisés dans cette étude (Origine2023).

**Tableau 1.** Origine géographique des isolats sélectionnés pour les études antagonistes contre le FOC.

|    | Isolats                 | Origine géographique |
|----|-------------------------|----------------------|
| 1  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 2  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 3  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 4  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 5  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 6  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 7  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 8  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 9  | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 10 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 11 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 12 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 13 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 14 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 15 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 16 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 17 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 18 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 19 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 20 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 21 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 22 | <i>Aspergillus sp</i>   | Mascara              |
| 23 | <i>Pennicilium</i>      | Mascara              |
| 24 | <i>Epeccicum nigrum</i> | Mascara              |
| 25 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 26 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 27 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 28 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 29 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |
| 30 | <i>Trichoderma spp</i>  | Mascara              |

|    |                        |         |
|----|------------------------|---------|
| 31 | <i>Trichoderma spp</i> | Mascara |
| 32 | <i>Trichoderma spp</i> | Mascara |
| 33 | <i>Trichoderma spp</i> | Mascara |

### 3. Tests antagonistes *in vitro*

#### 3.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture

Cette technique consiste à installer deux pastilles gélosées de 6 mm de diamètre, dans la même boîte de Pétri contenant un milieu de culture commun PDA ; l'une portant le pathogène Foc et l'autre l'espèce fongique antagoniste. Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 2.5 cm et à équidistance du centre de la boîte ; les repiquages sont effectués en même temps (Benhamou et Chet, 1996). Les boîtes portant le test direct sont incubées à  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant six jours. Au cours de ce test, quatre répétitions ont été retenues pour chaque test. Les témoins sont représentés par des boîtes de Pétri contenant uniquement le pathogène.

Des notations relatives à l'inhibition de la croissance diamétrale mycélienne des colonies du Foc et leur envahissement par le mycélium des espèces fongiques antagonistes sont effectuées chaque 48 h jusqu'à le sixième jour.

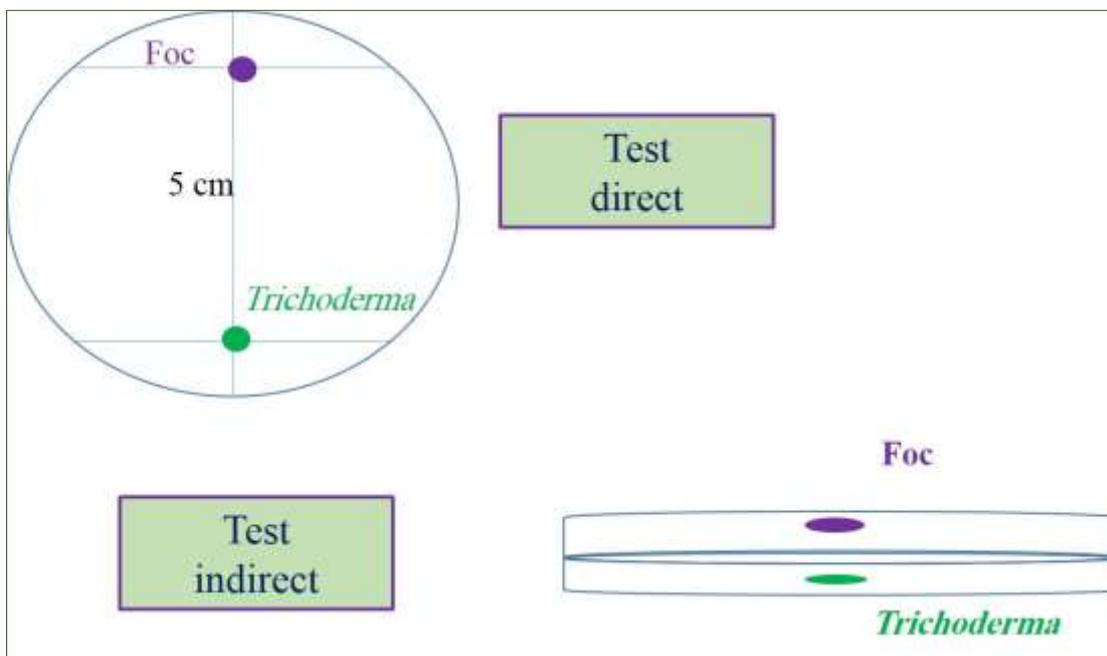
Une observation de la zone de contact entre les deux protagonistes afin d'élucider le mode d'action des antagonistes. Des photos macroscopiques montrant l'aspect morphologique des thalles et des photos microscopiques du mycélium, conidies et chonidiogénèse ont été également prises.

#### 3.2. Confrontation par contact indirect sur milieu de culture

Cette méthode consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par superposition des deux boîtes, l'antagoniste *Trichoderma* en bas et le pathogène en haut (Comporota, 1985).

Cette technique consiste à déposer au centre de chaque boîte de Pétri contenant le milieu PDA un explant de 5 mm de diamètre prélevé à partir des colonies des espèces fongiques antagonistes. Après 48 heures d'incubation, les parties inférieures contenant l'antagoniste est scellé avec un autre contenant le pathogène, par une bande de para film de façon à éviter toute contamination et toute perte de substances volatiles. Comme pour la première expérimentation, trois répétitions ont été réalisées.

Les témoins sont représentés par des boites contenant à la face inférieure uniquement le milieu de culture et la face supérieure l'agent pathogène (Benkada et al., 2002, Daami-Remadi, El Mahjoub, 2001).



**Figure 02.** Dispositif utilisé pour tester l'influence des substances volatiles émises par *Trichoderma* sp, sur la croissance et la sporulation de *Fusarium* sp.

### 3.3. Analyse de la compétitive entre les spores de *Trichoderma* et les spores de *Foc*

L'objectif de ce test est l'analyse de la germination des spores du *Foc* en présence des spores de l'antagoniste. Ce test consiste à mettre en contact direct les spores de *Foc* et les spores de *Trichoderma* d'une solution stérile de PDB. Pour la réalisation de l'essai autres espèces de *Trichoderma* ont été choisies T3, T2 T8 et T15. Des suspensions sporales de *Foc* et des espèces antagonistes sélectionnées ont été préparées séparément par un milieu de culture PDB. Les suspensions ont été ajustées à la concentration de  $5 \cdot 10^8$  spores / ml.

Dans des tubes à essai 5 ml de chaque antagoniste a été additionnée à 5 ml d'une suspension sporale de l'antagoniste. Le mélange est bien agité, puis incubé à  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant six jours. Au cours de ce test, quatre répétitions ont été retenues pour chaque espèce fongique. Les témoins sont représentés par des tubes à essai contenant uniquement le pathogène. L'effet de l'inhibition de la germination de spores de *Foc* a été calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = \frac{C_0 - C_n}{C_0} \times 100$$

Ou :  $I$  (%) est pourcentage d'inhibition de la germination de spores de Foc,  $C_n$  est le nombre de spores germé en présence de spore de l'antagoniste et  $C_o$  le nombre de spores germé dans les témoins.

### 3.4. Sélection des isolats

Un criblage sélectif a été réalisé en vue du choix des souches utilisables dans une perspective pour l'analyse de l'effet des filtrats. Six souches fongiques de *Trichoderma* ont sélectionnées selon l'activité antagoniste éventuelle sur la base du degré d'inhibition de la croissance mycélienne radiale du parasite. Les souches sont retenues au travers de ce criblage sélectif que les souches exerçant une inhibition jugée significative et qui serviront de base pour une étude mieux approfondie.

Le test de l'activité des isolats identifiés consiste à rechercher son effet antagoniste sur le développement de l'isolat test Foc. La technique utilisée pour réaliser cette sélection est mentionnée ci-dessous dans la partie étude de l'activité antagoniste in vitro.

### 3.4. Effet des filtrats de culture

#### 3.4.1. Préparation des filtrats

L'effet des filtrats de culture de 7 isolats fongiques a été évalué contre le Foc selon la technique décrite par Dubey et al. (2007) avec quelques modifications. Pour réaliser ce test, 5 ml d'une suspension sporale de chaque espèce fongique antagoniste ajustée à la concentration de  $10^8$  spores par ml a été injectée dans des erlenmeyer de 500 ml contenant 200 ml de milieu PDB liquide stérile, amendé par un antibiotique de type chloramphénicol. Ces erlenmeyers ont été incubés à 28 °C pendant 21 jours sous agitation discontinue à l'aide d'un agitateur va et vient. Le filtrat de la culture a été d'abord filtré à travers un papier filtre wattman N1 pour écarter la fraction mycélienne et une seconde filtration à travers des membranes Millipore de 0,20 µm de diamètre pour exclure toute masse sporale. Les filtrats ont été conservés à 4°C.

#### 3.4.2. Activité antifongique des filtrats de culture sur la croissance mycélienne de Foc

Pour étudier l'effet antifongique des filtrats de culture de *Trichoderma* sp sur la croissance mycélienne du Foc, des volumes de 5,10 et 15 ml de chaque filtrat a été additionné à 45, 40 et 35 ml de PDA Stérile et tiède, respectivement.

Les témoins ont reçu les mêmes volumes de l'eau distillée stérile. A partir des cultures âgées de 7 jours de Foc, une pastille gélosée de 6 mm de diamètre a été prélevée

de chaque culture et placée au centre d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA traité avec les trois concentrations de filtrats de la culture de *Trichoderma* sp. Quatre répétitions indépendantes ont été réalisées pour chaque souche fongique et pour chaque concentration.

La notation du diamètre moyen des colonies traitées est réalisée lorsque les filaments mycéliens éteignent la périphérie de la boîte dans les lots témoins. L'évaluation de l'inhibition exercée par les espèces fongiques est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule suivante (Hmouni et *al.*, 1996) :

$$I(\%) = \frac{C_o - C_n}{C_o} \times 100$$

Ou : I (%) est pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne,  $C_n$  est le diamètre moyen des colonies en présence de l'antagoniste et  $C_o$  le diamètre moyen des colonies témoins.

### 3.4.3. Activité antifongique des filtrats de culture sur la germination des spores de Foc

Cette activité a été analysée selon le protocole désigné par et al, 2008. La technique consiste à l'addition des volumes de 0.5, 1 et 1.5 ml de chaque filtrat à 9.5, 9 et 8.5 ml d'une suspension sporale ( $10^6$  spore /ml) de Foc préparées par un milieu PDB, respectivement. Les mélanges ont été incubés à  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 6 jours. Les témoins ont perçu les mêmes volumes de l'eau distillée stérile. A partir des cultures âgées de 7 jours de Foc. Quatre répétitions ont été retenues pour chaque concentration et compris le témoin. L'effet antisporale des filtrats a été calculé selon la formule décrite précédemment.

## 4. Test antagonistes *in vivo*

### 4.1. Préparation de l'inoculum du Foc

L'inoculum d'inoculation a été réalisé selon une nouvelle technique décrite par **Moutassem et al, (2023)**. Cette technique consiste un mettre dans des sachets en plastiques autoclavable le sable tamisé et la farine de maïs, le mélange est humidifié par l'eau distillée, selon la proportion de 9/1/1, respectivement. Le mélange a été stérilisé deux fois pendant 45 min à  $120^\circ\text{C}$ .

Le substrat préparé est pulvérisé premièrement par 50 ml d'une suspension sporale du Foc d'une concentration de  $10^6$  conidie /ml, puis pulvérisé aussi par une suspension sporale des antagonistes ajusté à la même concentration ( $10^6$  spore/ ml de l'antagoniste). L'inoculum ainsi obtenu est incorporé dans des pots contenant le substrat de culture

stérilisé à raison de 100g pour 3kg de substrat, ce dernier est composé d'un mélange stérile (deux fois à 120°C pendant 30 min) de sable, terre et terreau selon les proportions respectivement de 1/1/1. Les substrats portant le pathogène et l'antagoniste ont été incubés à la température ambiante 28±2°C pendant 21 jours. Une agitation des sacs chaque jour a été effectuée afin de permettre une concurrence entre les deux antagonistes.

Les semences de la variété GUAB ont été semées dans des pots à la base de quatre grains par pot contenant le sol infesté par le FOC et traité par les espèces fongique antagonistes. Des pots non traités par les antagonistes ont été servis comme témoin.

#### 4.2. Expression des résultats

La fréquence d'isolement des espèces identifiées est calculée uniquement à partir des échantillons ensemencés sur milieu PDA et incubés à 30°C selon la même formule utilisée pour calculer la charge fongique totale.

Le taux de contamination est calculé selon la procédure décrite par Ponchet (1966). Ce taux représente le nombre de chaque genre fongique isolé sur le nombre total exprimé en pourcentage.

L'incidence (*DI*) est évaluée selon la formule :

$$DI = \frac{NPM}{NTP} \times 100$$

##### 4.2.1. Mesure de la sévérité d'attaque

La sévérité ou la gravité de la maladie est obtenue selon l'évaluation visuelle de la proportion des tissus de la plante atteinte par le flétrissement ou le jaunissement.

La sévérité (*S*) ou l'indice de sévérité moyenne (*ISM*) est calculé selon la formule :

$$S \text{ ou } (ISM) = \frac{\sum n_i \times i_j}{\sum n_j}$$

Où

$n_j$  : est le nombre de plantes caractérisées par l'indice

$i_j$  : est l'indice de sévérité attribué aux plantes malades.

L'échelle de notation utilisée par **Trapero-Casas (1983)** a été appliquée le long de nos expérimentations.

Cette échelle consiste à donner une note à la plante malade examinée en fonction de l'importance des symptômes observés :

0 : pas de symptômes.

- 1 : jaunissement ou flétrissement du 1/3 de la plante.  
 2 : mêmes symptômes mais affectant les 2/3 de la plante.  
 3 : symptômes identiques affectant la plante entière.  
 4 : plante morte.

#### 4.2.2. Calcul de l'indice de flétrissement (*DII*)

L'incidence *I* et la sévérité *S* sont utilisés pour le calcul, l'index de l'intensité de la maladie *DII*. Où :

$$DII = \frac{DI * ISM}{4}$$

#### 4.2.3. Calcul de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve)

AUDPC est une méthode d'analyse qui permet de résumer les données de l'intensité de la maladie, en une seule valeur. Cette valeur est indispensable pour la comparaison entre les différentes épidémies à travers les années, les emplacements, ou les stratégies de la gestion (Cook, 2006 ; Sparks *et al.*, 2008). Cependant, cette méthode est utile pour la description, l'estimation et la comparaison entre les épidémies causées par le FOC (Navas-Cortes *et al.*, 2000 ; 1998). L'AUDPC est calculé en utilisant la formule suivante :

L'AUDPC est calculé selon la formule rapportée par Cook (2006) :

$$AUDPC = \sum_{i+1}^n [(x_i + x_{i+1})/2](t_i + t_{i+1})$$

Où :

$x_i$  = la proportion des tissus ou le nombre de plantes malades à toute une seule mesure (intensité de la maladie) à l'observation  $i$  ,

$t_i$  = temps (jours) après l'inoculation à l'observation

$n$  = le nombre total d'observations. La somme de régions individuelles trapézoïdes, ou régions de  $i$  à  $n-1$ .  $i$

$I + 1$  représente des observations de 1 à  $n$ .

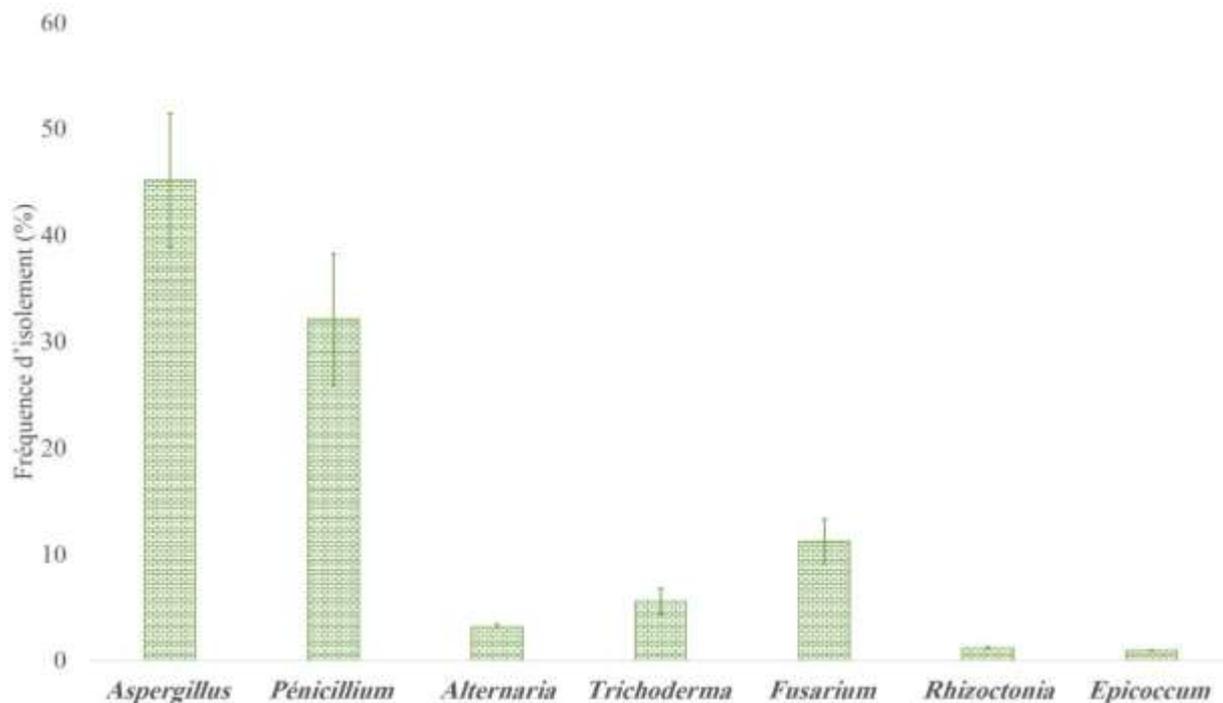
## 5. analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été traités par deux analyses indépendantes à l'aide de logiciel XLSTAT (2008). Quatre répétitions sont retenues pour chaque facteur étudié. Les données sont traitées par une analyse de la variance suivie d'une comparaison des moyennes par le test de Newman et Keuls 5 et 1%.

## 1. Présentation des résultats

### 1.1. Analyse de la mycoflore isolés à partir de la rhizosphère de pois chiche

L'étude des caractères macroscopiques portant sur la couleur, l'aspect de colonie et le revers des boites, et microscopiques dont la forme de thalle, des spores, des souches fongiques isolées, a permis d'identifier 1204 isolats, répartis en sept genres fongiques. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 3.



**Figure 3.** Représentation globale de la fréquence des genres fongiques obtenus à partir de la rhizosphère de pois chiche.

L'analyse des résultats obtenus montre effectivement la dominance de genre *Aspergillus* avec une fréquence d'isolement de 45.20 % divisé en trois espèces différentes comme suite : *Aspergillus terreus*; *Aspergillus Niger*; *Aspergillus sp.* Le genre *Penicillium* se situe en deuxième place avec un pourcentage de 32.11 % suivi par le genre *Fusarium* 11.2% aussi une fréquence de 5.6 % pour le genre *Trichoderma*. Par contre, une faible fréquence d'isolement a été constatée pour les autres genres *Epicoccum* 1.2% et *Rhizoctonia* 0.99%.

## 1.2. Description morphologique de quelques espèces fongiques recensées

### 1.2.1. *Aspergillus sp*

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture PDA. Après 48 heures d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon suivant les espèces forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. La

couleur de colonies permet une orientation rapide dans l'identification. Les observations microscopiques ont montré que les *Aspergillus* spp sont caractérisés par un appareil végétatif mycélien coloré, de diamètre fin régulier, segmentés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés qui se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules conidiogènes. Les conidies, sèches, disposées en chaînes divergentes ou associées en colonnes compactes, sont toujours unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées en jaune, vert, brun ou noir.

### **1.2.2. *Penicillium* sp**

Une colonie bleu pointue exprime la production massive des spores, un mycélium bleu avec une extrémité ramifiée qui forme le conidiophores, lesquelles sont disposées les cellules conidiogène ou phialides.

### **1.2.3. *Fusarium* sp**

Les *Fusarium* produisent des macro-conidies pluricellulaires en forme de croissant, d'autres formes peuvent être aussi présentes, constituées par des micro-conidies unicellulaires, ovoïdes. Présence ou l'absence de macro- et micro-conidies, de chlamydo-spores ainsi que la couleur et la forme de *Fusarium* sont les caractères de classification utilisés couramment pour l'identification des espèces du genre *Fusarium*.

### **1.2.4. *Alternaria* sp**

Colonie couvrant l'ensemble des boîtes Pétri, mycélium gris au gris foncé ou noir, conidies soufflées depuis les sommets des conidiophores. Chaînes irrégulièrement ramifiées courtes jusqu'à 10 unités, avec un maximum de six cloisons transversales et deux à trois longitudinale ou oblique, se rétrécissant vers l'apex, formant un bec court.

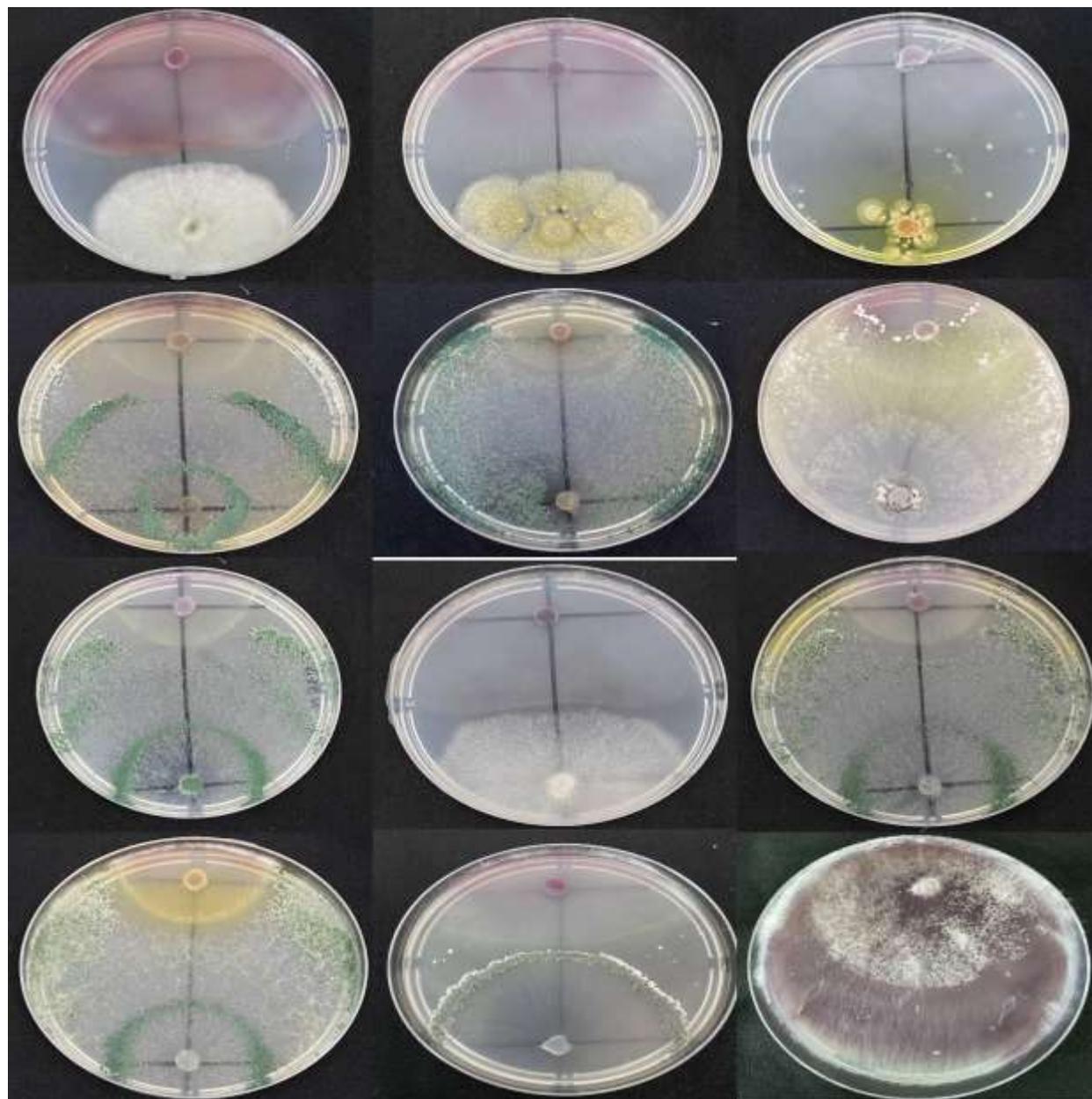
### **1.2.5. *Epicoccum* sp**

L'identification macro et microscopique genre du *Epicoccum* déduit qu'elle est caractérisée par une couleur noire, brune foncée de la colonie ainsi que par un mycélium cloisonné coloré en vert brun. Colonie couvrant l'ensemble des boîtes Pétri, mycélium gris au gris foncé ou noir, conidies soufflées depuis les sommets des conidiophores. Chaînes irrégulièrement ramifiées courtes jusqu'à 10 unités, avec un maximum de six cloisons transversales et deux à trois longitudinale ou oblique, se rétrécissant vers l'apex, formant un bec court.

### 1.3. Résultats des tests antagonistes

#### 1.3.1. Résultats des tests directs

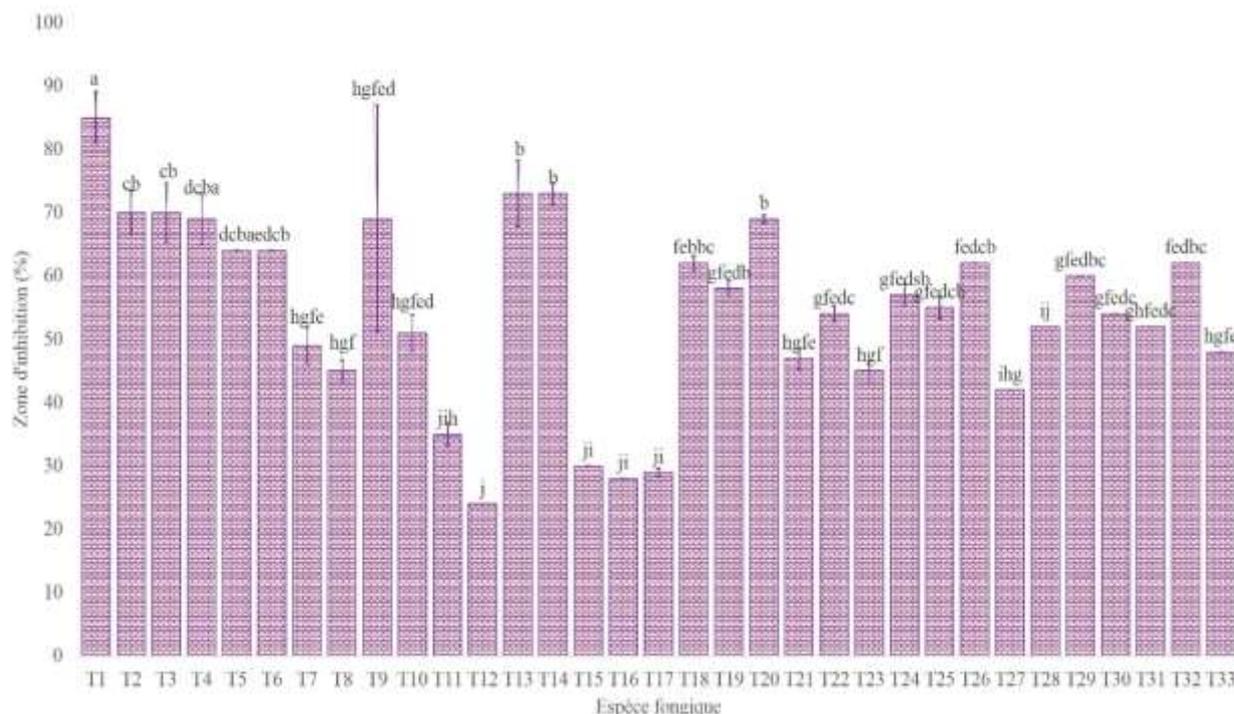
L'ensemble des espèces fongiques ont été testées afin de mettre en évidence leur activité antagoniste directe vis-à-vis le Foc (figure 4).



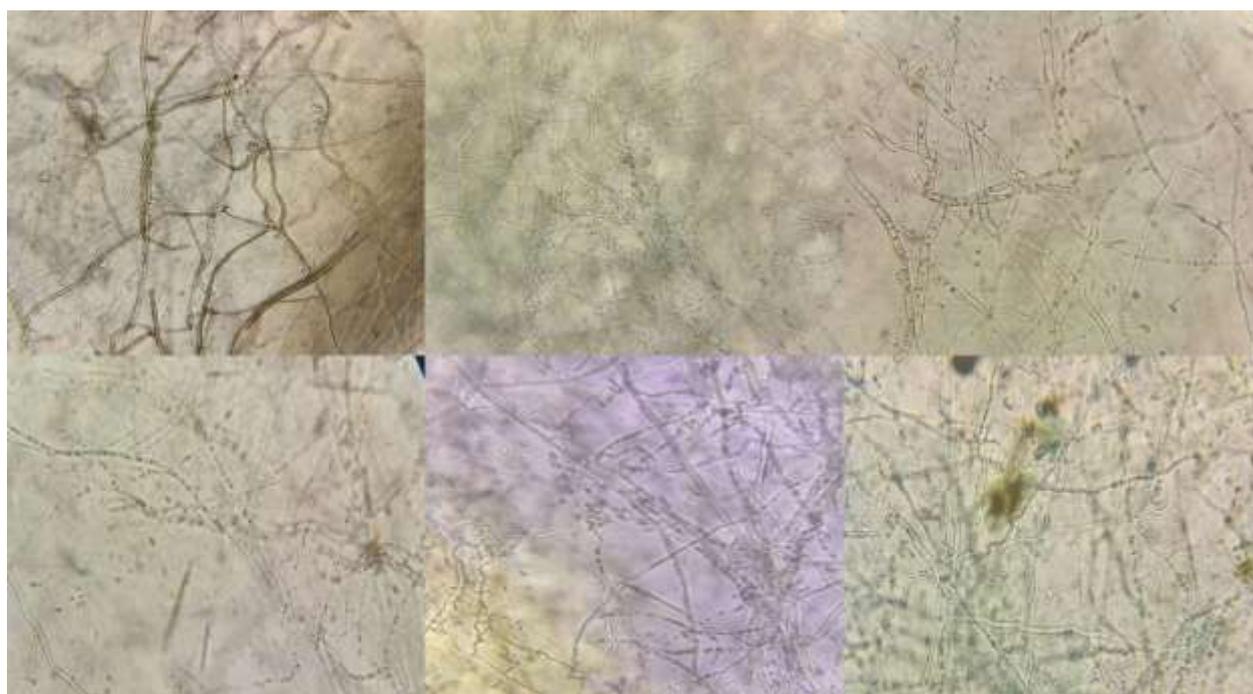
**Figure 4.** L'effet inhibiteur de différents espèces antagonistes *Trichoderma sp* sur Foc en contact direct. (Origine2023).

L'étude et la comparaison de l'efficacité des isolats testés ont exposé une réduction significative de la croissance mycélienne du Foc qui varie en fonction l'espèce fongique. A cet effet, l'ANOVA a montré que l'espèce ( $F(32,99) = 15.56; P = 0.0000$ ) ont un effet hautement significatif sur la zone d'inhibition de la croissance mycélienne. Les résultats obtenus, indiquent une zone d'inhibition qui varie entre 28 et 85% (figure 5). A cet égard, les zones d'inhibition les plus élevées sont constatées chez les espèces T1, T13 et T14 avec des fréquences de 85, 72 et

72% respectivement. Par contre les fréquences les plus faibles ont été notées pour les isolats T16 (28%), T17 (289%) et T15 (30%).



**Figure 5.** Effet inhibiteur des espèces de *Trichoderma* sp sur le Foc en contact direct. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

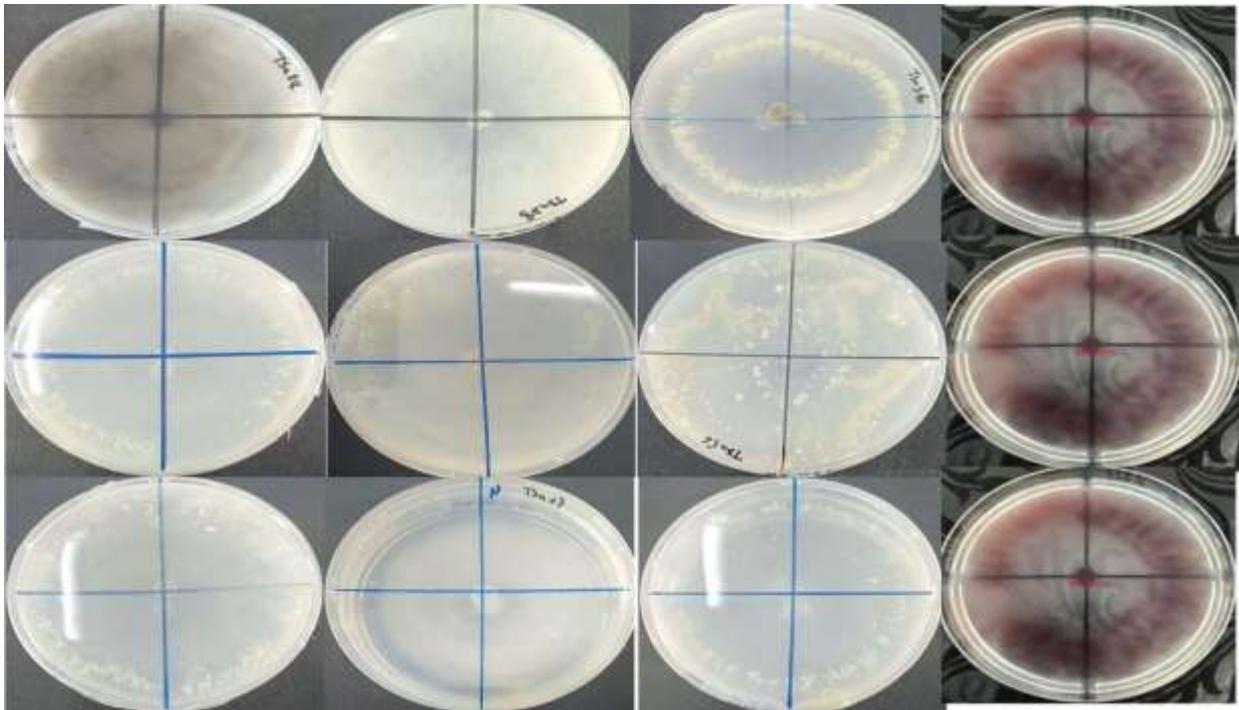


**Figure 06.** Observations microscopiques de la zone de confrontation entre *Trichoderma* et le Foc. a) enroulement de mycélium de *Trichoderma* sur le Foc, b) vacuolisation et c) lyse des hyphes de Foc. (Origine2023).

Les observations microscopiques réalisées au niveau de la zone de contact entre les deux antagonistes exposent l'existence de modifications partielles ou totales au niveau du mycélium du pathogène (Figure 6). Ces modifications sont traduites par un arrêt de la croissance mycélienne se marquant par une lyse total ou partiel, une transformation en cordons des filaments mycéliens et un enroulement du mycélium du *Trichoderma* sur celui du *Foc*.

### 1.3.2. Résultats des confrontations indirectes

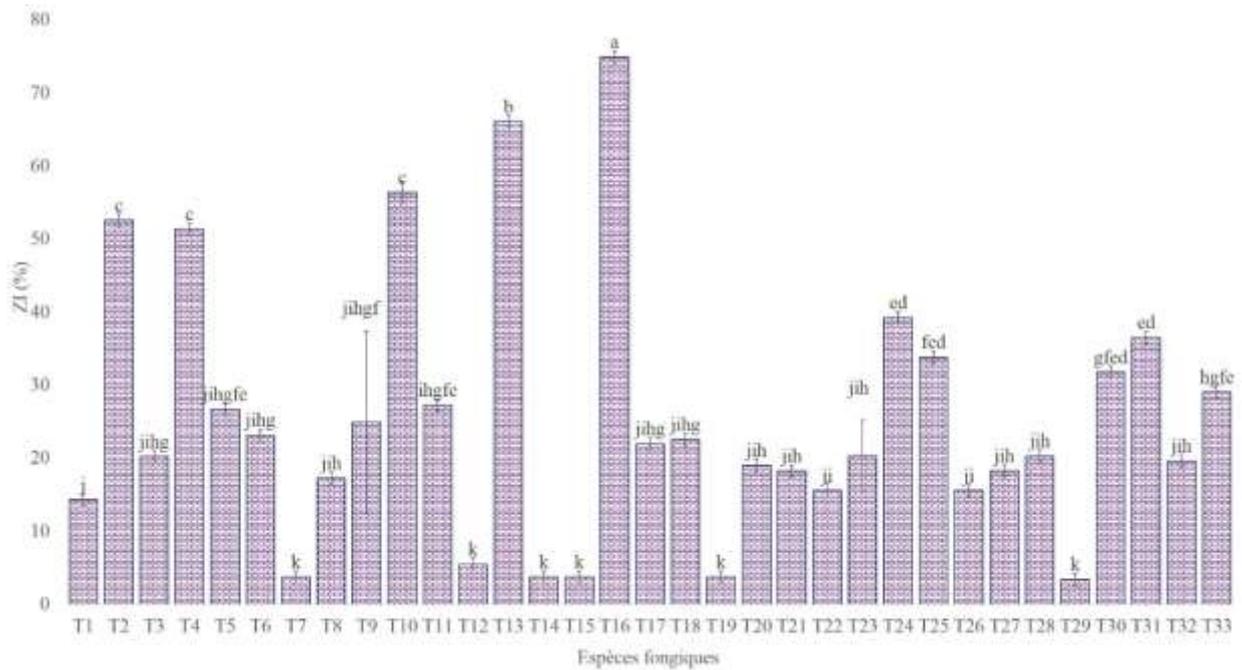
L'action antagoniste des *Trichoderma sp* a été examinée *in vitro* vis-à-vis le *Foc* par confrontation indirect. Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur même à distance de différentes souches fongiques testées (figure 7).. Dans ce contexte, les analyses ANOVA exposent un effet hautement significatif ( $F(32.99)=52.23$  ;  $P=0.0000$ ) de l'espèce fongique sur la zone d'inhibition du *Foc*. En effet, les données obtenues montrent des taux d'inhibition variables en fonction l'espèce fongique et le temps d'exposition (figure 9).



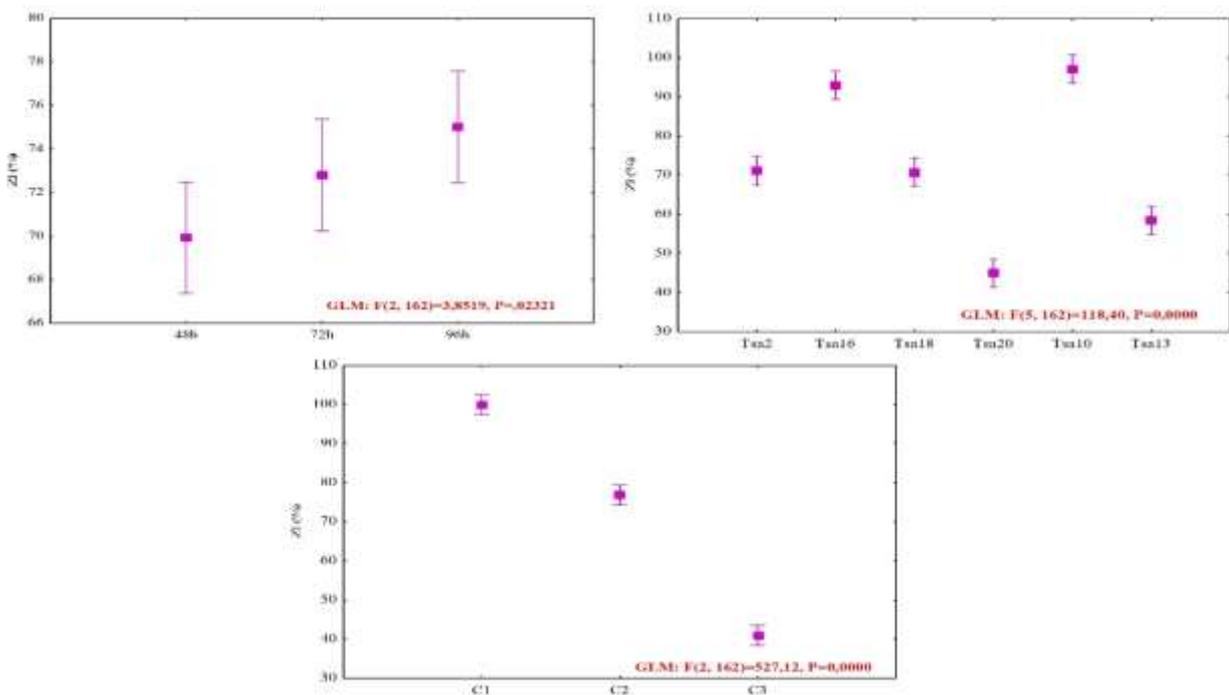
**Figure 07.** L'effet inhibiteur de différents espèces antagonistes *Trichoderma sp* sur *Foc* en contact direct. (Origine2023).

La technique de confrontation indirecte nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur à distance des isolats des isolats fongique exercé sur le *Foc* ; cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies de ce dernier cultivé en présence ou en absence de l'antagoniste. A cet égard, les deux espèces fongiques nommées *T10* et *T13* sont les plus efficaces avec des taux d'inhibition de l'ordre de 56.73 et 66.08%, respectivement (figure 8). En

revanche, les isolats T7, T14 et T17 ont marqués est la faible avec un taux d'inhibition 3.72% pour chaque espèce.



**Figure 08.** Effet inhibiteur des espèces de *Trichoderma sp* sur le Foc en contact direct. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.



**Figure .9.** Etude statistique comparative effectuée par GLM de l'espèce fongique, le temps et la concentration de filtrats de culture de *Trichoderma* sur la zone d'inhibition sur le Foc.

1.3.3. Effet inhibiteur des spores de Foc par les spores des antagonistes

L'action antagoniste des spores de Trichoderma sp sur les spores du Foc a été examinée in vitro. Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur spores fongiques des antagonistes fongiques sur celles de Foc. Les analyses ANOVA montrent un effet hautement significatif de l'espèce fongique ( $F(3,24)=160.19 ; P=0.0000$ ) et le temps d'exposition ( $F(2,24)=424.82 ; P=0.0000$ ) sur l'inhibition de la germination du Foc. En effet, les données obtenues montrent des taux d'inhibition variables en fonction l'espèce fongique et le temps d'exposition (figure 10).

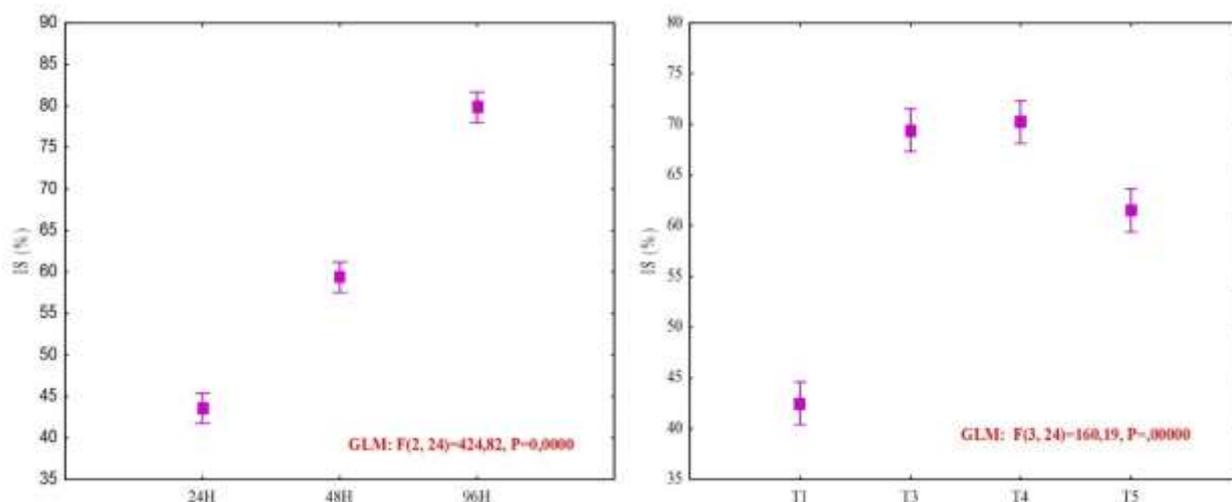
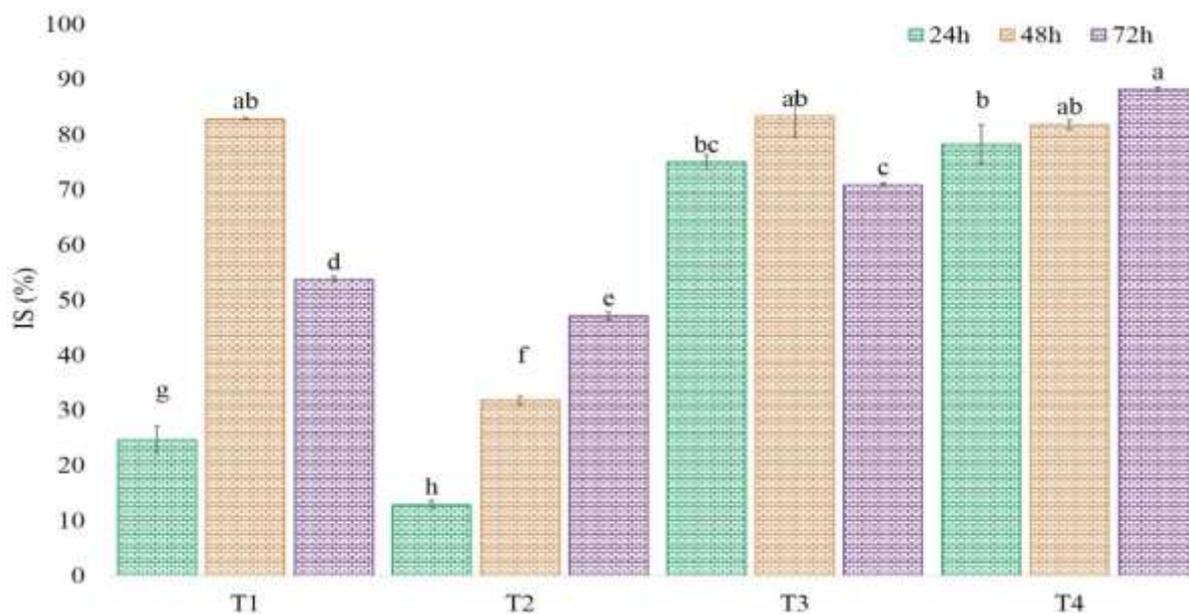


Figure 10. Etude statistique comparative effectuée par GLM de l'espèce fongique et le temps sur l'inhibition de la germination des spores de Foc par les spores des espèces fongiques.

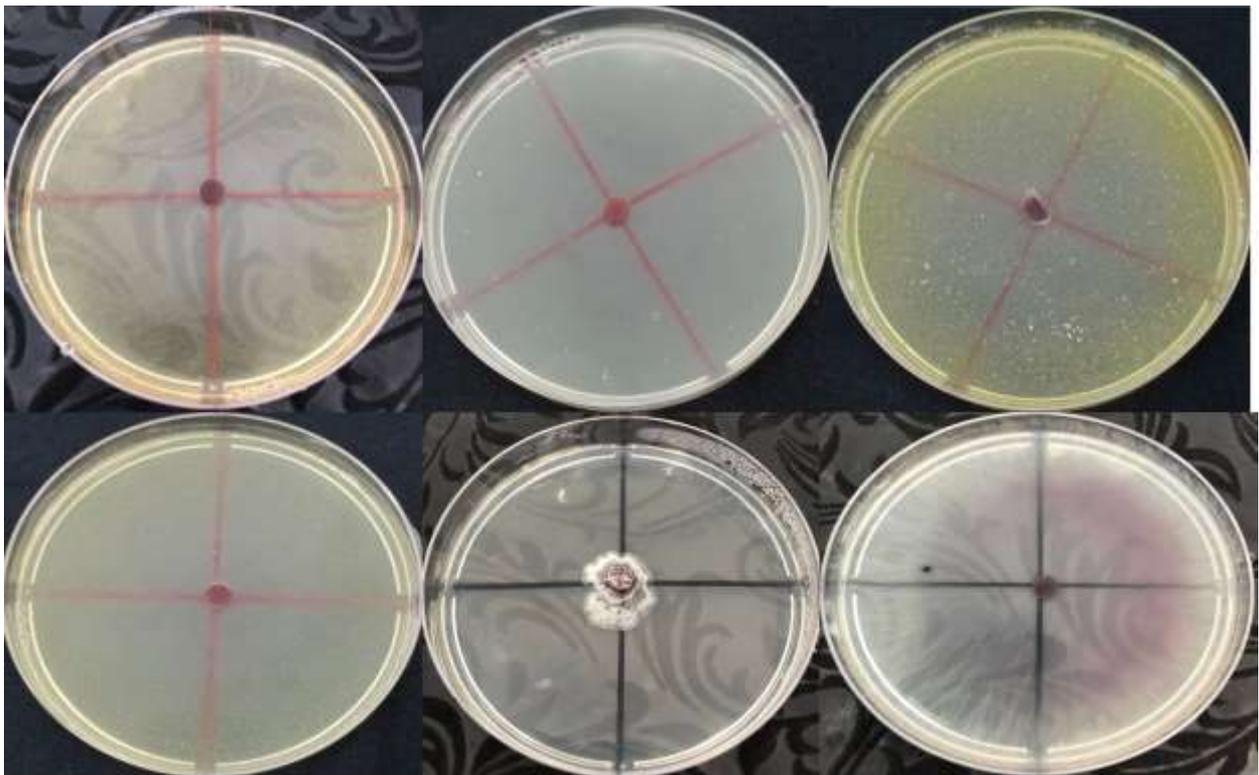


**Figure 11.** Inhibition de la germination des spores de Foc par les spores des espèces fongiques. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions  $\pm$  l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

L'effet inhibiteur le plus remarquable a été noté chez la souche T4 avec une fréquence d'inhibition environ (88.26%) après 96h d'exposition. Par contre, 47% d'inhibition de la sporulation a été notée par la souche T2 (figure 11). Selon les GLM exposés dans la Figure l'efficacité augmente au fur et à mesure l'augmentation de temps d'exposition.

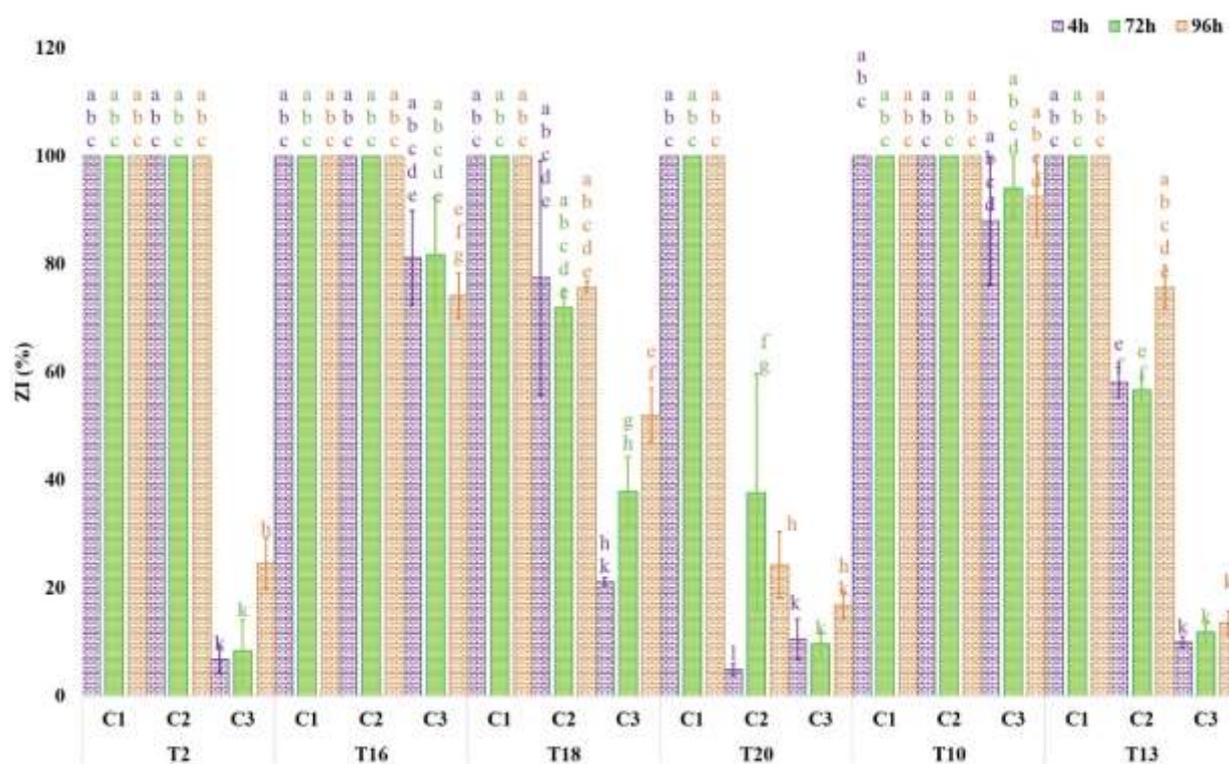
#### 1.3.4. Effet des Filtrats de culture sur la croissance mycélienne du Foc

L'analyse des données explique significativement l'effet positivement significatif des filtrats fongiques sur la zone d'inhibition de la croissance mycélienne de Foc (figure 12). L'analyse de la variance ANOVA a montré un effet très hautement significatif de l'espèce fongique ( $F(5,16)=118.40$ ;  $p<0.0000$ ) et la concentration de filtrats ( $F(2,16)=527,12$ ;  $p<0.0000$ ) et significatif du temps d'exposition ( $F(2,16)=3.85$ ;  $p<0.023$ ) sur le zone d'inhibition sur la croissance mycélienne du Foc. Cet effet significatif se traduit par un regroupement des souches en fonction de leur ressemblance vis-à-vis le taux de l'inhibition de la croissance mycélienne du Foc.



**Figure 12.** Effet inhibiteur des filtrats de culture de *Trichoderma sp* sur le Foc. (Origine2023).

La lecture de données affichées sur la figure indique des zones d'inhibition très variables en fonction l'espèce fongique et le dose appliquée (figure 13). A cet effet, les deux espèces T16 et T10 ont exposé la zone d'efficacité la plus élevée pour les trois concentrations testées ; 100% d'inhibition pour chaque concentration, contrairement à l'espèce T20 qui a enregistré la valeur d'efficacité la plus faible aussi pour les deux concentrations C2 et C3 avec environ 37,71 et 9,72% de la zone d'inhibition, respectivement. Pour toutes les espèces, la zone d'inhibition est dose dépendante, elle augmente avec l'augmentation de la concentration. L'intervalle d'efficacité est variable entre 100% pour la C1, 24.40 et 100% pour la C2, ainsi qu'entre 13.94 et 52.08% pour la C3.

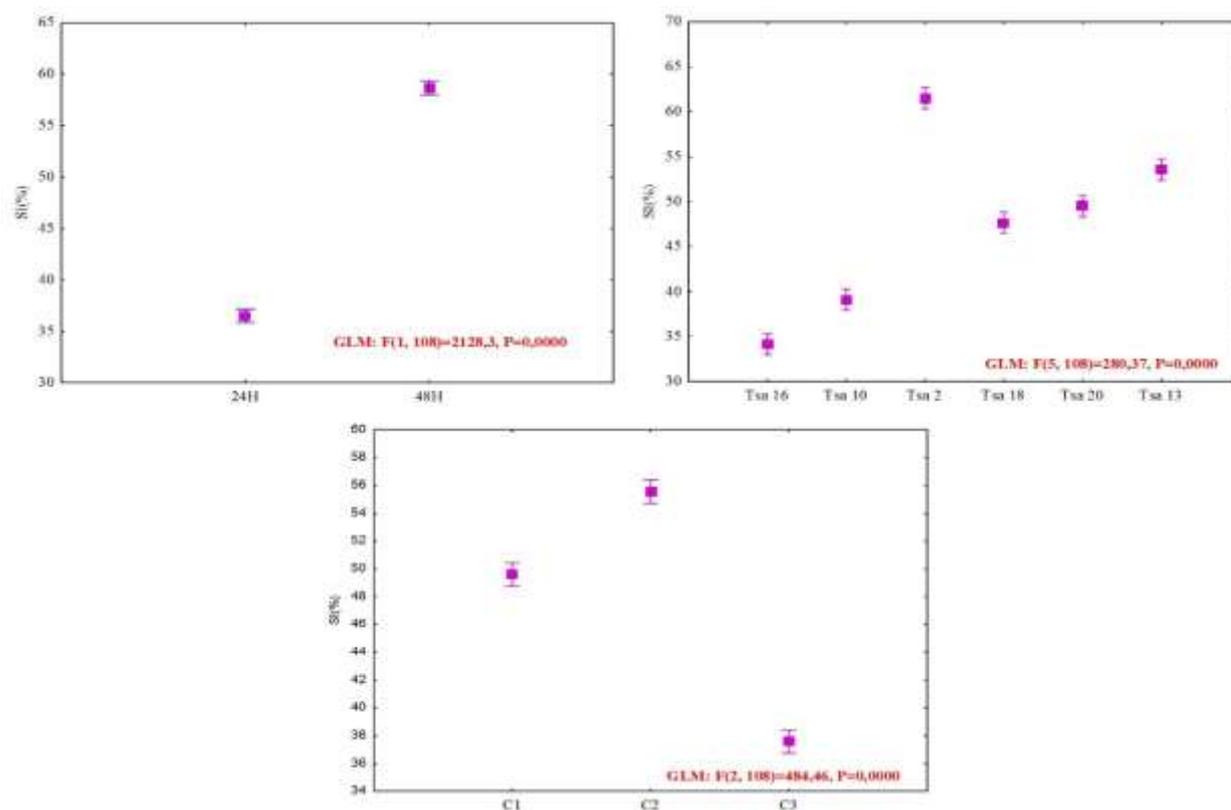


**Figure 13.** Effet inhibiteur des filtrats de culture de *Trichoderma sp* sur le Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

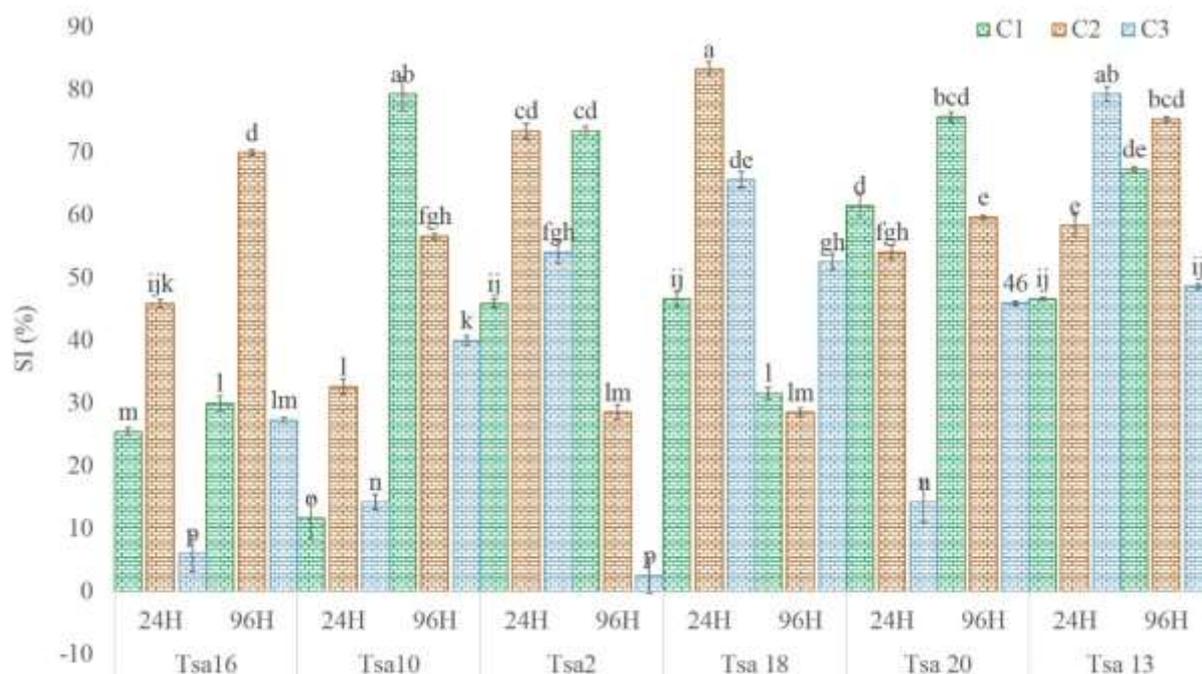
Le traitement de donnée indique un accroissement de l'efficacité des filtrats des *Trichoderma sp* en fonction le temps. A cet effet, l'efficacité la plus élevée a été notée après 72 h de traitement contrairement à l'efficacité après 24 h qui est la plus faible.

La lecture des données affichées sur la figure expose une efficacité totale de l'espèce *Trichoderma 03* pour toutes les concentrations même après 24 h seulement de traitement. Alors que la souche *Trichoderma 10* a exposé un taux de la zone d'inhibition avec environ 81,35, 44,05

et 44,05 pour les concentrations C1, C2 et C3 après 24 h de traitement, respectivement. Cependant, elle est de l'ordre de 75,31, 7,79 et 14,42% après 72h de traitement, respectivement.



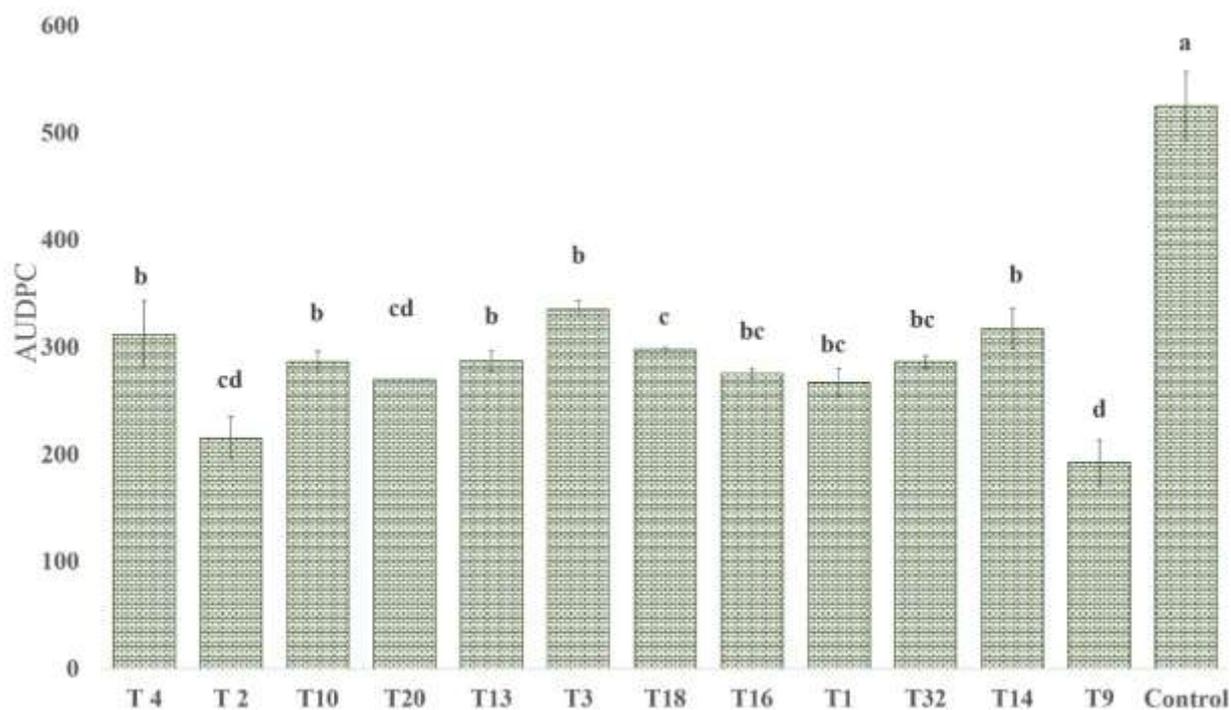
**Figure 14.** Etude statistique comparative effectuée par GLM de l'espèce fongique et le temps sur l'inhibition de la germination des spores de Foc par les spores des espèces fongiques.



**Figure 15.** Inhibition de la germination des spores de Foc par les spores des espèces fongiques. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions  $\pm$  l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.



**Figure 16.** Effet des espèces de *Trichoderma* sur la sévérité de flétrissement vasculaire causé par le Foc dans les conditions *in vivo*.



**Figure 17.** Effet des espèces de *Trichoderma* sur la sévérité de flétrissement vasculaire causé par le Foc dans les conditions *in vivo*. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions ± l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

### 1.3.5. Effet des Filtrats de culture sur la germination des spores du Foc

L'analyse des données explique significativement l'effet positivement significatif des filtrats fongiques sur le taux d'inhibition de la germination des spores de Foc. L'analyse de la variance ANOVA expose un effet très hautement significatif de l'espèce fongique ( $F(5.10)=280.37$ ;  $p<0.0000$ ) et la concentration de filtrats ( $F(2.10)=484,46$ ;  $p<0.0000$ ) et le temps d'exposition ( $F(1.10)=2128$ ;  $p<0.00000$ ) sur l'inhibition de la germination des spores du Foc (figure 14).

Les résultats obtenus montrent un accroissement de l'efficacité des filtrats des *Trichoderma sp* en fonction le temps. A cet effet, l'efficacité la plus élevée a été notée après 96h de traitement contrairement à l'efficacité après 24 h qui est la plus faible.

La lecture des données affichées sur la figure expose une efficacité de 83.33% de l'espèce Tsa18 par la concentration C2 même après 24 h seulement de traitement. Alors que la souche Tsa 16 a exposé un taux d'inhibition le plus faible 6.12% pour la concentration C3 (figure 15).

### 1.4. Effet des espèces fongiques *in vivo*

Le traitement du sol par les différentes souches fongique a exposé effectivement une efficacité très intéressante contre le flétrissement vasculaire du pois chiche dans les conditions *in vivo* (figure 16). Les analyses ANOVA effectués par GLM et moyennes comparées par test de Dunken montrent que, l'espèce de *Trichoderma sp* a un effet très hautement significatif ( $F(12.29)= 21.19$  ;  $P =0.00000$ ) sur la variation de la valeur de l'AUDPC.

La lecture des résultats affichés sur la figure expose une diminution de la valeur de l'AUDPC dans tous les traitements comparativement au témoin non traité. Les valeurs de l'AUDPC notées chez les plantules traitées sont variables 192 entre et 335 expliquent une réduction de la maladie variable entre 57.62% et 79.66 %. Dans ce cadre, T9 est la plus efficace et T3 est la faiblement efficace (figure 17).

## 2. Discussion

Aujourd'hui, la lutte contre les phytopathogènes est principalement effectué par les traitements chimiques, mais en raison des résistances acquises qui ont été observées avec tous les fongicides utilisés contre plusieurs pathogènes (Shao et al., 2021 ; Anne-Edwige et al., 2022 ; Díaz-Urbano et al., 2023), un nouveau système agricole plus durable doit être développé pour

augmenter la productivité en respectons la santé humaine, animale et la préservation des ressources naturelles. Cela a incité la communauté scientifique pour progresser vers des méthodes contrôle alternatives, avec l'utilisation de agents antagonistes et en amont les espèces fongiques (Nicot et al. 2011, Moutassem et al., 2020).

En effet, les agents de lutte biologiques en particulier les champignons antagonistes peuvent être un outil pour favoriser cette transition, car ils peuvent remplacer ou compléter les produits agrochimiques qui ne répondent pas aux critères normatifs (Díaz-Urbano et al., 2023). Les champignons filamenteux, qu'ils soient utilisés individuellement, et/ou en association, se distinguent par leur potentiel antagonistes. Les champignons filamenteux sont des micro-organismes qui colonisent, partiellement ou tout au long de leur vie, les tissus internes de la plante, tels que les racines, les tiges, les graines, les feuilles et les fruits sans provoquer des maladies (Kumar et al., 2021 ; Díaz-Urbano et al., 2023). Ils se trouvent dans toutes les plantes de la planète et il en existe une grande diversité. Certains sont spécifiquement associés à certaines espèces, tandis que d'autres sont cosmopolites.

Le pois chiche (*cicer areitinum* L.) est une légumineuse soumise à de nombreuses contraintes fongiques par rapport au potentiel infectieux des sols. En effet, le Nord-ouest Algérien est une zone caractérisé par la production massive des légumineuses, notamment le pois chiche. Cette zone est également décrite dans la littérature comme étant favorable à la prolifération de *F. oxysporum* f. sp *ciceris*, subséquentment dévastatrice sur cette culture (Moutassem et al., 2018 ; Moutassem., 2020). Cependant, la croissance de cette espèce pathogène pourrait être inhibée par d'autres micro-organismes qui coexistent dans la même niche écologique par différents mécanismes d'action naturellement développés. En vue de mettre en œuvre lutte biologique, des études de sol dans cette zone ont été réalisées. Ces investigations ont conduit à l'isolement de 153 champignons rhizosphériques.

Cette étude a permis de mettre en évidence l'existence d'une biodiversité importante au sein de la population fongique du sol. En effet, au niveau des échantillons de sol analysés, la biodiversité s'avère variée aux plans qualitatif et quantitatif. Sur le plan quantitatif, 7791 isolats fongiques représentant 11 genres à savoir, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Epicoccum*, *Rhizopus*, *Mucor*, et *Chaetomium* ont été obtenus de l'ensemble des échantillons du sol. Ces souches sont autochtones, habituellement isolées à partir du sol.

Dans la totalité, la fréquence d'isolement élevé, ainsi que la biodiversité assez importante constatée peuvent être expliqués probablement par la qualité du sol. Les résultats obtenus ont également exposé une puissante prolifération des espèces fongiques appartenant la classe des deutéromycètes. La présence et la dominance de l'*Aspergillus* et *Penicillium* dans tous les

échantillons sont expliqués par la multiplication massive des spores par ces deux genres avec des valeurs de 27.44% et 25.5%, respectivement. Ainsi que situé dans la troisième place avec une fréquence de 14.45% le genre *Fusarium* suivi par le genre *Rhizomucor* avec un pourcentage de 11.53%. Le genre de la lutte biologique *Trichoderma* est apparu avec une fréquence d'isolement de 11.06 %. Bien que les genres pour *Epicoccum* et *Chaetomium* ont été isolés avec des fréquences plus ou moins faibles avoisinant 1.95 et 1.23% respectivement.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Abdelaziz, (2006). Les isolements pratiqués à partir des échantillons du sol, ont permis d'identifier 24 isolats représentant 7 genres fongiques : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chrysonilia*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus* et *Trichoderma*. Le genre majoritaire est *Aspergillus* avec une fréquence de 37.5%, suivie par *Penicillium* 8.33 % et le genre *Trichoderma* 8.33%. Par contre, les prélèvements des échantillons de sol pour la recherche de champignons microscopiques réalisée par Fenghour et Ladjama, (2002) a permis de mettre en évidence 6 genres différents: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Nigrospora*, *Mucor* et *Trichoderma*. Cette étude a montré que les *Aspergillus* ont également marqué leur présence avec un taux faible. Cependant, une forte prédominance du genre *Penicillium* a été constatée. Dans le même ordre des idées Tariq et al., (2011) a constaté que le genre *Aspergillus* a montré l'infériorité numérique suite à une enquête sur la mycoflore du sol. Les enquêtes effectuées par ces chercheurs ont également inventoriés 20 espèces réparties en 11 genres fongiques, dont la majorité d'entre eux appartenant au groupe des Deutéromycètes.

Les champignons du sol agricole jouent un rôle important dans une large gamme de secteurs tels que l'activation des nutriments minéraux, la lutte antiparasitaire et l'amélioration de la qualité des cultures (Khan, 2022 ; Ren et al., 2023).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par László et al., (2007). À partir de 18 échantillons du sol ces travaux ont permis l'isolement de 116 souches de *Trichoderma* réparties en 11 espèces (*T. harzianum*, *T. pleuroticola*, *T. tomentosum*, *T. virens*, *T. rossicum*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. atroviride*, *T. gamsii*, *T. koningiopsis* et *T. longibrachiatum*). Cependant l'espèce la plus dominante est le *T. harzianum* (41 isolats) suivi par *T. virens* (31 isolats) et *T. atroviride* (9 isolats). Les travaux d'Ahsanuret al., 2009 ont montré l'apparition de 5 groupes appartenant au genre *Trichoderma* dont *T.harzianum* le plus dominant. D'après Choudhary et Reena, ont isolés seulement trois espèces, à savoir ; *T. harzianum* de (08 isolats), *T. viride* (04 isolats), *T.koningii* (05 isolats). Par contre, certains auteurs ont pu mettre en évidence l'existence de plusieurs espèces de *Trichoderma* dans le sol. Toutefois, *T. harzianum* et *T. Virens* les deux champignons les plus fréquemment isolés.

D'après les analyses du sol la diversité des 38 souches de *Trichoderma* peut dire est influencé par les éléments minéraux par exemple phosphore et l'azote.

Les résultats obtenus sur l'effet antagoniste *in vitro* des espèces fongiques et en particulier les *Trichoderma sp* ont démontré une activité antagoniste très importante de la croissance mycélienne du Foc avec des fréquences variables entre 10 et 80%. Cette variabilité est en fonction l'espèce fongique et le temps d'exposition. Nos résultats de test de confrontation direct indiquent une compétitivité potentielle des espèces fongiques, octroyé aux processus de l'hyperparasitisme. Ces actions sont confirmées par l'observation microscopique de la zone de contact entre les deux antagonistes. Les observations microscopiques de la zone de contact entre les deux antagonistes montrent une potentielle altération du mycélium du Foc, une activité lytique très prononcée, une transformation dans les cordons des filaments mycéliens et l'enroulement du mycélium des espèces de *Trichoderma spp* sur celle du Foc.

La compétition est le processus qui se produit lorsqu'un organisme pathogène rapproche une déficience de nutriments et d'espace vital après une confrontation avec une espèce fongique antagoniste. La faim causée par une insuffisance nutritionnelle est la cause la plus fréquente pour le phénomène biocide fongique. Ces résultats sont confirmés par nos expériences où nous avons constaté un développement rapide des antagonistes en comparaison avec le Foc. Ces constatations sont analogues aux résultats antérieurs rapportés par Younesi et al., 2021; Mukherjee et al., 2022 ; Asad 2022 ; Ren et al., 2023 ; Abdelmoteleb et al., 2023 ; Sirikamonsathien et al., 2023, exposent une compétition pour l'espace et les nutriments des espèces de fongiques antagonistes avec les phytopathogènes inhibent par la suite leurs croissance mycélienne. La réduction des concentrations de nutriments conduit généralement à une diminution de la germination des conidies et à une croissance plus lente des germes de pathogènes (Nassr et Barakat 2013 ; Asad, 2022).

Les résultats obtenus de l'observation microscopique de la zone de contact exprime un enroulement de mycélium de *Trichoderma sp* en forme spirale et entrave le ceux du Foc pendant la phase de croissance. Toutefois, avec l'augmentation du temps d'exposition au processus antagoniste, le mycélium de ce dernier s'amincit progressivement et cesse de croître. Le processus hyperparasitaire, commence le plus souvent par un développement d'une masse mycélienne en direction du pathogène, l'établissement de contact, enroulement et pénétration (Chet, 1990 ; Dubey et al., 2007 ; Mukherjee et al., 2022).

Nos résultats dévoilent aussi une action lytique partielle et complète des mycéliums du Foc après une confrontation direct. Ce constat peut être expliqué par les sécrétions enzymatiques issues des souches de fongiques qui possèdent des activités lytiques importantes. Au cours de ce processus, les antagonistes exsudent des enzymes lytiques notamment, les chitinases, cellulases, xylanases, glucanases et protéinases, dégradant par conséquent les paroi cellulaires des pathogènes (Mukherjee *et al.*, 2022). Les CWDE et les métabolites secondaires dégradent de

manière synergique la paroi cellulaire du pathogène (Xiong *et al.*, 2016). D'autres études antérieures témoignant nos résultats montrent un enroulement des hyphes et la déformation morphologique dans les cultures doubles de *T. harzianum* avec *F. solani*, *Alternaria solani* et *Pythium ultimum* (Benamira *et al.*, 2017 ; Mazrou *et al.*, 2020 ; Díaz-Gutiérrez *et al.*, 2021).

D'après Meslouhi (1989), cette action inhibitrice est due à des substances de nature chimique libérées par les souches de *Trichoderma* (phénomène d'antibiose). La capacité à produire de telles substances varie selon les isolats d'une même espèce ou d'espèce différente.

Dans une étude effectuée par Venkataramanamma *et al.*, 2022 , les tests antagonistes en confrontation direct de 21 isolats de *Trichoderma* spp, une zone d'inhibition très remarquable a été constaté variable entre 10.30 et 48.44%. Divers chercheurs ont fait le même travail et Azevedo

et coll. (2020) ont isolé 21 isolats de *Trichoderma* à partir de la rhizosphère pois chiche et évalué contre *F. oxysporum* du pois chiche et inhibition observée dans la gamme de 21,58–45,32 %.

Regardant les résultats obtenus sur la confrontation indirecte, nous pouvons également conclure que les souches fongiques testées inhibent significativement la croissance mycélienne du Foc à distance par la libération de biomolécules volatiles à intérêt antifongique. Nos résultats indiquent une fréquence d'inhibition qui varie entre 10 et 15%, avec des fréquences élevées chez les *Trichoderma* spp. Ce processus d'antibiose est parmi les mécanismes importants impliqués dans la gestion biologique contre les phytopathogènes en général et le Foc en particulier (Dennis et Webster, 1971 ; Dubey *et al.*, 2007, Moutassem *et al.*, 2020, Pandey *et al.* 2022 ; Ling *et al.*, 2023 ; Rajab *et al.*, 2023). En effet, l'antibiose est un mécanisme d'antagonisme infère par des métabolites secondaires spécifiques ou non spécifiques d'origine fongique, par des substances volatiles et d'autres composés toxiques (Dennis et Websters, 1971a, Mukherjee *et al.*, 2022 ; Asad 2022 ; Pandey *et al.* 2022 ; Ling *et al.*, 2023 ; Rajab *et al.*, 2023).

D'une manière générale, l'effet des substances volatiles émises par les espèces de *Trichoderma* est sensiblement faible. *Trichoderma viride* se montre toutefois plus efficace avec des taux d'inhibition les plus élevés. Les antagonistes ont inhibé la croissance de FOC par la production de substances volatiles. Les composés volatils produits par *Trichoderma* ont prouvé l'inhibition de la croissance mycélienne contre *Alternaria alternata* (Swapan *et al.*, 2022), *Pseudopezalotiopsis theae* (Pandey *et al.* 2022), *Phytophthora infestans* (Sirikamonsathien *et al.*, 2023) et d'autres phytopathogènes. En effet, *T. harzianum* est également connu par sa production de certains composés volatils et non volatils (Markuz *et al.*, 2012; Singh *et al.*, 1997). D'après Meslouhi (1989) cette action inhibitrice est due à des substances de nature chimique libérées par les souches de *Trichoderma* (phénomène d'antibiose). La capacité à produire de telles substances varie selon les isolats d'une même espèce ou d'espèce différente.

D'après Dennis et Websters (1971), les *Trichoderma* émettent des substances chimiques toxiques qui sont des dérivés de l'hydrazine présents sous formes des substances volatiles importantes.

Différentes concentrations de filtrats de culture de *Trichoderma* sp ont été analysées pour leur pouvoir antagoniste contre le Foc *in vitro*. Ce test a été effectué par la technique de diffusion des filtrats dans le milieu de culture PDA. Les résultats obtenus ont exposé une activité antifongique très prononcée des filtrats de la culture des espèces fongiques testées sur le Foc, et qui varie en fonction l'espèce fongique et la concentration utilisée. Dans ce cadre, la zone d'inhibition est variable entre 10 et 15% avec une efficacité remarquable chez les espèces de *Trichoderma*. Par ailleurs, cette efficacité augmente au fur et à mesure l'augmentation de la concentration.

Le succès de espèces fongiques en tant qu'agent de lutte biologique contre diverses phytopathogènes, est significativement associé à la production d'un nombre excessif de métabolites bioactifs, y compris les métabolites secondaires (Zeilinger et al., 2017; Li et al., 2018). Ces rapports confirment les résultats de notre travail actuel selon lequel les métabolites secondaires extraits à partir des *Trichoderma* sp ont montré une réduction significative de la croissance mycélienne de Foc. Cependant, la variation observée de l'activité fongicide des *Trichoderma* pourrait être attribuée aux différents types de composés chimiques produits par les différentes espèces.

Ces résultats sont en accord avec les rapports précédents rapportés par Mathew et Gupta, 1998 ; Ezziyani et al., 2009; Srideepthi et Krishna, 2015. Des résultats similaires obtenus par Inhibition similaire de la croissance des colonies de *F. oxysporum*, *P. capsici* et *R. solani* par *T. asperellum* a été signalé plus tôt (El Komy et al., 2015; Jiang et al., 2016 ; Asad et al., 2014). Les filtrats de culture de *T. asperellum* a montré une inhibition significative sur trois phytopathogènes.

Nos résultats montrent l'effectivité de toutes les espèces de *Trichoderma* testées *in vivo*, par conséquent réduisent la sévérité de la fusariose du pois chiche dans les conditions contrôlées. Les résultats obtenus indiquent la diminution de la sévérité de la maladie avec des pourcentages qui s'étalent entre 28.27 et 64.27 %. *In vivo*, l'efficacité des *Trichoderma* pourrait être attribuée à la réduction de la population du Foc du sol d'une part certifiant ainsi l'activité antifongique des espèces de *Trichoderma in vitro* et à l'induction de la résistance systémique chez la plante hôte d'autre part.

Nos résultats montrent l'effectivité de toutes les espèces de *Trichoderma* testées *in vivo*, par conséquent réduisent la sévérité de la fusariose du pois chiche dans les conditions contrôlées. Les résultats obtenus indiquent la diminution de la sévérité de la maladie avec des pourcentages

qui s'étalent entre 28.27 et 64.27 %. *In vivo*, l'efficacité des *Trichoderma* pourrait être attribuée à la réduction de la population du Foc du sol d'une part certifiant ainsi l'activité antifongique des espèces de *Trichoderma in vitro* et à l'induction de la résistance systémique chez la plante hôte d'autre part.

Les champignons antagonistes présentent une efficacité de lutte biologique prometteuse et ont fait l'objet d'études intensives dans le contrôle des maladies des plantes diverses cultures économiques (Zin et Badaluddin, 2020 ; Ferreira et Musumeci, 2021). Ils agissent par divers mécanismes contre les phytopathogènes à la fois dans les voies directes et indirectes, y compris les composés antimicrobiens, expression génique pour induire la résistance des plantes la compétition pour les ressources naturelles, vie adaptative élevée dans les plantes hôtes dans diverses conditions environnementales (Kaewsalong et al., 2019 ; Sood et al., 2020). Ces mécanismes sont utilisés seuls ou de manière combinée par champignons endophytes et agissent souvent en synergie pour prévenir et éradiquer maladies des plantes sur les plantes hôtes (Adeleke et al., 2022). Parmi eux, les *Trichoderma* spp., les *Aspergillus* spp., et les *Penicilium* sont des espèces antagonistes dominantes dans le contrôle des maladies des plantes, et ils ont été signalés comme un puissant biocontrôle agents dans la suppression de nombreuses maladies dans diverses cultures. Cependant, les effets d'endophytes *Trichoderma* spp. lutter contre les maladies du caoutchouc sont encore limité. Les résultats de la présente étude ont montré les effets de endophyte *Trichoderma* spp.

L'induction de la résistance chez les plantes par *Trichoderma* a été étudiée et comparée avec les réponses induites par les Rhizobactéries. *Trichoderma* est résistante aux cyanures et produit deux différentes enzymes qui sont capables de dégrader les cyanures dans la zone racinaire (Ezzi et al., 2002). Par la suite, ce champignon peut augmenter la croissance racinaire, détruit les métabolites toxiques produits par la microflore et contrôle directement les pathogènes des racines. Des observations microscopiques sur des cultures de différents champignons ont montré que *Trichoderma* croit parallèlement avec *Rhizoctonia solani*. Toutefois, *Trichoderma* s'enroule autour du *Rhizoctonia solani* et forme des crochets empêchant ainsi le développement de celle-ci (Shalini et al., 2007)

Dennis et Webster (1971) ont montré l'effet des antibiotiques secrété par les *Trichoderma*, solubles dans le chloroforme et extractibles à partir du milieu de culture. D'après Comporata (1985), cette interprétation favorise l'action des enzymes ( $\beta$ 1-3) gluconase- chitinase qui conduisent à la lyse du mycélium du parasite.

Nous pensons qu'en plus de l'action des antibiotiques, *Trichoderma* se développe plus rapidement par rapport à au FOC en colonisant le milieu nutritif et en ravissant les éléments

nutritifs, c'est le phénomène de compétition (Alabouvette et al., 1983; Dubot, 1985; Davet, 1996).

D'après Dennis et Websters (1971), les *Trichoderma* émettent des substances chimiques toxiques qui sont des dérivés de l'hydrazine présents sous formes des substances.

L'induction de la résistance chez les plantes par *Trichoderma* a été étudiée et comparée avec les réponses induites par les *Rhizobactéries*. *Trichoderma* est résistante aux cyanures et produit deux différentes enzymes qui sont capables de dégrader les cyanures dans la zone racinaire (Ezzi *et al.*, 2002). Par la suite, ce champignon peut augmenter la croissance racinaire, détruit les métabolites toxiques produits par la microflore et contrôle directement les pathogènes des racines. Des observations microscopiques sur des cultures de différents champignons ont montré que *Trichoderma* croît parallèlement avec *Rizoctonia Solani*.

Toutefois, *Trichoderma* s'enroule autour du *Rizoctonia solani* et forme des crochets empêchant ainsi le développement de celle-ci (Shalini *et al.*, 2007)

Les résultats obtenus par Bouragda *et al.*, (2009) ont montré que les isolats de *T. viride* et *T. harzianum* ont un effet effectif sur la diminution de la gravité de la maladie et la réduction de la gravité (sévérité) de la maladie obtenue a été associée à une augmentation de la croissance végétale incluant la hauteur de tige aussi bien que le poids frais et sec de la plante.

L'efficacité de *Trichoderma harzianum* et *T. viride* contre *R. solani* a été prouvée par Rehmen *et al.*, (2012). Les tests in vitro montrent la réduction de croissance mycélienne avec des fréquences de 85.5% pour *Trichoderma harzianum* et 83.0 % pour *T. viride*. Cependant, les tests effectués in vivo ont montré que le traitement par *T. viride* est plus efficace que le traitement par *Trichoderma harzianum*, dont l'incidence de la maladie constatée est de 7.4 et 11.53% respectivement.

L'activité fongistatique de *Trichoderma* a été investiguée par Ragab *et al.*, (2012). Les résultats obtenus montrent que de l'incidence observée est de 63% pour *T. viride* et 53.5% pour *T. harzianum*. De même Ramezani, (2009) a démontré la réduction de l'incidence de la maladie in vitro par *Trichoderma harzianum* 5 % et *Trichoderma viride* 14%

Cet effet bénéfique est obtenu même en absence de tout agent pathogène. En effet, Windham *et al.*, (1986) ont montré que l'addition de *T. harzianum* et de *T. koningii* à un sol préalablement autoclavé a augmenté le pourcentage de germination des semences de tomate et du tabac en le comparant au témoin et que l'application de ces deux espèces de *Trichoderma* au substrat de culture a amélioré le poids sec des racines ainsi que de la partie aérienne de ces deux espèces qui représentait 213 % à 291 % de celui du témoin non traité.

Toutes les études antérieures portées sur les *Trichoderma* ont montré leur efficacité in vivo vis à vis une multitude des microorganismes phytopathogène et en particulier le Foc (Moutassem

et al., 2020). Des études récentes sur le rôle de *Trichoderma* dans la biologie contrôlée ont principalement utilisé des souches telles que *T. harzianum* (Ferrigoa, et al. 2020 ; Mei et al. 2019, Moutassem et al., 2020, Mironenka et al., 2021), *T. asperellum* 525, and *T. pseudokoningii* (Mei et al. 2019 ; Cheng et al. 2010 ; Bi 2016 ; Díaz-Gutiérrez et al., ), *T. longibrachiatum* (Bi 2016; Zhang et coll. 2016), *T. reesei* (Luo et al., 2016) et *T. atroviride* (Han et al. 2013).

En plus de son pouvoir de lutte biologique, *T. viride* est connu comme agent d'amélioration de croissance chez la plupart des plantes, les résultats de Verma *et al.*, (2007) qui ont travaillé sur la tomate et de Gravel et al. (Avis *et al.*, 2008) ont prouvé que *Trichoderma* est un améliorateur de croissance chez certains types de végétaux. D'après Yedida *et al.*, (2001), Généralement, *Trichoderma* inhibe ou dégrade la pectinase et d'autres enzymes qui sont essentiels pour les phytopathogènes. En plus de son effet inhibiteur, *Trichoderma* est aussi capable d'induire une résistance localisée et systématique. L'amélioration de la croissance des plantes par *Trichoderma* peut prendre lieu soit au niveau de la plante (Yedida *et al.*, 2001), soit au niveau du sol (Chang *et al.* 1986; Harman, 2001).

L'objectif de notre travail est de tester l'effet antagoniste *in vitro* ainsi qu'*in vivo* de quelques souches de *Trichoderma* sp contre le Foc en traitement individuels et associés.

Les résultats de test direct ont montré un effet inhibiteur variable entre 71.82 et 88.30%, où l'espèce pour *Trichoderma BK* et *Trichoderma EK* sont les plus efficaces contre le Foc. Les examens microscopiques ont révélé des changements profonds au niveau de mycélium de Foc, indiquées par une vacuolisation et une induction du vieillissement précoce par épaissement pariétal et une lyse des mycéliums de pathogène.

Les tests antagonistes à distance nous ont permis de dévoiler une grande potentialité inhibitrice de substances volatiles, dont les taux d'inhibition varient entre 55.3 et 76.3% qui sont constatée faible chez l'espèce pour *Trichoderma BK* et *Trichoderma HK* et supérieure chez l'espèce *Trichoderma CK*.

La lecture des données de l'effet des filtrats de culture de *Trichoderma* sp sur la croissance du Foc expose une efficacité totale de l'espèce *Trichoderma 03* pour toutes les concentrations même après 24 h seulement de traitement. Alors que la souche *Trichoderma 10* a exposé un taux de la zone d'inhibition avec environ 75,31, 7,79 et 14,42% pour les concentrations C1, C2 et C3 après 72h de traitement, respectivement.

Les traitements associés par test direct et filtrat de culture ont dénué une augmentation de l'efficacité *in vitro*. Bien que en test direct, l'association *Trichoderma Jk / 22* à montrer la plus efficace avec des taux d'inhibition environ 81.35, 81.71 et 81.84% après 24, 48h et 7h du traitement. Alors que les traitements associés des filtrats de culture des différentes espèces de *Trichoderma sp* exposent que l'association *Trichoderma Jk / DK* et *Trichoderma IK/JK* sont les plus efficace avec des taux d'inhibition totale après 24, pour toutes les concentrations.

Les souches de *Trichoderma* ont été avérés très efficaces *in vivo* avec des valeurs de l'AUDPC variables entre 12 et 25 expliquent une réduction de la maladie variable entre 57.62% et 79.66 %. Cependant, les traitements associés ont montré une réduction très importante de la sévérité de flétrissement vasculaire, dont les valeurs de l'AUDPC sont variables entre 5 et 12 expriment une diminution de sévérité de la maladie variable entre 79.66 et 91.52%.

L'inconvénient majeur est qu'un mode d'action individuel ne peut agir que sur un spectre très étroit de pathogènes. Jusqu'à maintenant, la majorité des agents de contrôle biologique ont ciblé une maladie. Il est claire dans cette que les mélanges de *Trichoderma sp* ayant des modes d'action différents ou les combinaisons de produits naturels et d'agents de contrôle biologique puissent augmenter le spectre d'action mais les connaissances sur l'interaction de tels mélanges sont aujourd'hui limitées.

## Listes des references

1. Abdelmoteleb Ali ., Gonzalez-Mendoza D., Zayed O., (2023). Cell-free culture filtrate of *Trichoderma longibrachiatum* AD-1 as alternative approach to control *Fusarium solani* and induce defense response *Phaseolus vulgaris* L. plants. *Rhizosphere*, 25 100648.
2. Abdelrahman, M., Abdel-Motaal, F., El-Sayed, M., Jogaiah, S., Shigyo, M., Ito, S., Tran, L.S.P. (2016). Dissection of *Trichoderma longibrachiatum* -induced defense in onion (*Allium cepa* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa* by target metabolite profiling. *Plant Science*, 246: 128–138.
3. Abhishek Walia, Chayanika Putatunda, Rashmi Sharma, Samriti Sharma, and Abhishek Thakur., 2023. *Biocontrol: A Sustainable Agricultural Solution for Management of Plant Diseases* ManojKaushal andvRam Prasad : *Microbial Biotechnology in Crop Protection*. Springer.
4. Akira, I., Tomohiro, M., Tetsuro, F., Takalshi, Y. (1999). Peptidic immunosuppressants from the fungus *trichoderma polysporum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9: 3393-3396.
5. Akrami, M., Hadi, G., Ahmadzadeh, M. (2012). Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. *African Journal of Biotechnology*, 10: 2653-2658.
6. Alwhibi, M.S., Hashem, A., Abd\_Allah, E..F, Alqarawi, A.A., Soliman, D.W.K., Wirth, S., Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8): 1751–1757.
7. Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104 (1): 21–29.
8. Askary, H., Benhamou, N., Brodeur, J. (1997). Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology*, 87:359-368.
9. Ayoubi, N., Zafari, D., Mirabolfathy, M. (2014). Evaluation of  $\beta$ -1,3-glucanase and  $\beta$ -1,4- glucanase enzymes production in some *Trichoderma* species, *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, DOI: 10.1080/03235408.2013.862457.
10. Azevedo DMQ, Rocha FDS, Fernandez MDFG, Costa CAD, Muniz MDFS, Barroso PD, Amarol FL, Barbosa DMCDR (2020) Antagonistic effect of *Trichoderma* isolates and its

metabolites against *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* in chickpea. *Braz J Dev Curitiba* 6(6):36344–36361. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n6-251>.

11. Bae, S.-J., Mohanta, T. K., Chung, J. Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., Bae, H. (2016). *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. *Biological Control*, 92: 128–138.

12. Bahous, M., Ouazzani Touhami, A., Douira, A. (2008). Survie de quelques pathogènes fongiques sur les feuilles de riz conservées au laboratoire. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie*, 2008, n°30, 13-18.

13. Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., van Loon, L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 97, 239e243.

14. Bhar1 A., · Akansha J., Sampa D., 2021. Soil pathogen, *Fusarium oxysporum* induced wilt disease in chickpea: a review on its dynamicity and possible control strategies *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 87:260–274.

15. Blumenthal, C.Z. (2004). Production of peptide metabolites in *Aspergillus niger*, *A. oryzae* and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regul. Toxicol. pharmacol*, 39: 214-228.

16. Bouregghda, H., Bouznad, Z., (2009). Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzanium* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 44(1):1588-2691.

17. Braun, H., Woitsch, L., Hetzer, B., Geisen, R., Zange, B., Schmidt-Heydt, M. (2018). *Trichoderma harzianum* : Inhibition of mycotoxin producing fungi and toxin biosynthesis. *International Journal of Food Microbiology*, 280: 10–16.

18. Carol Díaz-Gutiérrez;Catalina Arroyave;Mercè Llugany;Charlotte Poschenrieder;Soledad Martos;Carlos Peláez; (2021). *Trichoderma asperellum* as a preventive and curative agent to control *Fusarium* wilt in *Stevia rebaudiana*. *Biological Control*, (), [doi:10.1016/j.biocontrol.2021.104537](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2021.104537)

19. Chet, I. (1987). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405–416.

20. Chet, I. (1993). *Biotechnology in Plant Disease Control*. John Wiley and Sons, New York

21. Chet, I., Benhamou, N., Besselat, B. (1979). Cellular and molecular mechanisms

- involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, p. 2095–2099.
22. Chet, I., Baker, R. (1981). Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 71: 286-290.
23. Chet, I., Benhamou, N., Haran, S. (1998). Mycoparasitism and lytic enzymes. In *Trichoderma and Gliocladium*, pp. 153-172. Edited by C. P. Kubicek and G. E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor and Francis.
24. Chua, L.S., Latiff, N. A., Lee, S.Y., Lee, C.T., Sarmidi, M.R., Aziz, R.A. (2011). Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (Kacip Fatimah). *Food Chemistry*, 127(3): 1186–1192. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.122.
25. Clavet, C., Pera., Bera, J.M. (1990). Interaction of *Trichoderma* sp. With *Glomus mossaeae* and two pathogenic. *Agric Ecosyst. Environ.*, 9: 59-65.
26. Clériveret, A., Alami, I., Breton, F., Garcia, D., Sanier, C. (1996). Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Botanica Gallica*, 143(6): 531–538.
27. Daryaei, A., Jones, E.E, Alizadeh, H., Glare, T.R. Falloon, R.E. (2016). Biochemical characteristics of *Trichoderma atroviride* associated with conidium fitness for biological control, *Biocontrol Science and Technology*, DOI: 10.1080/09583157.2015.1086312.
28. De Oliveira, V., Bellei, M., Borges A.C. (1984). Control of white rot of garlic by antagonistic fungi under controlled environmental conditions. *Can J. of Microbiol.*, 30: 884- 889.
29. Dennis, L., Webster, J. (1971). Antagonisme properties of species-groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57: 363-369.
30. Dennis, L., Webster., J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* I. production of non-volatile antibiotics. *Trans. Br, mycol, Soc.*, 57 (I): 25-39.
31. Dervilla, M.X., Dgnelly, M., Sheridan, M. (1986). Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. *Phytochemistry*, 25(10): 2303-2304.
32. Díaz-Urbano M., Goicoechea N., Velasco P, Poveda J., 2023. Development of agricultural bio-inoculants based on mycorrhizal fungi and endophytic filamentous fungi: Co-inoculants for improve plant-physiological responses in sustainable agriculture. *Biological Control* 182 (2023) 105223.

33. Dickinson, J.M., Hanson, J.R., Hitchcock, P.B, Claydon, N. (1989). Structure and biosynthesis of harzianopyridone, an antifungal metabolite of *Trichoderma harzianum*. *J Chem Soc Perkin Trans*, 1:1885–1887.
34. Donnelly, D.M.X., Sheridan, M.H. (1986). Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. *Phytochemistry*, 25 (10): 2303–2304.
35. Dubey S. C., Suresh M. and Singh B., (2007), Evaluation Of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*. (40):118-127.
36. Dubey SC. And Patel.,(2001), Evaluation of fungal antagonist against *Thanatephorus cucumeris* causing web blight urd and mung bean. *Indian Phytopathol* 54:206-209.
37. Dubey, M.K, Broberg, A., Sooriyaarachchi, S., Wimal, U., Dan, F.J. (2013). The glyoxylate cycle is involved in pleotropic phenotypes, antagonism and induction of plant defence responses in the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride*. *Magnus Karlsson Fungal Genetics and Biology*
38. Dubey, S.C., Suresh, M., Singh, B. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, 40(1): 118–127.
39. Dubey, S.C., Tripathi, A., Dureja, P., Grover, A. (2011). Characterization of secondary metabolites and enzymes produced by *Trichoderma* species and their efficacy against plant pathogenic fungi. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81 (5): 455–61.
40. Dubey.S.C, Singh.B., (2003), Reaction of chickpea genotypes against *Fusarium Oxysporum* f.sp.*ciceris* causing vascular wilt. *Indian Phytopatholgy*, 57:233.
41. El-Debaiky, S.A. (2017). Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum*. *Microbial Pathogenesis*, 113: 135–143.
42. Elmassi, F., Ghisalberti, E.L., Narbey, M.J. (1991). New antibiotics from strains of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Natural Products*, 54: (2), 396-402.
43. El-Sharkawy, H.H.A., Rashad, Y.M. Ibrahim, S.A. (2018). Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103: 84–91.

44. Ferreira, F.V., Musumeci, M.A., 2021. Trichoderma as biological control agent: scope and prospects to improve efficacy. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 37 (5), 90.
45. Ferrigo, D., Mondin, M., Edith, L., Fabio, F., Causin, R., & Raiola, A. (2020). Effect of seed biopriming with *Trichoderma harzianum* strain INAT11 on *Fusarium* ear rot and *Gibberella* ear rot diseases. *Biological Control*, 104286. doi:10.1016/j.biocontrol.2020.104286
46. Francesca, B.; Silvia, C.; Franzetti, E.; Congiu, T.; Marinelli, F.; Casartelli, M.; Tettamanti, G. Effects of *Trichoderma viride* chitinases on the peritrophic matrix of *Lepidoptera*. *Pest Manag. Sci.* 2016, 72, 980–989.
47. Gajera, H.P., Savaliya, D.D., Patel, S.V., Golakiya, B.A. (2015). *Trichoderma viride* induces pathogenesis related defense response against rot pathogen infection in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Infection, Genetics and Evolution*, 34: 314–325.
48. Gava, C.A.T., Pinto, J. M. (2016). Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. *Biological Control*, 97: 13–20.
49. Ghisalberti, E., Rowland, C.Y. (1993). Antifungal Metabolites from *Trichoderma harzianum*. *Journal of Natural Products*, 56(10): 1799-1804.
50. Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4): 977–987.
51. Halifu S, Deng X, Song X, Song R., Liang., 2021. Inhibitory Mechanism of *Trichoderma virens* ZT05 on *Rhizoctonia solani*. *Plants* 2020, 9, 912
52. Hammad Massinissa; Guillemette Thomas; Alem Meriem; Bastide Franck; Louanchi Meriem; (2021). First report of three species of *Trichoderma* isolated from the rhizosphere in Algeria and the high antagonistic effect of *Trichoderma brevicompactum* to control grey mould disease of tomato . *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, (31:85), doi:10.1186/s41938-021-00423-4
53. Harman, G.E. Myths and Dogmas of Biocontrol Changes in Perceptions Derived from Research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Dis.* 2000, 84, 377–393.
54. Harman, G.E.; Howell, C.R.; Viterbo, A.; Chet, I.; Lorito, M. *Trichoderma* species- opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004, 2, 43–56.
55. Harris, D.R. (1998). The spread of Neolithic agriculture from the Levant to western central Asia. In: Damania A. B., Valkoun J., Willocox G and Qualset C. O.

(eds). The origine of Agriculture and Crop Domestication. ICARDA, Allepo, Syria, pp.54-64.

56. Haware M. P., Nene Y. L. and Natarajan M., 1996. The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* in the absence of chickpea.

*Phytopathology Mediterranean*. (35): 9-12.

57. Haware, M.P. Jimenez-Diaz, R.M. Amin, K.S. Phillips, J.C., Halila, H. (1990). Integrated management of wilt and root rots of chickpea. In: Chickpea in the Nineties: Proceedings of the Second International Workshop on Chickpea Improvement, 4–8 December 1989, ICRISAT Center, Patancheru, India. ICRISAT, Patancheru, pp. 129-

58. Heguera, G., Beauge, L. (1997). Phosphoryl group exchange between ATP and ADP catalyzed. *Plant Physiol*. 114, 1397–1403.

59. Hibar, K., Mejda, D.R., Haifa, K., Mohamed, E. (2005). Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporium* f. sp. *radicis lycopersici*. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 9(5): 163-171.

60. Huang C, Yu B, Teng Y, Su J, Su Q, Cheng Z, Zeng L. 2009. Effects of fruit bagging on coloring and related physiology, and qualities of red Chinese sand pears during fruit maturation. *Scientia Horticulturae*, 121, 149–158.

61. Iida, A., Mihara, T., Fujita, T., Takaishi, Y. (1999). Peptidic immunosuppressants from the fungus *Trichoderma polysporum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9 (24): 3393–3396.

62. Irum, M. (2007). Comparison of phytochemical and chemical control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Mycopathology*, 5(2):107-110.

63. J.A. Navas-Cortés, A.R. Alcalá-Jiménez, B. Hau, R.M. Jiménez-Díaz, (2000). Influence of inoculum density of race 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars, *Eur. J. Plant Pathol*. 106 135–146.

64. Jain, A., Singh, S., Sarma, B.K., Singh, H.B., 2012. Microbial consortium-mediated reprogramming of defence network in pea to enhance tolerance against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology* 112, 537e550.

65. Jiménez-Díaz, R.M., Castillo, P., Jiménez-Gasco, M. del M., Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A. (2015). *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Protection*, 73: 16–27.

66. Jin, P., Wang, S. Y., Gao, H., Chen, H., Zheng, Y., Wang, C.Y. (2012). Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chemistry*, 132(1): 399–405.
67. Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C. L.L., Chibbar, R.N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*, 108(S1): S11–S26.
68. Kaewsalong, N., Songkumarn, P., Duangmal, K., Dethoup, T., 2019. Synergistic effects of combinations of novel strains of *Trichoderma* species and *Coscinium fenestratum* extract in controlling rice dirty panicle. *JPP* 101 (2), 367–372.
69. Keswani, C., Mishra, S., Sarma, B.K., Singh, S.P., Singh, H.B. (2013). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98 (2): 533–544.
70. Keszler, A., Forgacs, E., Kotai, I., Vizcaino, J.A., Garcia-Acha, I., (2000). Separation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atroviride* by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectroscopy. *J Chromatograph Sci*, 38 :421-424
71. Khan, S.T., 2022. Consortia-based microbial inoculants for sustaining agricultural activities. *Appl. Soil Ecol.* 176, 104503 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104503>.
72. Kumar, A., Zhimo, Y., Biasi, A., Salim, S., Feygenberg, O., Wisniewski, M., Droby, Samir, 2021. Endophytic microbiome in the carposphere and its importance in fruit physiology and pathology, in: Spadaro, D., Droby, S., Gullino, M.L. (Eds.), *Postharvest Pathology*. pp. 73-88. Doi: 10.1007/978-3-030-56530-5\_5.
73. LI, Mei; MA, Guang-shu; LIAN, Hua; SU, Xiao-lin; TIAN, Ying; HUANG, Wen-kun; MEI, Jie; JIANG, Xi-liang (2019). The effects of *Trichoderma* on preventing cucumber fusarium wilt and regulating cucumber physiology. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(3), 607–617. doi:10.1016/S2095-3119(18)62057-X
74. Li, R.X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q.R., Li, R., Chen, W. (2015). Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. *PLOS ONE*, 10 (6): e0130081. doi:10.1371/journal.pone.0130081.
75. Li, Y.T., Hwang, S.G., Huang, Y.M., Huang, C.H. (2018). Effects of *Trichoderma asperellum* on nutrient uptake and Fusarium wilt of tomato. *Crop Protection*, 110: 275–282.

76. Lijun L., Mingmei P., Hong L. Wenting C., KunLing J., Yuanyuan W., 2023. Antifungal activity of diacetyl, a volatile organic compound, on *Trichoderma lixii* F2 isolated from postharvest Lanzhou lily bulbs. *Food Bioscience* 52 (2023) 102365.
77. Livak, K.J.; Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(DDCt) method. *Methods*, 25, 402–408.
78. M. Haware, Y.L. Nene, M. Natarajan, (1996). The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in the soil in the absence of chickpea, *Phytopathol. Mediterr.* 35 9–12.
79. Malofeeva, E.V., Domanitskaya, N., Gudima, M., Hopper-Borge, E.A. (2012). Modulation of the ATPase and transport activities of broad-acting multidrug resistance factor ABCC10 (MRP7). *Cancer Res*, 72: 6457–6467.
80. Medeiros HA, Araújo Filho JV, Grassi de Freitas L, Castillo P, Rubio MB, Hermosa R et al (2017) Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *Sci Rep.* 7(1):40216.
81. Meena, M., Swapnil, P., Zehra, A., Dubey, M.K., Upadhyay, R.S. (2017): Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, DOI: 10.1080/03235408.2017.1357360
82. Merkuze A. and Getachew A., (2012), Influence of chickpea fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp.*ciceris*), on Desi and Kabuli-type of chickpea in integrated disease management option at wilt sick plot in North western Ethiopia. *International Journal of Current Research.* 4 (04): 046-052.
83. Meseret Muchea, et Getahun Yemata., 2022. Epidemiology and pathogenicity of vascular wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, and the host defense responses. *South African Journal of Botany* 151 (2022) 339-348.
84. Mohammad, A., Hadi, G., Masoud, A. (2011). Evaluation of different combinations of *Trichoderma* species for controlling *Fusarium* rot of lentil. *African Journal of Biotechnology*, 10(14): 2653–2658.
85. Mona, S.A., Hashem, A., Abd\_Allah, E.F., Alqarawi, A.A., Soliman, D.W.K., Wirth, S., Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16 (8): 1751–1757.

86. Monfil, V.O., Casas-Flores, S. (2014). Molecular Mechanisms of Biocontrol in *Trichoderma* spp. and Their Applications in Agriculture. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 429–453.
87. Mukherjee, M., Horwitz, B.A., Sherkhane, P.D. Hadar, R., Mukherjee, P.K. (2006). A secondary metabolite biosynthesis cluster in *Trichoderma virens*: evidence from analysis of genes under expressed in a mutant defective in morphogenesis and antibiotic production. *Curr Genet*, 50:193–202.
88. Mukherjee, M., Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Zachow C., Berg, G., Zeilinger, S. (2012). *Trichoderma–Plant–Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control*. *Indian J Microbiol*, 52 (4):522–529.
89. Mukherjee, M.; Mukherjee, P.K.; Horwitz, B.A.; Zachow, C.; Berg, G.; ZEILINGER, S. *Trichoderma–Plant–Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control*. *Indian J. Microbiol.* 2012, 52, 522–529.
90. Nassr S, Barakat R (2013) Effect of factors on conidium germination of *Botrytis cinerea* in vitro. *Methods* 67:68
91. Nawaz, K., Shahid, A.A., Bengyella, L., Subhani, M.N., Ali, M., Anwar, W., Iftikhara, S., Ali, S.W. (2018). Diversity of *Trichoderma* species in chili rhizosphere that promote vigor and antagonism against virulent *Phytophthora capsici*. *Scientia Horticulturae*, 239: 242–252.
92. Nawrocka, J., Małolepsza, U. (2013). Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control*, 67 (2), 149–156.
93. Pandey Abhay K Kumar A., Samota M K., Tanti A., 2023. *Trichoderma reesei* as an elicitor triggers defense responses in tea plant and delays gray blight symptoms. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 188: 105279.
94. Pascale, A., Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Lanzuise, S., Ruocco, M., Lorito, M. (2017). *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop Protection*, 92: 176–181.
95. R.M. Jimenez-Díaz, P. Castillo, M.M. Jimenez-Gasco, B.B. Landa, J.A. Navas-Cortes, (2015). *Fusarium wilt of chickpeas: Biology, ecology and management*, *Crop Protect.* 73 16–27.
96. Rajab L., Habib W., Gerges E., Ibtisam G., Ahmad M., (2023). Natural occurrence of fungal endophytes in cultivated cucumber plants in Syria, with emphasis on the entomopathogen *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology* 196 107868.

97. Reithner, B., Schuhmacher, R., Stoppacher, N., Pucher, M., Brunner, K., Zeilinger, S. (2007). Signaling via the *Trichoderma atroviride* mitogen-activated protein kinase Tmk1 differentially affects mycoparasitism and plant protection. *Fungal Genetics and Biology*, 44: 1123–1133.
98. Ren Y., Ge W., Dong C., Wang H., Zhao S., Li C., Xu J., Liang Z. Han Y., 2023. Specialist species of fungi and bacteria are more important than the intermediate and generalist species in near-urban agricultural soils. *Applied Soil Ecology* 188 (2023) 104894.
99. Saravanakumar, K., Dou, K., Lu, Z., Wang, X., Li, Y., Chen, J. (2018). Enhanced biocontrol activity of cellulase from *Trichoderma harzianum* against *Fusarium graminearum* through activation of defense-related genes in maize. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103: 130–136.
100. Saravanakumar, K., Yu, C., Dou, K., Wang, M., Li, Y., Chen, J. (2016). Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biological Control*, 94: 37–46.
101. Sarrocco, S., Mikkelsen, L., Vergara, M., Jensen, D.F., Beck, M.L., Vannacci, G. (2006). Histopathological studies of sclerotia of phytopathogenic fungi parasitized by a GFP transformed *Trichoderma virens* antagonistic strain. *mycological research*, 110 : 179 – 187.
102. Schubert, M., Fink, S., Schwarze, W.M.R. (2008). In vitro screening of an antagonistic *Trichoderma* strain against wood decay fungi. *Arboric J* 31:227–248
- Schwab EK, Keller NP (2008) Regulation of secondary metabolite production in filamentous ascomycetes. *Mycol Res*, 112:225–230.
103. Sharma, M., Nagavardhini, A., Thudi, M., Ghosh, R., Pande, S., Varshney, R.K. (2014). Development of DArT markers and assessment of diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, wilt pathogen of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *BMC Genomics*, 15(1): 454.
104. Sharma, V., Salwan, R., Sharma, P.N. (2017). The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and Probiotics: Scope for future research. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 100: 84–96.
105. Singh, A., Jain, A., Sarma, B.K., Upadhyay, R.S., Singh, H.B., 2013b. Rhizospheremicrobes facilitate redox homeostasis in *Cicer arietinum* against biotic stress. *Annals of Applied Biology* 163, 33e46.

106. Singh, A., Sarma, B.K., Upadhyay, R.S., Singh, H.B., 2013a. Compatible rhizosphere microbes mediated alleviation of biotic stress in chickpea through enhanced antioxidant and phenylpropanoid activities. *Microbiological Research* 168, 33-40.
107. Sirikamonsathien T., Kenji M., Dethoup T., 2023. Potential of endophytic *Trichoderma* in controlling *Phytophthora* leaf fall disease in rubber (*Hevea brasiliensis*). *Biological Control* 179 (2023) 105175.
108. Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiw, M.S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Fabrizio Araniti, F., Anket Sharma, A., 2020. *Trichoderma*: the “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants* 9 (6), 1–25.
109. Sood, M.; Kapoor, D.; Kumar, V.; Sheteiw, M.S.; Ramakrishnan, M.; Landi, M.; Araniti, F.; Sharma, A. *Trichoderma*: The “Secrets” of a Multitasking Biocontrol Agent. *Plants* 2020, 9, 762.
110. Stockwell, V.O., Johnson, K.B., Sugar, D., Loper, J.E., 2011. Mechanistically compatible mixtures of bacterial antagonists improve biological control of fire blight of pear. *Phytopathology* 101, 113e123.
111. Swapan K. G \*, Sujoy P., Subhankar B., 2022. Identification and pathogenicity of *Alternaria alternata* causing leaf blight of *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. and its biocontrol by *Trichoderma* species in agrifields--an ecofriendly approach. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 31 (2022) 100406.
112. Toghueo, R.M.K., Eke, P., Zabalgoitia, Í., de Aldana, B.R.V., Nana, L.W., Boyom, F.F. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic *Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96: 8–20.
113. Trapero-Casas, A., Jimenez-Diaz, R.M. (1985). Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in Southern Spain. *Phytopathology*, 75: 1146-1151.
114. Trapero-Casas. and Jiménez-Díaz RM., (1985), Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology* 75: 1146–1151. doi: 10.1094/phyto-75-1146
115. Trivedi, S., Neetu, T., Chaudhary RG. (2013). Efficacy of *Trichoderma* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, the incitant of Wilt Disease in Chickpea. *J Mycol Plant Pathol*, 43(1).
116. Venkataramanamma K. · Bhaskara Reddy B. V · Sarada Jayalakshmi Jayalakshmi R. · V. Hariprasad K. V.; 2022. Exploring potential of *Trichoderma* spp.

against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* and their growth promotion activity. *Indian Phytopathology* (2022) 75:807–820.

117. Verma M, Brar SK, Tyagi RD, Surampalli RY, Valero JR (2007) Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochem Eng J* 37(1):1–20.

118. Vinale, F., Ghisalberti, E.L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Lorito, M. (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. doi:10.1111/j.1472-765x.2009.02599.x.

119. Vinale, F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E. L., Ruocco, M., Lorito, M. (2013). Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiology Letters*, n/a–n/a. doi:10.1111/1574-6968.12231.

120. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., Woo S.L. Lorito, M. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72 (1-3): 80–86.

121. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Ruocco, M, Woo, S., Lorito, M., (2012). *Trichoderma* Secondary Metabolites that Affect Plant Metabolism. *Natural Product Communications Vol. 7* (11): 2012.

122. Whipps JM (1997) Ecological considerations involved in commercial development of biological control agents for soilborne diseases. *Modern soil microbiology.*, 525-546.

123. Whipps JM, Lumsden RD (2001) Commercial use of fungi as plant disease biological control agents: status and prospects. *Fungal biocontrol agents: progress, problems and potential*, 9-22.

124. Xiong, H.; Xue, K.; Qin,W.; Chen, X.;Wang, H.F.; Shi, X.H.; Ma, T.; Sun, Z.H.; Chen,W.G.; Tian, X.Q.; et al. Does Soil Treated with Conidial Formulations of *Trichoderma* spp. Attract or Repel Subterranean Termites. *J. Econ. Entomol.* 2018, 111, 808–816.

125. Yael González, Sergio de los Santos-Villalobos, and Ernestina Castro-Longoria N. 2021 *Trichoderma* Secondary Metabolites Involved in Microbial Inhibition. InSankaranarayanan A., M. Kumar Dwivedi Irina S.Druzhinina, *Advances in Trichoderma Biology for Agricultural Applications*. Spreiger.

126. You J, Zhang J, Wua M, Yang L, Chen W, Li G (2016) Multiple criteria-based screening of *Trichoderma* isolates for biological control of *Botrytis cinerea* on tomato. *Biol Control* 101:31–38
- Zhang F, Chen C, Zhang F, Gao L, Liu G, Chen L, Fan X, Liu C, Zhang K, He Y, Chen C, Ji X (2017) *Trichoderma harzianum* containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase and chitinase improved growth and diminished adverse effect caused by *Fusarium oxysporum* in soybean. *J Plant Physiol* 210:84–94
127. You, J., Zhang, J., Wu, M., Yang, L., Chen, W., Li, G. (2016). Multiple criteria-based screening of *Trichoderma* isolates for biological control of *Botrytis cinerea* on tomato. *Biological Control*, 101: 31–38.
128. Younesi H., Bazgir Eidi ., Darvishnia M., Chehri K., 2021. Selection and control efficiency of *Trichoderma* isolates against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Iran. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 116 (2021) 101731.
129. Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., Mukherjee, P.K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30 (2): 74–90.
130. Zhang, F., Ge, H., Zhang, F., Guo, N., Wang, Y., Chen, L., Ji, X., Li, C. (2016). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolates T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100: 64-74.
131. Zhu, J., Lee, B., Dellinger, M., Cui, X., Zhang, C., Wu, S., Nothnagel, E.A., Zhu, J. (2011). A cellulose synthase like protein is required for osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 63: 128–140.
132. Zin, N.A., Badaluddin, N.A., 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. For agriculture applications. *Ann. Agric. Sci.* 65, 168–178.
133. Abdelrahman, M., Abdel-Motaal, F., El-Sayed, M., Jogaiah, S., Shigyo, M., Ito, S., Tran, L.S.P. (2016). Dissection of *Trichoderma longibrachiatum* -induced defense in onion (*Allium cepa* L.) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepa* by target metabolite profiling. *Plant Science*, 246: 128–138.

134. Akira, I., Tomohiro, M., Tetsuro, F., Takalshi, Y. (1999). Peptidic immunosuppressants from the fungus *Trichoderma polysporum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9: 3393-3396.
135. Akira, I., Tomohiro, M., Tetsuro, F., Takalshi, Y. (1999). Peptidic immunosuppressants from the fungus *trichoderma polysporum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9: 3393-3396.
136. Alwhibi, M.S., Hashem, A., Abd\_Allah, E..F, Alqarawi, A.A., Soliman, D.W.K., Wirth, S., Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8): 1751–1757.
137. Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104 (1): 21–29.
138. Askary, H., Benhamou, N., Brodeur, J. (1997). Ultrastructural and cytochemical investigations of the antagonistic effect of *Verticillium lecanii* on cucumber powdery mildew. *Phytopathology*, 87:359-368.
139. Ayoubi, N., Zafari, D., Mirabolfathy, M. (2014). Evaluation of  $\beta$ -1,3-glucanase and  $\beta$ - 1,4-glucanase enzymes production in some *Trichoderma* species, *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, DOI: 10.1080/03235408.2013.862457.
140. Badawy, M.E.I., Abdelgaleil, S.A.M. (2014). Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *Industrial Crops and Products*, 52:776–782.
141. Bae, S.-J., Mohanta, T. K., Chung, J. Y., Ryu, M., Park, G., Shim, S., Bae, H. (2016). *Trichoderma* metabolites as biological control agents against *Phytophthora* pathogens. *Biological Control*, 92: 128–138.
142. Bahous, M., Ouazzani Touhami, A., Douira, A. (2008). Survie de quelques pathogènes fongiques sur les feuilles de riz conservées au laboratoire. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie*, 2008, n°30, 13-18.
143. Bartholomew, N.A., Emylia, J.T., Chibuzor, N., 2017. Preventive and curative control of *Sclerotium* rot disease of cocoyam cormel (*Colocasia esculenta* [L., Scott]) using plant extracts and *Trichoderma koningii*. *J. App. Biol. Biotechnol.* 5, 40–44.
144. Belabid, L., Simoussa, L., Bayaa, B. (2010). Effect of some plant extracts on the

- population of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, the causal organism of lentil wilt. *Advances in Environmental Biology*, 4(1): 95–100.
145. Blumenthal, C.Z. (2004). Production of peptide metabolites in *Aspergillus niger*, *A.oryzae* and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regul. Toxicol. pharmacol*, 39: 214-228.
146. Boureghda, H., Bouznad, Z., (2009). Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzanium* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 44(1):1588-2691.
147. Braun, H., Woitsch, L., Hetzer, B., Geisen, R., Zange, B., Schmidt-Heydt, M. (2018). *Trichoderma harzianum* : Inhibition of mycotoxin producing fungi and toxin biosynthesis. *International Journal of Food Microbiology*, 280: 10–16.
148. Carovic-Stanko, K., Orlic, S., Politeom, O., Strikic, F., Kolak, I., Milos, M., Satovic, Z. (2010). Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. *Food Chem*, 119: 196–201.
149. Chet I. 1990. Mycoparasitism- recognition, physiology and ecology. In: *New Directions in Biological Control: Alternatives for Suppressing the Agricultural Pests and Diseases* (R. baker and P. Dunn, eds.). Alan R Liss NY, 725 pp.
150. Chet, I. (1987). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405–416.
151. Chet, I. (1993). *Biotechnology in Plant Disease Control*. John Wiley and Sons, New York
152. Chet, I., Benhamou, N., Besselat, B. (1979). Cellular and molecular mechanisms involved in the interaction between *Trichoderma harzianum* and *Pythium ultimum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, p. 2095–2099.
153. Chet, I., Baker, R. (1981). Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 71: 286-290.
154. Chet, I., Benhamou, N., Haran, S. (1998). Mycoparasitism and lytic enzymes. In *Trichoderma and Gliocladium*, pp. 153-172. Edited by C. P. Kubicek and G. E. Harman. London; Bristol, PA: Taylor and Francis.
155. Chet, I., Benhamou, N., Haran, S. (1998). Mycoparasitism and lytic enzymes. In

Trichoderma and Gliocladium, pp. 153-172. Edited by C. P. Kubicek and G. E. Harman.

London; Bristol, PA: Taylor and Francis.

156. Chua, L.S., Latiff, N. A., Lee, S.Y., Lee, C.T., Sarmidi, M.R., Aziz, R.A. (2011). Flavonoids and phenolic acids from *Labisia pumila* (Kacip Fatimah). *Food Chemistry*, 127(3): 1186–1192. doi:10.1016/j.foodchem.2011.01.122.

157. Clavet, C., Pera., Bera, J.M. (1990). Interaction of *Trichoderma* sp. With *Glomus mossaeae* and two pathogenic. *Agric Ecosyst. Environ*, 9: 59-65.

158. Clériveret, A., Alami, I., Breton, F., Garcia, D., Sanier, C. (1996). Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Botanica Gallica*, 143(6): 531–538.

159. Cooke B.M. and Kaye B., Published by Springer, P.O. Box 17, 3300 AA Dordrecht, The Netherlands. Pp 81-110.

160. Daryaei, A., Jones, E.E, Alizadeh, H., Glare, T.R. Falloon, R.E. (2016). Biochemical

characteristics of *Trichoderma atroviride* associated with conidium fitness for biological

control, *Biocontrol Science and Technology*, DOI: 10.1080/09583157.2015.1086312.

161. Dennis, L., Webster, J. (1971). Antagonism properties of species-groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. *Trans. Br. Mycol. Soc*, 57: 363-369.

162. Dennis, L., Webster., J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*

I. production of non-volatile antibiotics. *Trans. Br, mycol, Soc*, 57 (I): 25-39.

163. Dervilla, M.X., Dgnnelly, M., Sheridan, M. (1986). Anthraquinones from *Trichoderma*

*polysporum*. *Phytochemistry*, 25(10): 2303-2304.

164. Dickinson, J.M., Hanson, J.R., Hitchcock, P.B, Claydon, N. (1989). Structure and biosynthesis of harzianopyridone, an antifungal metabolite of *Trichoderma harzianum*. *J Chem Soc Perkin Trans*, 1:1885–1887.

165. Dubey, M.K, Broberg, A., Sooriyaarachchi, S., Wimal, U., Dan, F.J. (2013). The glyoxylate cycle is involved in pleotropic phenotypes, antagonism and induction of plant

- defence responses in the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride*. *Magnus Karlsson Fungal Genetics and Biology*
166. Dubey, S.C., Suresh, M., Singh, B. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, 40(1): 118–127.
167. Dubey, S.C., Tripathi, A., Dureja, P., Grover, A. (2011). Characterization of secondary metabolites and enzymes produced by *Trichoderma* species and their efficacy against plant pathogenic fungi. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81 (5): 455–61.
168. El-Debaiky, S.A. (2017). Antagonistic studies and hyphal interactions of the new antagonist *Aspergillus piperis* against some phytopathogenic fungi in vitro in comparison with *Trichoderma harzianum*. *Microbial Pathogenesis*, 113: 135–143.
169. Elshafie, H.S., Camele, I., Sofu, S.A., Mazzone, G., Calvano, M., Masi, S., Caniani, D., 2020a. Mycoremediation effect of *Trichoderma harzianum* strain T22 combined with ozonation in diesel-contaminated sand. *Chemosphere* 252, 126597.
170. Elshafie, H.S., Caputo, L., De Martino, L., Grufova, D., Zheljzkov, V.Z., De Feo, V., Camele, I., 2020b. Biological investigations of essential oils extracted from three *Juniperus* species and evaluation of their antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities. *J. Appl. Microbiol.* 129, 1261–1271.
171. Elshafie, H.S., Devescovi, G., Venturi, V., Camele, I., Sofu, S.A., 2019b. Study of the regulatory role of n-acyl homoserine lactones mediated quorum sensing in the biological activity of *Burkholderia gladioli* pv. *agaricicola* causing soft rot of *Agaricus* spp. *Front. Microbiol.* 10, 2619.
172. Elshafie, H.S., Sakr, S.H., Sadeek, A.S., Camele, I., 2019a. Biological investigations and spectroscopic studies of new moxifloxacin/glycine-metal complexes. *Chem. Biodiv.* 16,1–13.
173. El-Sharkawy, H.H.A., Rashad, Y.M. Ibrahim, S.A. (2018). Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103: 84–91.
174. El-Sharkawy, H.H.A., Rashad, Y.M. Ibrahim, S.A. (2018). Biocontrol of stem rust disease of wheat using arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma* spp. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103: 84–91.

175. Faruk, M.I., 2018. Effect of tricho-compost against seedling blight disease of wheat caused by *Sclerotium rolfsii*. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* 46, 395–402.
176. Gajera, H.P., Savaliya, D.D., Patel, S.V., Golakiya, B.A. (2015). *Trichoderma viride* induces pathogenesis related defense response against rot pathogen infection in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Infection, Genetics and Evolution*, 34: 314–325.
177. Gava, C.A.T., Pinto, J. M. (2016). Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma* spp. and liquid compost. *Biological Control*, 97: 13–20.
178. Ghisalberti, E., Rowland, C.Y. (1993). Antifungal Metabolites from *Trichoderma harzianum*. *Journal of Natural Products*, 56(10): 1799-1804.
179. Goulson D 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*. 50,977–987
180. Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4): 977–987.
181. Grušlová, D., Caputo, L., Elshafie, H.S., Baranova, B., Martino, L., Sediak, V., Grušlová, Z., Poracova, J., Camele, I., De Feo, V., 2020. Thymol chemotype *Origanum vulgare* L. essential oil as a potential selective bio-based herbicide on monocot plant species. *Molecules* 25, 595.
182. Harris, D.R. (1998). The spread of Neolithic agriculture from the Levant to western central Asia. In: Damania A. B., Valkoun J., Willocox G and Qualset C. O. (eds). *The origine of Agriculture and Crop Domestication*. ICARDA, Aleppo, Syria, pp.54-64.
183. Heguera, G., Beauge, L. (1997). Phosphoryl group exchange between ATP and ADP catalyzed. *Plant Physiol.* 114, 1397–1403.
184. Herrera-Estrella A. and Chet I. 2003. The biological control agent *Trichoderma* from fundamentals to applications. In: Arora D.K., Bridge P.D. and Bhatnagar D. (eds), *Fungal Biotechnology in Agricultural, Food, and Environmental Applications*, Marcel Dekker, New York, pp. 147–156.
185. Herrera-Estrella A., Chet I. 1998. Biocontrol of bacteria and phytopathogenic fungi. p. 263–282. In: *Agricultural Biotechnology* (A. Altman, ed.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
186. Hibar, K., Mejda, D.R., Haifa, K., Mohamed, E. (2005). Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*.

- Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 9(5): 163-171.
187. Irum, M. (2007). Comparison of phytochemical and chemical control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Mycopathology*, 5(2):107-110.
188. Islam, M.M., Hossain, D.M., Nonaka, M., Harada, N., 2017. Biological control of tomato collar rot induced by *Sclerotium rolfsii* using *Trichoderma* species isolated in Bangladesh. *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* 50, 109–116.
189. Jiménez-Reyes, M.F., Carrasco, H., Olea, A.F., Silva-Moreno, E., 2019. Natural compounds: a sustainable alternative to the phytopathogens control. *J. Chil. Chem. Soc.* 64,4459–4465
190. Jiménez-Díaz, R., Jiménez-Gasco, M.M. (2011). Integrated Management of *Fusarium* Wilt Diseases. *Control of Fusarium Diseases*, 177-215.
191. Jiménez-Díaz, R.M., Castillo, P., Jiménez-Gasco, M. del M., Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A. (2015). *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Protection*, 73: 16–27.
192. Jin, P., Wang, S. Y., Gao, H., Chen, H., Zheng, Y., Wang, C.Y. (2012). Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chemistry*, 132(1): 399–405.
193. Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C. L.L., Chibbar, R.N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition*,108(S1): S11–S26.
194. Keswani, C., Mishra, S., Sarma, B.K., Singh, S.P., Singh, H.B. (2013). Unraveling the efficient applications of secondary metabolites of various *Trichoderma* spp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98 (2): 533–544.
195. Keszler, A., Forgacs, E., Kotai, I., Vizcaino, J.A., Garcia-Acha, I., (2000). Separation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atroviride* by solid phase extraction and gas chromatography-mass spectroscopy. *J Chromatograph Sci*,38 :421-424
196. Li, R.X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q.R., Li, R., Chen, W. (2015). Solubilisation of Phosphate and Micronutrients by *Trichoderma harzianum* and Its Relationship with the Promotion of Tomato Plant Growth. *PLOS ONE*, 10 (6): e0130081. doi:10.1371/journal.pone.0130081.
197. Li, Y.T., Hwang, S.G., Huang, Y.M., Huang, C.H. (2018). Effects of *Trichoderma*

- asperellum on nutrient uptake and Fusarium wilt of tomato. *Crop Protection*, 110: 275–282.
198. Malofeeva, E.V., Domanitskaya, N., Gudima, M., Hopper-Borge, E.A. (2012). Modulation of the ATPase and transport activities of broad-acting multidrug resistance factor ABCC10 (MRP7). *Cancer Res*, 72: 6457–6467.
199. Meena, M., Swapnil, P., Zehra, A., Dubey, M.K., Upadhyay, R.S. (2017): Antagonistic assessment of *Trichoderma* spp. by producing volatile and non-volatile compounds against different fungal pathogens, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, DOI: 10.1080/03235408.2017.1357360
200. Monfil, V.O., Casas-Flores, S. (2014). Molecular Mechanisms of Biocontrol in *Trichoderma* spp. and Their Applications in Agriculture. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 429–453.
201. Moutassem D., 2020. Epidémiologie de la fusariose vasculaire de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) causée par *Fusarium oxysporum* Scheicht. Emend. Snyd. Flans, f. sp. *Ciceris* (Padwick), et méthodes et moyens de lutte. Thèse de de Doctorat. 295pp.
202. Moutassem, D., Belabid L., Bellik, Y., Ziouche, S. and Baali, F. 2019. Efficacy of essential oils of various aromatic plants in the biocontrol of Fusarium wilt and inducing system-ic resistance in chickpea seedlings. *Plant Protection Science*, 55 (3): 202–217.
203. Mukherjee, M., Horwitz, B.A., Sherkhane, P.D. Hadar, R., Mukherjee, P.K. (2006). A secondary metabolite biosynthesis cluster in *Trichoderma virens*: evidence from analysis of genes under expressed in a mutant defective in morphogenesis and antibiotic production. *Curr Genet*, 50:193–202.
204. Mukherjee, M., Mukherjee, P.K., Horwitz, B.A., Zachow C., Berg, G., Zeilinger, S.(2012). *Trichoderma–Plant–Pathogen Interactions: Advances in Genetics of Biological Control*. *Indian J Microbiol*, 52 (4):522–529.
205. Navas-Cortés, J. A., Hau, B., Jiménez-Díaz, R. M. (1998). Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of Fusarium wilt of chickpea. *Phytopathology*, 88:1338-1346.
206. Navas-Cortés, J.A., Hau B., Jiménez-Díaz, R.M. (2000). Yield loss in chickpeas in relation to the development of Fusarium wilt epidemics. *Phytopathology*, 90: 1269-1278.

207. Nawaz, K., Shahid, A.A., Bengyella, L., Subhani, M.N., Ali, M., Anwar, W., Iftikhara, S., Ali, S.W. (2018). Diversity of *Trichoderma* species in chili rhizosphere that promote vigor and antagonism against virulent *Phytophthora capsici*. *Scientia Horticulturae*, 239:242–252.
208. Nawrocka, J., Małolepsza, U. (2013). Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control*, 67 (2), 149–156.
209. New, A.P., Eckers, C., Haskins, N.J., Neville, W.A., Elson, S., Hueso-Rodríguez, J.A., Rivera-Sagredo, A. (1996). Analytical Structures of Polysporins A-D, Four New Peptaibols Isolated from *Trichoderma polysporum*. *Tetrahedron Letters*, 37 (17): 3039-3042.
210. Oh, S-U., Lee, S.J., Kim, J.H., Yoo, I.D. (2000). Structural elucidation of new antibiotic peptides, atroviridins A, B and C from *Trichoderma atroviride*. *Tetrahedron Letters*, 41:61–64.
211. Pascale, A., Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Lanzuise, S., Ruocco, M., Lorito, M. (2017). *Trichoderma* and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop Protection*, 92: 176–181.
212. Reithner, B., Schuhmacher, R., Stoppacher, N., Pucher, M., Brunner, K., Zeilinger, S. (2007). Signaling via the *Trichoderma atroviride* mitogen-activated protein kinase Tmk1 differentially affects mycoparasitism and plant protection. *Fungal Genetics and Biology*, 44:1123–1133.
213. Riley I.T., McKay A.C. (2009). Cereal cyst nematode in Australia: biography of a biological invader. In: Riley, I.T., Nicol, J.M. et Dababat, A.A. (Eds.). *Cereal cyst nematodes: status, research and outlook*. CIMMYT, Ankara, Turkey. pp. 23–28.
214. Saravanakumar, K., Dou, K., Lu, Z., Wang, X., Li, Y., Chen, J. (2018). Enhanced biocontrol activity of cellulase from *Trichoderma harzianum* against *Fusarium graminearum* through activation of defense-related genes in maize. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103: 130–136.
215. Saravanakumar, K., Yu, C., Dou, K., Wang, M., Li, Y., Chen, J. (2016). Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biological Control*, 94: 37–46.
216. Sarrocco, S., Mikkelsen, L., Vergara, M., Jensen, D.F., Beck, M.L., Vannacci, G. (2006). Histopathological studies of sclerotia of phytopathogenic fungi parasitized by

a GFPtransformed *Trichoderma virens* antagonistic strain. *mycological research*, 110 : 179 – 187.

217. Schubert, M., Fink, S., Schwarze, W.M.R. (2008). In vitro screening of an antagonistic *Trichoderma* strain against wood decay fungi. *Arboric J* 31:227–248

Schwab EK, Keller NP

(2008) Regulation of secondary metabolite production in filamentous ascomycetes.

*Mycol Res*, 112:225–230.

218. Sharma, M., Nagavardhini, A., Thudi, M., Ghosh, R., Pande, S., Varshney, R.K.

(2014). Development of DArT markers and assessment of diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, wilt pathogen of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *BMC Genomics*, 15(1): 454.

219. Sharma, V., Salwan, R., Sharma, P.N. (2017). The comparative mechanistic aspects of *Trichoderma* and Probiotics: Scope for future research. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 100: 84–96.

220. Soylu, E.M., Soylu, S., Kurt Ş. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*.

*Mycopathol*, 161: 119–128.

221. Stoppacher, N., Kluger, B., Zeilinger, S., Krska, R., Schuhmacher, R. (2010).

Identification and profiling of volatile metabolites of the biocontrol fungus

*Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GC-MS. *J Microbiol Methods*, 81(2):187-93.

222. Sunpapao, A., Chairin, T., Ito, S. (2018). The biocontrol by *Streptomyces* and *Trichoderma* of leaf spot disease caused by *Curvularia oryzae* in oil palm seedlings.

*Biological Control*, 123: 36–42.

223. Toghueo, R.M.K., Eke, P., Zabalgoageazcoa, Í., de Aldana, B.R.V., Nana, L.W.,

Boyom, F.F. (2016). Biocontrol and growth enhancement potential of two endophytic

*Trichoderma* spp. from *Terminalia catappa* against the causative agent of Common

Bean Root Rot (*Fusarium solani*). *Biological Control*, 96: 8–20.

224. Trapero-casas, A., Jiminez-diaz, R. M. (1985b). Etiologia, importancia. Y.

distribucion de la seca del garbanzo eb el valle del Guadalquivir. *Bol. Serv. Plagas*, 11: 95pp.

225. Trapero-Casas, A., Jiminez-Diaz, R.M. (1985). Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in Southern Spain. *Phytopathology*, 57: 1146-1151.

226. Vinale, F., Ghisalberti, E.L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A.,

Ferracane, R.,Lorito, M. (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma*

- harzianum secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Letters in Applied Microbiology*. doi:10.1111/j.1472-765x.2009.02599.x.
227. Vinale, F., Manganiello, G., Nigro, M., Lanzuise, S., Ruocco, M., Lorito, M. (2017). Trichoderma and its secondary metabolites improve yield and quality of grapes. *Crop Protection*, 92: 176–181.
228. Vinale, F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E. L., Ruocco, M., Lorito, M. (2013). Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiology Letters*, n/a–n/a. doi:10.1111/1574-6968.12231.
229. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Barbetti, M. J., Li, H., Woo S.L. Lorito, M. (2008). A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 72 (1-3): 80–86.
230. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Ruocco, M., Woo, S., Lorito, M., (2012). *Trichoderma* Secondary Metabolites that Affect Plant Metabolism. *Natural Product Communications Vol. 7* (11): 2012.
231. You, J., Zhang, J., Wu, M., Yang, L., Chen, W., Li, G. (2016). Multiple criteria-based screening of *Trichoderma* isolates for biological control of *Botrytis cinerea* on tomato. *Biological Control*, 101: 31–38.
232. Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., Mukherjee, P.K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30 (2): 74–90.
233. Zhang, F., Ge, H., Zhang, F., Guo, N., Wang, Y., Chen, L., Ji, X., Li, C. (2016). Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* isolates T-aloe against *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. *Plant Physiology and Biochemistry*, 100: 64-74.
234. Zhu, J., Lee, B., Dellinger, M., Cui, X., Zhang, C., Wu, S., Nothnagel, E.A., Zhu, J. (2011). A cellulose synthase like protein is required for osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*. *Plant J*, 63: 128–140.
235. Bhar, S. (2021). *The Environmental Impacts and Drivers of Consumption in India*. Manipal: Manipal Academy of Higher Education, India.
236. Juan A. Navas-Cortés, Bernhard Hau, and Rafael M. Jiménez-Díaz , Yield Loss in Chickpeas in Relation to Development of *Fusarium* Wilt Epidemics 2000 p 11.

237. Lumsden, R.D. et J.A. Lewis. 1989. Sélection, production, formulation and commercial use of plant disease, biocontrol fungi : problems and progress. Pages 171- 190 in J.M. Whipps et R.D. Lumsden (eds.), *Biotechnology of fungi for improving plant growth*. Cambridge University Press, Cambridge.
238. Ole Becker, J. et F.J. Schwinn. 1993. Control of soil-borne pathogens with living bacteria and fungi : status and outlook. *Pestic. Sci.* 37 : 355-363
239. **Besnard, O. et P. Davet. 1993.** Mise en évidence de souches de *Trichoderma* spp. à la fois antagonistes de *Pythium ultimum* et stimulatrices de la croissance des plantes. *Agronomie* 13 : 413-421.
240. De Waard C., and Milliams, D. E., "Carbonic Acid Corrosion of Steel", *Corrosion*, 31,5 (1975): p. 177
241. Gerhardson, B. (2002) Biological Substitutes for Pesticides. *Trends in Biotechnology*, 20, 338-343.