



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 بو عريريج B.B.A. El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة Université Mohamed El Bachir

وعلوم الرض والكون

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

قسم العلوم الفالحية

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

Recherche de l'effet antagoniste des *Trichoderma* spp en traitements individuels et associés à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick), agent du flétrissement vasculaire du pois chiche.

Présenté par : BENDIF Hanane et ABBAS Safia.

Devant le jury :

Président : M S ZIOUCHE.....MCA (Université de BBA)

Encadrant : MD. MOUTASSEM.....MCA (Université de BBA)

Examineur : M L LOUCIF MAA (Université de BBA)

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

*Avant tout, nous remercions ALLAH : le tout
miséricordieux, le puissant, pour nous avoir guidé,
protégé, aidé et nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à notre
directeur de notre mémoire, **M Dahou MOUTASSEM.***

*Nous le remercies pour la qualité de son encadrement
exceptionnel , sa rigueur ,sa orientation, et sa disponibilité
durant notre préparation de ce mémoire , Merci pour
tout ce qu'il nous a donné , Nous vous remercions pour
votre confiance, votre patience ,votre aide , et votre
encouragement .*

*Un grand merci à **Nour Elhouda LAGRAA** pour ces
conseils, sa confiance et son aide pratique.*

*Ensuite nous tenons à remercier les membres du jury
Mme .ZIOUCHE Sihem et Mme LOUCIF Lynda pour
avoir pris le temps d'évaluer et de corriger ce mémoire.*

*Nous n'oublierons pas de remercier tous ceux qui nous ont
soutenus et encouragés tout au long de la réalisation de
ce travail.*

Dédicace

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre **mère** : le symbole de la tendresse,
qui donne l'amour, le courage, et la confiance à mon
soi.

A mon très cher **père** : merci pour tu es toujours à
mes côtés pour me soutenir et m'encourager.

A ma précieuse **sœur** : **Sara**.

A mon frère : Abd **erraouf**.

A ma **binôme** : **Hanane**.

A **ma famille**, mes proches et ceux qui me donnent
de l'amour et de la vivacité.

Safia.

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma tendre mère.

Mon très cher père.

A mes sœurs.

A mes frères.

A ma binôme : Safia

Hanane.

Recherche de l'effet antagoniste des *Trichoderma* spp en traitements individuels et associés à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick), agent du flétrissement vasculaire du pois chiche.

Résumé

L'objectif principal de ce travail est l'évaluation *in vitro* et *in vivo* l'efficacité des *Trichoderma* spp en traitements individuels et associés contre *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris* (Foc) agents de flétrissement vasculaire de pois chiche. Les résultats montrent une diversité significative des espèces de *Trichoderma*, dont *T. harzianum* étant la plus fréquente. *In vitro*, les essais ont révélé une activité antagoniste en contact direct et indirect des espèces de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne du Foc, avec une zone d'inhibition variable entre 47.09 et 83.08 % et entre 18.38 et 83.08%, respectivement. L'analyse des filtrats de culture confirme également l'efficacité des *Trichoderma* sp. dans la réduction de la croissance mycélienne de Foc, dénudé une zone d'efficacité variable entre 23.50 et 88.08%. L'analyse de l'effet des associations pour les espèces criblées montre une augmentation de l'efficacité avec des taux variables entre 9.60 et 44.18% pour le test direct 12.13 et 30.45% pour le test indirect ; ainsi que entre 41.45 et 45.12%. Pour les filtrats des cultures fongiques. Toutefois, le traitement *in vivo* par les souches de *Trichoderma* spp a réduit significativement la gravité de la maladie, avec des taux variables entre 52.38% et 92.38 %. Par ailleurs, les valeurs de l'AUDPC ont été significativement diminuées par toutes les associations avec des fréquences de diminution qui varient entre 86.08 et 97.82%, avec *T. harzianum* étant particulièrement efficace. Les traitements combinés ont significativement augmenté l'effet protecteur des plantes contre le Foc comparé avec les traitements individuels. Toutefois, l'application d'un consortium du *Trichoderma* sp constitue une lutte biologique efficace et une meilleure technique par rapport à l'application individuelles.

Mots-clés: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, Pois chiche, *Trichoderma* spp, , Traitements combinés.

Study of antagonistic effect of *Trichoderma* spp in individual and combined treatments against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Padwick), causal agent of chickpea vascular wilt.

Abstract

The primary objective of this study is to evaluate the *in vitro* and *in vivo* efficacy of individual and combined treatments of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Foc), the causal agent of chickpea vascular wilt. The results reveal a significant diversity of *Trichoderma* species, with *T. harzianum* being the most frequent. *In vitro* tests demonstrated the antagonistic activity of *Trichoderma* species against the mycelial growth of Foc, with inhibition zones ranging from 47.09% to 83.08% in direct contact and from 18.38% to 83.08% in indirect contact. Culture filtrate analysis also confirmed the efficacy of *Trichoderma* sp. in reducing Foc mycelial growth, with inhibition zones variable from 23.50% to 88.08%. The study of the effect of combined species showed an increase in efficacy, with inhibition rates ranging from 9.60% to 44.18% for direct tests, 12.13% to 30.45% for indirect tests, and 41.45% to 45.12% for fungal culture filtrates. Moreover, *in vivo* treatment with *Trichoderma* spp. significantly reduced disease severity, with reduction rates ranging from 52.38% to 92.38%. All combinations significantly decreased the AUDPC values with reduction frequencies ranging from 86.08% to 97.82%, with *T. harzianum* being particularly effective. Combined treatments significantly enhanced the protective effect of plants against Foc compared to individual treatments. Therefore, the application of a *Trichoderma* sp. consortium constitutes an effective biocontrol strategy and a superior technique compared to individual applications.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, Chickpeas, *Trichoderma* sp, Combination treatments.

دراسة التأثير العدائي ل *Trichoderma spp* في العلاجات الفردية والمركبة ضد *Fusarium*

oxysporum f.sp. سيسيريس (بادويك) ، عامل مسبب للذبول الوعائي للحمص.

ملخص:

الهدف الأساسي من هذه الدراسة هو تقييم فعالية العلاجات الفردية والمجمعة للمشعرات الجلدية ضد *Fusarium* (*Foc*) *oxysporum f. sp. ciceris*، العامل المسبب للذبول الوعائي للحمص. تكشف النتائج عن تنوع كبير في أنواع *Trichoderma* ، مع *T. harzianum* كونه الأكثر شيوعاً. أظهرت الاختبارات المختبرية النشاط العدائي لأنواع *Trichoderma* ضد نمو الفطريات ل *Foc* ، مع مناطق تثبيط تتراوح من 47.09% إلى 83.08% في اتصال مباشر ومن 18.38% إلى 83.08% في الاتصال غير المباشر. كما أكد تحليل ترشيح الثقافة فعالية *Trichoderma sp.* في الحد من نمو فطريات البؤرة ، مع مناطق تثبيط متغيرة من 23.50% إلى 88.08%. أظهرت دراسة تأثير الأنواع المركبة زيادة في الفعالية ، حيث تراوحت معدلات التثبيط من 9.60% إلى 44.18% للاختبارات المباشرة ، و 12.13% إلى 30.45% للاختبارات غير المباشرة ، و 41.45% إلى 45.12% لمرشحات الاستزراع الفطري. علاوة على ذلك ، في الجسم الحي العلاج ذكاء...

TABLE DES MATIERES

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
1. Introduction.....	1

CHAPITRE I. MATERIEL ET METHODES

1.Matériel utilisé.....	3
1.1. Matériel biologique.....	3
1.2. Matériel végétal.....	3
1.1.1. Matériel fongique.....	3
2.Technique d'échantillonnage.....	3
3. Isolement et purification de <i>Trichoderma</i>	3
3.1. Technique d'isolement	3
3.2. Purification.....	4
4.1. Obtention de la culture monospores.....	4
4.2. Les critères d'identification....	5
4.2.1. Macroscopiques	5
4.2.2. Microscopiques.....	5
5. Tests antagonistes.....	6
5.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture	6
5.2. Confrontation par contact indirect.....	7
5.3. Effet de filtrat de culture de <i>Trichoderma spp.</i> sur la croissance mycélienne du foc.....	7
6. Effet de l'association des <i>Trichoderma sp</i> in vitro.....	8
6.1. Association entre deux espèces de <i>Trichoderma</i> en contact direct.....	8
6.2. Association entre deux et trois espèces de <i>Trichoderma</i> en contact indirect.....	8
6.3/Analyse de l'effet l'association de deux filtrats de la culture de <i>Trichoderma sp</i> ...	
7. Expression des résultats et Analyses statistiques.....	9
4. Test d'antagonisme in vivo.....	10
4.1.Préparation de l'inoculum du (Foc).....	10

4.2. Préparation de l'inoculum de <i>Trichoderma</i>	10
4.3. Traitement des semences par <i>Trichoderma sp</i>	10
4.4.1.Mesure de l'incidence.....	12
4.4.2.Mesure de la sévérité d'attaque.....	12
4.4.3.Calcul de l'indice de Flétrissement(DII).....	12
4.4.4.Calcul de l'AUDPC.....	13
4.4.Analyse statistique	13 9

CHAPITRE II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats.....	13
1.1. Résultats des isollements.....	13
1.2. Pouvoir antagoniste des <i>Trichoderma</i> in vitro.....	14
1.2.1 Test de confrontation direct.....	14
1.2.2. Test de confrontation indirect(à distance).....	16
1.2.3. Effet des filtrats de culture sur la croissance mycélienne du <i>Foc</i>	18
1.2.4. Effet des espèces de <i>Trichoderma</i>	20
1.3. Effet de l'association in vitro.....	21
1.3.1. Effet de l'association en contact direct	21
1.3.2. Effet de l'association en contact indirect.....	22
1.3.3. Effet de l'association entre les filtrats de culture.....	25
1.3.4. Effet de l'association in vivo.....	25
2. Discussion	26
Conclusion	
Références bibliographiques.....	

LISTES DES FIGURES

Figure 1. Figure 01. Schéma récapitulatif de méthode d'isolement des champignons du sol.....	4
Figure 2. Figure 2. Modalités des tests antagonistes ; A- test direct B- test indirect.....	6
Figure 3. Espèce de <i>Trichoderma</i> isolées à partir de la rhizosphère de pois chiche.....	13
Figure 4.L'effet inhibiteur de différents espèces antagonistes <i>Trichoderma</i> sur foc en contact direct.....	14
Figure 5. Effet inhibiteur des espèces de <i>Trichoderma sp</i> sur le Foc en contact direct.....	15
Figure 6. Observations microscopiques des zones de contact entre les espèces de <i>Trichoderma sp</i> et le <i>Foc</i>	16
Figure 7.L'effet inhibiteur de différents espèces antagonistes <i>Trichoderma sp</i> sur <i>Foc</i> n contact direct.....	17
Figure 8. Figure 8. Effet inhibiteur des espèces de <i>Trichoderma sp</i> sur le <i>Foc</i> en contact indirect.....	18
Figure 9. Effet des Filtrats de culture sur la croissance mycélienne du <i>Foc</i>	18
Figure 10. Effet inhibiteur des filtrats de culture de <i>Trichoderma sp</i> sur le <i>Foc</i> . Les valeurs représentes la moyenne de quatre répétitions+l'erreur standard .Les lettres a,b et représentent le niveau de signification au seuil de 5/.....	18
Figure 11. Sévérité de la maladie de flétrissement vasculaire du pios chiche sur les plantules traitées par les différentes espèces de <i>Trichoderma sp</i>	19
Figure 12. Effet des espèces de <i>Trichoderma</i> sur la sévérité de flétrissement vasculaire causé par le Foc dans les condition in vivo.....	19
Figure13. L'effet inhibiteur de différentes associations entre les espèces de <i>Trichoderma sp</i> sur <i>Foc</i> en contact direct.....	21
Figure14. Effet l'association des <i>Trichoderma sp</i> sur la zone d'inhibition de <i>Foc</i>	21
Figure15.L'effet inhibiteur l'association des <i>Trichoderma sp</i> sur le Foc en contact Indirect.....	22
Figure16.Effet de l'association des <i>Trichoderma sp</i> sur la zone d'inhibition de Foc En contact indirect.....	22
Figure17.Effet inhibiteur de l'association des filtras de culture de <i>Trichoderma sp</i> Sur le Foc	23
Figure18.Effet inhibiteur de l'association des filtrats de culture de <i>Trichoderma sp</i> Sur	

le Foc	24
Figure19.Effet de l'association des espèces de <i>Trichoderma</i> sp sur la sévérité de Flétrissement vasculaire causé par le Foc dans les conditions in vivo.....	25
Figure20.Sévérité de la maladie de flétrissement vasculaire du pois chiche sur les Plantules traitées par les associations des espèces de <i>Trichoderma</i> sp.....	25

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01.Traitement individuels et associées des différentes de <i>Trichoderma</i>	10
Tableau 02.Espèces de <i>Trichoderma</i> isolées à partir de <i>Thymus vulgaris</i>	13

INTRODUCTION

La culture du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est largement pratiquée dans le monde pour l'intérêt nutritionnel, médicinal et agro-écologique qu'elle assure (**Moutassem, 2020**). L'importance nutritionnelle est particulièrement liée à la richesse de ses grains en protéines avec des acides aminés essentiels d'origine végétale (**Jukanti et al., 2002**).

Le flétrissement vasculaire causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* Synder et Hansen « Padwick » est considéré comme étant la maladie la plus dévastatrice de la culture du pois chiche (**Reddy et al., 1980**). Depuis 1952, cette maladie a connu une extension rapide et constitue une sérieuse menace pour cette culture.

Les pertes annuelles de rendements provoqués par cette maladie ont été estimées entre 10 à 15% (**Jiménez et al., 2013 ; Jiménez et al., 2015**). Les dégâts dans les conditions qui leur sont favorables peuvent entraîner une destruction totale de la récolte (**Landa et al., 2004**).

La lutte contre ces épidémies nécessite des interventions chimiques le plus souvent sont inefficaces, toxiques et contribuent à l'émergence des souches pathogènes résistantes (**Monfil et Casas-Flores, 2014**).

A l'heure actuelle, une pratique clé pour lutter contre les agents pathogènes des plantes dans l'agriculture durable est la lutte biologique, qui repose sur la gestion des ressources naturelles et de développer des activités antagonistes contre les micro-organismes ce qui en fait une approche efficace et écologique en matière de protection contre diverses maladies (**Huang et al., 2012**).

Le genre *Trichoderma* englobe des agents de contrôle biologiques (BCA) à un pouvoir antagoniste très élevé contre un large éventail phytopathogènes (**Medeiros et coll, 2017**). En effet, *Trichoderma* est un genre de champignons qui a une longue histoire, datant d'au moins 100 millions d'années. À la fin des années 1970, il a commencé à entrer dans le domaine scientifique, attirant progressivement l'attention des chercheurs. Les champignons du genre *Trichoderma* ont une grande variété d'habitats écologiques différents, y compris les sols naturels, le bois en décomposition, les habitats agricoles, les plantes vivantes, les substrats liés aux champignons, le corps humain, les environnements aquatiques, ainsi que l'air et les poussières déposées (**Tyśkiewicz et al., 2022**).

Le genre *Trichoderma* est classé en environ 10 000 espèces selon les caractéristiques morphologiques. Jusqu'à présent, les espèces de *Trichoderma* ont été largement appliquées en agriculture comme agents de biocontrôle de diverses maladies des plantes et en tant que bio-organismes durables pour la promotion de la croissance des plantes, la décomposition naturelle et la bioremédiation (**Tyśkiewicz et al., 2022**).

Malgré leur potentielle efficacité contre de nombreux phytopathogènes, les formulations à base de *Trichoderma* spp. présentent certains inconvénients, tels que leur durée de vie limitée, la

nécessité d'une forte dose pour être efficaces, une faible efficacité contre les agents pathogènes du sol et des semences, ainsi que leur stabilité dans des environnements défavorables (**Keswani et al., 2014**).

Pour la gestion des maladies des plantes, l'application d'un consortium microbien constitué de plusieurs souches efficaces peut être une meilleure technique par rapport à l'application de souches microbiennes individuelles (**Sarma et al., 2015**).

La présente étude vise donc à accroître les effets de la lutte biologique en mettant en évidence quelques espèces indigènes de *Trichoderma* sp. et leur pouvoir fongicide contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, agent causal du flétrissement vasculaire du pois chiche. Ce modèle de lutte biologique repose sur une analyse *in vitro* et *in vivo* de quelques souches de *Trichoderma* sp. contre le Foc, ainsi que sur l'analyse de l'effet des associations de *Trichoderma* dans la lutte contre le Foc dans des conditions *in vitro* et *in vivo*.

CHAPITRE I.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel utilisé

1.1. Matériel biologique

1.1.2. 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 Tiaret, où elle est multipliée chaque saison.

1.1.1. Matériel fongique

Le matériel fongique pathogène est représenté par un isolat de *Fusarium oxysporum* f .sp. *ciceri* (FOC) ; agent responsable du flétrissement vasculaire du pois chiche. Cet isolat est originaire de la région de Mascara (Algérie), isolé à partir des tiges de pois chiche présentant les symptômes de la maladie.

Les isolats de *Trichoderma viride* utilisés dans cette partie ont été obtenus à partir du sol agricole identifié et conservé sur milieu PDA au laboratoire de phytopathologie université de bordj Bou Arreridj.

2. Techniques d'échantillonnage

Le prélèvement des échantillons a été fait dans déférentes régions d'Algérie. De chaque région d'études, 500 g du sol ont été prélevés aseptiquement à la profondeur de 20 cm selon la norme ISO10381-1994 pour les analyses microbiologiques. Chaque échantillon était mis dans des sachets étiquetés, ensuite transportés au laboratoire et conservés à 4 C° en vue de leurs analyses.

3. Isolement et purification de *Trichoderma* sp

3.1. Techniques d'isolement

Les *Trichoderma* spp ont été obtenus, par isolement direct, à partir du sol selon la méthode décrite par Rapilly (1968). Cette technique comprend plusieurs étapes, allant de la préparation des dilutions jusqu'à l'interprétation des résultats. Les échantillons du sol ont été préalablement séchés, broyés et calibrés par tamisage.

La préparation des dilutions consiste, tout d'abord, à préparer la solution mère du sol en ajoutant 1g du sol à 9 ml d'eau distillée stérile suivie d'une agitation pendant 10 min. Cette solution a servi pour préparer des dilutions décimales par l'ajout successif de 1 ml de la solution à 9 ml d'eau distillée stérile jusqu' à l'obtention de la dilution de 10^3 . Au moment de l'analyse, 1 ml de chaque dilution sont versés une fiole d'erlenmeyer contenant 9 ml du milieu d'isolement rose bengal, maintenu en surfusion au bain-marie à 45 C°. L'homogénéisation est réalisée pas

agitation manuelle des boîtes par un mouvement circulaire sur plan horizontal. Les boîtes ont été incubées à 28-30C° pendant six jours (Botton et al., 1990).

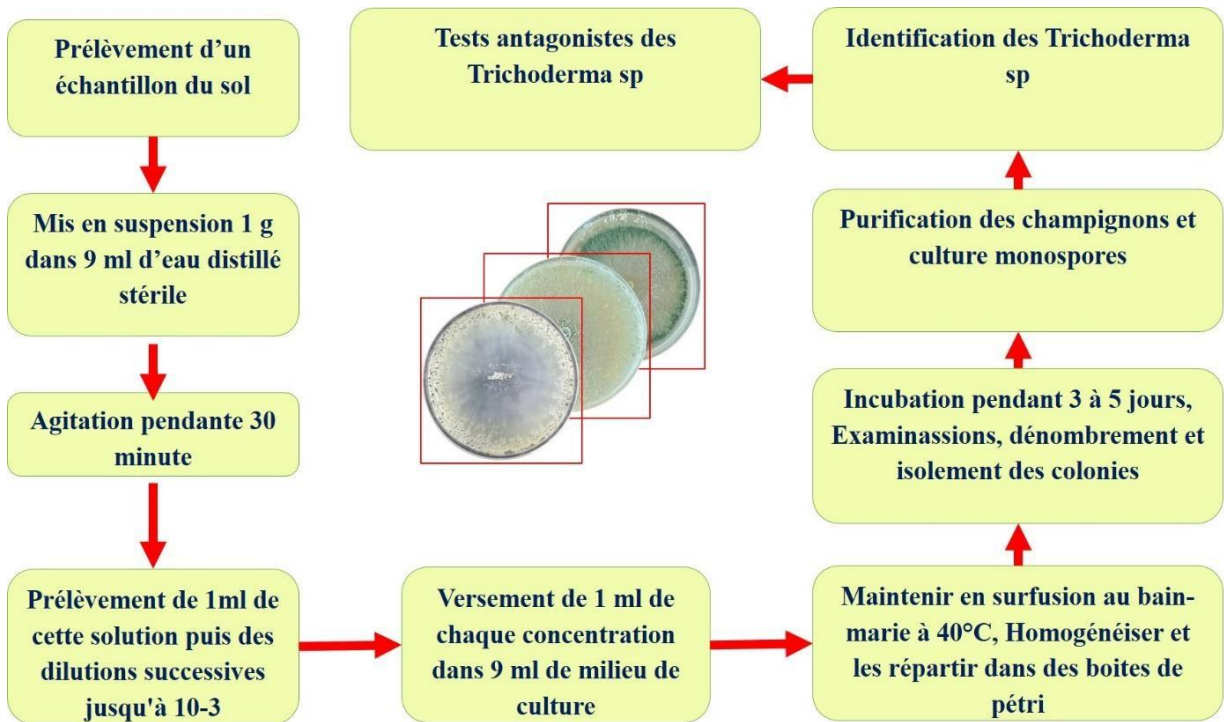


Figure 01. Schéma récapitulatif de méthode d'isolement des champignons du sol.

3.2. Purification

Les microorganismes isolés ont été purifiés par deux ou trois repiquages successifs, monospore ou mono-colonie. Une fois purifié, chaque isolat est désigné par un numéro de code. La conservation des microorganismes ainsi désigné se fait au congélateur à une température de 5C°.

4. Identification des champignons

4.1. Obtention de la culture monospores

Pour étudier la variabilité culturelle et pathogénique des isolats, il est nécessaire de réaliser des cultures monospores. L'obtention des cultures monospores est réalisée selon la méthode décrite par Belabid (2003). Une suspension al est diluée dans l'eau distillée stérile, de façon à obtenir une concentration voisine de 20 spore/ml. Une goutte de suspension contenant

Généralement, 4 gouttes ont été déposées et étalées en stries à la surface du milieu PDA en boîte de Pétri. Après 24 heures d'incubation à l'obscurité et à 25C°, les germinations issues d'une spore unique 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. En revanche si différents types morphologiques apparaissent dans les colonies d'un même isolat, ils sont tous conservés comme tête de clone, étant représentatif d'une morphologie donnée et d'une éventuelle diversité génétique de l'isolat originaire.

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.

4.2. Les critères d'identification

4.2.1. Macroscopiques

L'analyse macroscopique porte essentiellement sur les caractères cultureux, la forme des colonies (arrondie, rayonnante...), l'aspect du mycélium aérien (dense, poudreux...), la couleur de la colonie dépend fréquemment du milieu utilisé, la sporulation, ainsi que le revers de la culture qui donne une idée sur la pigmentation du milieu.

4.2.2. Microscopiques

L'identification des espèces est réalisée par observation des caractères microscopiques sous microscope optique (mycélium. Conidiophores, conidiogenèse, conidies, structures de résistance, éventuellement forme sexuée ...), après une série de repiquages successifs jusqu'à purification du champignon, en utilisant le bleu de coton comme liquide de montage et on se référant à différentes clés de détermination : Gilman (1957) ; Barnett (1960) ; Ellis(1971) ; Ellis (1976) ; Domsch et al, (1980).

5. Tests antagonistes

5.1. Confrontation par contact direct sur milieu de culture

La technique de Benhamou et Chet, (1996) ont été utilisée pour la réalisation de test de confrontation direct. Cette technique consiste à installer dans la même boîte de Pétri contenant un milieu de culture PDA ; deux pastilles gélosées de 5 mm de diamètre, l'une portant l'antagoniste et l'autre le *Foc*. Les deux pastilles ont été placées suivant un axe diamétral à 2.5 cm et à équidistance du centre de la boîte ; les repiquages sont effectués en même temps. L'incubation est réalisée à $25\pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant six jours. Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène seul dans la boîte de pétri qui contient le PDA. Des notations concernant

l'inhibition de la croissance diamétrale des colonies du *Foc* et leur envahissement par le mycélium des espèces fongiques antagonistes sont effectuées chaque deux jour jusqu'à le sixième jour.

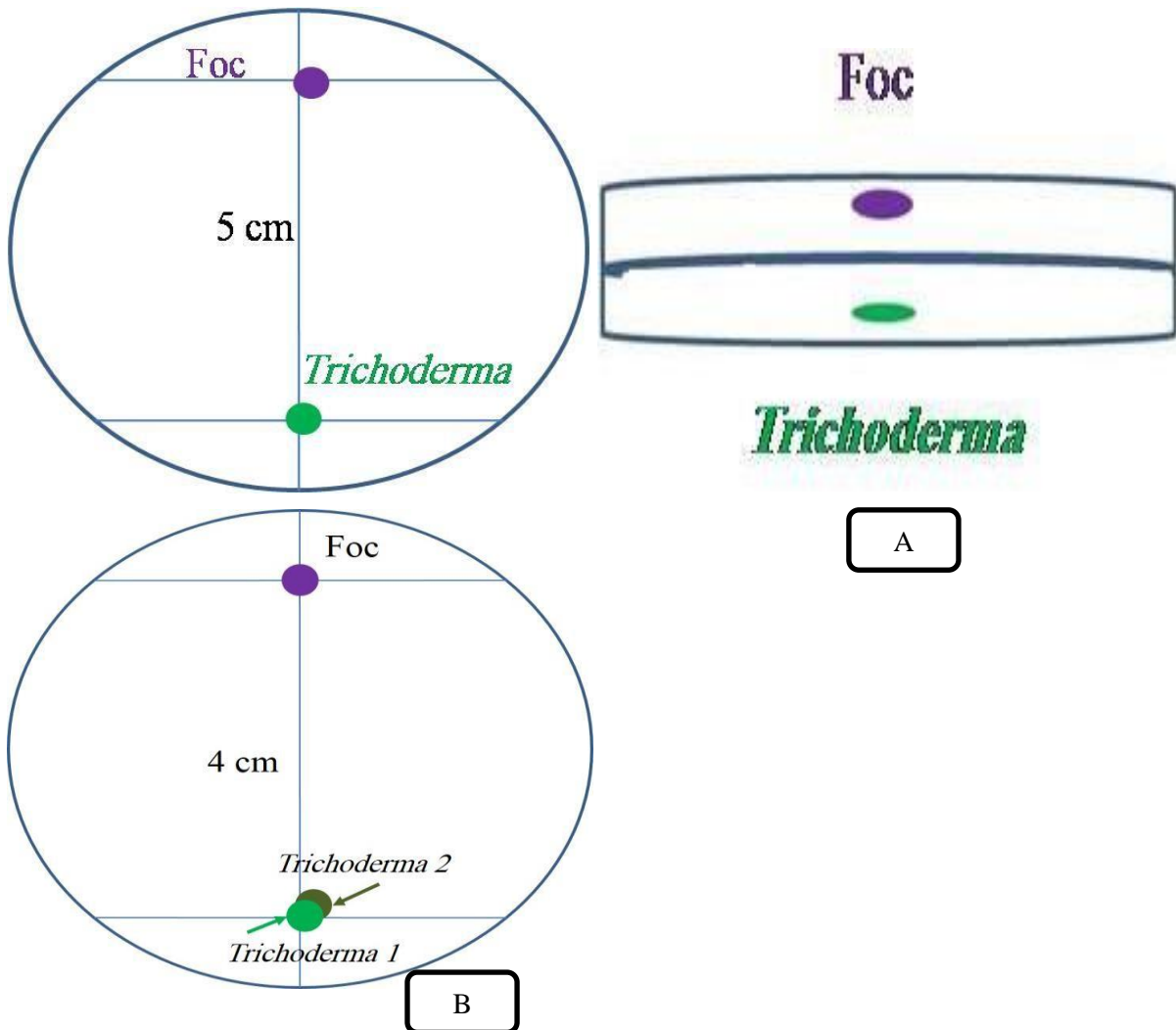


Figure 2. Modalités des tests antagonistes ; A- test direct B- test indirect.

5.2. Confrontation par contact indirect

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, le *Trichoderma* en bas et le *Fusarium* en haut.

La jonction entre les deux boîtes est assurée par des couches de Parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles (Daami-Remadi, El Mahjoub, 2001). Les conditions de culture sont identiques à celles de la confrontation par contact direct sur milieu de culture.

Le témoin est formé par superposition de deux boîtes, celle du haut contenant une pastille de *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA.

5.3. Effet de filtrat de culture de *Trichoderma* spp. sur la croissance mycélienne du Foc

L'effet des filtrats de culture de 12 isolats de *Trichoderma* spp. a été évalué contre le Foc selon la technique de **Dubey et al. (2007)**. Pour réaliser ce test, 10 explants mycéliens de 5 mm de diamètre ont été prélevés à partir des cultures de *Trichoderma* âgées de 7 jours et déposés dans des flacon erlenmayer de 250 ml contenant 100 ml de milieu PDB stérile, puis incubés à 28 °C pendant 15 jours sous agitation continue. Le filtrat de la culture a été d'abord filtré à travers un papier filtre wattman N1 pour éliminer le mycélium et une seconde filtration à travers des membranes Millipore de 0,20 µm de diamètre pour éliminer les spores. Les filtrats ont été conservés à 4°C.

Pour étudier l'effet antifongique des filtrats de culture de *Trichoderma* spp. sur la croissance mycélienne du Foc, un volumes de 15 ml de chaque filtrat a été additionné à 30 ml de PDA Stérile et tiède. Les contrôles ont reçu les mêmes volumes de l'eau distillée stérile. A partir des cultures âgées de 7 jours de Foc, une pastille gélosée de 5 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*. Quatre répétitions indépendantes ont été réalisées pour chaque souche de *Trichoderma* et pour chaque concentration. Le diamètre de la colonie du pathogène est mesuré après une période d'incubation de 6 jours à 25°C et le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne est estimé comme étant la méthode décrite précédemment.

6. Effet de l'association des *Trichoderma* sp *in vitro*

6.1. Association entre deux espèces de *Trichoderma* en contact direct.

Ce test est effectué avec le même principe que le test de confrontation direct avec une légère modification. Cette technique consiste à placer dans la même boîte de Pétri contenant un milieu e culture PDA ; deux ou trois pastilles gélosées mesurant 5 mm de diamètre, l'une portant le *Foc* et l'autre portant *deux ou trois espèce* antagonistes de *Trichoderma* disposées l'un sur l'autre. Les deux pastilles de l'antagoniste et la pastille du Foc ont été placées suivant un axe diamétral à 4 cm et à équidistance du centre de la boîte. Les repiquages sont effectués en même temps.

6.2. Association entre deux et trois espèces de *Trichoderma* en contact indirect.

Ce test est effectué avec le même principe que le test de confrontation indirect avec une légère modification. Cette technique consiste à repiquer deux ou trois l'antagoniste et le pathogène dans deux boîtes séparées ; par la suite, un assemblage est réalisé par superposition

des deux boîtes, le *Trichoderma* en bas et le *Fusarium* en haut. Les deux pastilles de l'antagoniste et la pastille du Foc ont été placées suivant un axe diamétral à 4 cm et à équidistance du centre de la boîte. Les repiquages sont effectués en même temps.

6.3. Analyse de l'effet l'association de deux filtrats de la culture de *Trichoderma* sp

Cette technique consiste à l'amendement de milieu de culture PDA tiède avec un mélange des filtrats de la culture de deux espèces de *Trichoderma* sp. selon les proportions (50/50). Pour étudier l'effet antifongique des filtrats de culture de *Trichoderma* sp sur la croissance mycélienne du Foc, des volumes de mélange selon les concentrations C1 (15mL), C2 (10 mL) et C3 (5 mL) ont été additionnés à 30 ml de PDA Stérile et tiède.

Une pastille gélosée de 5 mm de diamètre a été prélevée à partir des cultures âgées de 7 jours de Foc, disposée au centre des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA traité avec le mélange des Filtrats de culture de *Trichoderma* sp. Cinq répétitions indépendantes ont été accomplies pour chaque filtrat. Le diamètre de la colonie du pathogène est mesuré après une période d'incubation de 6 jours à 25°C et le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne est estimé comme étant la méthode décrite précédemment.

7. Expression des résultats et Analyses statistiques

La notation du diamètre moyen des colonies traitées est réalisée lorsque les filaments mycéliens atteignent 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)

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

Où :

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.

Les résultats obtenus ont été traités par deux analyses indépendantes à l'aide de logiciel SPSS (2008). Trois 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 des moyennes par le test de Newman et Keuls à 5 et 1%.

4. Test d'antagonisme *In vivo*

4.1. Préparation de l'inoculum du (*Foc*)

Selon la méthode de Trapero-Casas et Jiménez-Díaz (1985), dans des sacs de 3kg en de plastiques contenant du sable tamisé et ajouté la de la farine de maïs humidifié par l'eau distillée, selon la proportion de 9/1/2 respectivement. Le mélange est stérilisé à l'autoclave pendant 20min à 120°C, puisensemencée par 20 explants de 5 mm de diamètre prélevé à partir de culture de FOC âgées de 15 jours, l'incubation est réalisée pendant 21 jours. Une agitation des sacs tous les 3jours est effectuée afin de permettre une colonisation homogène du milieu par le champignon. L'inoculum ainsi obtenu et incorporé dans des pots contenant le substrat de culture stérilisé à raison de 100g d'inoculum pour 1kg de substrat, ce dernier est composé d'un mélange de sable, terre et terreau selon les proportion respectivement de 1/1/1. Le semis est réalisé 15 jours après l'incorporation de l'inoculum au substrat, afin de permettre une meilleure colonisation par le champignon.

4.2. Préparation de l'inoculum de *Trichoderma*

Les trois isolats de *Trichoderma spp* ont été cultivés dans des erlenmeyers contenant chacune 200 ml de bouillon de pommes de terre dextrose (PDB) pendant une semaine à 25°C et bien mélangé avec le milieu en utilisant un agitateur magnétique. Après filtration, la suspension de spores a été ajustée à 5×10^8 spores / ml (Calvet et al., 1990).

4.3. Traitement des semences par *Trichoderma sp*

L'enrobage des semences par les trois espèces de *Trichoderma* a été effectué selon la méthode proposée par Akladiou et al, (2012). Les semences du pois chiche d'une variété sensible et résistante ont été stérilisées en surface par immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium (5%) trois fois successives pendant 3 min, lavés trois fois avec de l'eau distillée stérile et séchées entre deux papiers filtres stériles.

Cinq graines de chaque variété testée ont été immergées dans 5 ml de la suspension sporale de *Trichoderma* pendant 30 min.

Les semences traitées ont été semées dans des pots à la base de trois grains par pot contenant le sol infesté par le *Foc*. Les semences non traitées, recouvertes seulement avec de l'eau, servis comme témoin.

Tableau 01. Traitements individuels et associées des différentes espèces de *Trichoderma* spp.

N	Code	Taritement individuels et associés
1	/	<i>T. polysporum</i>
2	/	<i>T. longibraciatum1</i>
3	//	<i>T. longibraciatum 2</i>
4	/	<i>T. harzianum1</i>
5	/	<i>T. viride1</i>
6	/	<i>T.asperalum</i>
7	/	<i>T. longibraciatum</i>
8	/	<i>T. viride</i>
9	/	<i>T. harzianum</i>
10	/	<i>T. virens1</i>
11	/	<i>T. virens</i>
12	/	<i>T. harzianum2</i>
13	ASO1	<i>T. viride/T.asperalum</i>
14	ASO2	<i>T. viride/T. longibraciatum</i>
15	ASO3	<i>T. polysporum/T. longibraciatum</i>
16	ASO4	<i>T. viride/T. polysporum</i>
17	ASO5	<i>T. polysporum/T.asperalum</i>
18	ASO6	<i>T.asperalum /T. longibraciatum/T. viride</i>
19	ASO7	<i>T. polysporum/T. longibraciatum/ T. viride</i>
20	ASO8	<i>T. polysporum/.T. longibraciatum/T.asperalum</i>
21	ASO9	<i>T. viride/T. longibraciatum /T.asperalum</i>
22	ASO10	<i>T.asperalum/T. longibraciatum./T. viride</i>

4.4. Exploitation des résultats et analyses statistiques

Les estimations sont fondées sur l'observation des symptômes et la notation de l'incidence (I) et de la sévérité (S) de la maladie. Lors de chaque visite, l'incidence et la gravité de la maladie ont été évaluées selon les méthodes de (Trapero-Casas, 1983).

4.4.1. Mesure de l'Incidence

L'incidence est le pourcentage des plantes malades. Il nous donne une idée sur l'état de la population de pois chiche vis-à-vis de l'agent pathogène.

L'incidence est le moyen le plus rapide pour la mesure de la maladie ; il nécessite seulement le comptage du nombre d'unités malades qui peut être exprimé par un pourcentage du nombre total d'unités.

4.4.2. 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. 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.

Pour estimer la gravité de la maladie, l'indice moyen de gravité (*ISM*) a été calculé pour chaque parcelle.

$$ISM = \frac{\sum n_j \cdot x_i}{\sum n_j}$$

Où n_j est le nombre de plantes caractérisées par l'indice, i_j est l'indice de gravité de la maladie attribué aux plantes.

4.4.3. 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

$$DII = S \text{ ou } (ISM) \times I / 4$$

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

La région sous la courbe du progrès de la maladie (*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). L'AUDPC est calculé en utilisant la formule suivante :

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

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 = temps (jours) après l'inoculation à l'observation i , et n = le nombre total d'observations. La somme de régions individuelles trapézoïdes, ou régions de i à $n-1$. i et $i + 1$ représente des observations de 1 à n .

Les mesures des caractéristiques épidémiologiques (**I**, **S**, **DII**,) sont soumises à des analyses de variance, chaque variété étant représentée par trois répétitions pour un seul variable (variété) et deux variables (variété climat).

4.4.5. Analyse statistique

Trois 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 des moyennes par le test de Newman et Keuls à 5 et 1%. L'analyse statistique a été faite avec une procédure générale des modèles linéaires avec STATISTICA 8.

CHAPITRE II.
RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1.1. Résultats des isollements

Cette étude porte sur l'isolement, l'identification et l'effet antagoniste des *Trichoderma* isolés à partir de la rhizosphère de pois chiche. Les échantillonnages utilisés pour cet objectif sont prélevés à partir de la wilaya de Mascara. La plus grande trame des genres fongiques identifiés lors des isollements effectués est groupée au sein des champignons mitosporiques, et dont la plupart des taxons appartiennent au Phylum des Ascomycota ; *Penicillium*, *Aspergillus* et *Trichoderma*.

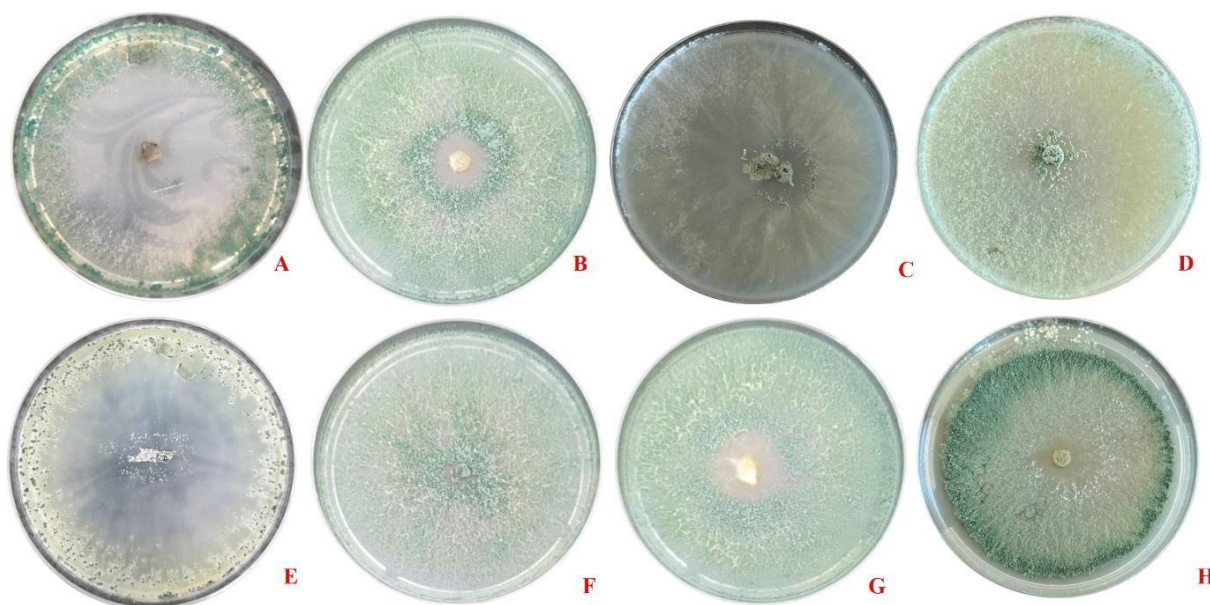


Figure 3. Espèces de *Trichoderma* isolées à partir de la rhizosphère de pois chiche.

Tableau 2. Espèces de *Trichoderma* isolées à partir de la rhizosphère de pois chiche.

	Espèces	Nombre	Pourcentage
1	<i>T. harzianum</i>	10	33.33
2	<i>T. asperalum</i>	4	13.33
3	<i>T. longibraciatum</i>	8	26.66
4	<i>T. atroviride</i>	2	6.66
5	<i>T. viride</i>	4	13.33
6	<i>T. polysporum</i>	1	3.33
7	<i>T. virens</i>	1	3.33

L'analyse des données affichées sur le tableau 2 montre l'isolement de sept différentes espèces, dont *T. harzianum* est l'espèce dominante avec une fréquence d'isolement de 33.33 %. Par contre, *T. virens* est la plus faiblement isolée avec une fréquence de 3.33 %

1.2. Pouvoir antagoniste des *Trichoderma in vitro*

1.2.1. Test de confrontation direct

L'ensemble des espèces antagonistes *Trichoderma sp* ont été testées afin de mettre en évidence leur activité antifongique vis-à-vis le Foc (Figure 4). La comparaison de l'efficacité des espèces de *Trichoderma sp* ont montré une réduction significative de la croissance mycélienne du Foc qui varie avec l'espèce fongique utilisée.

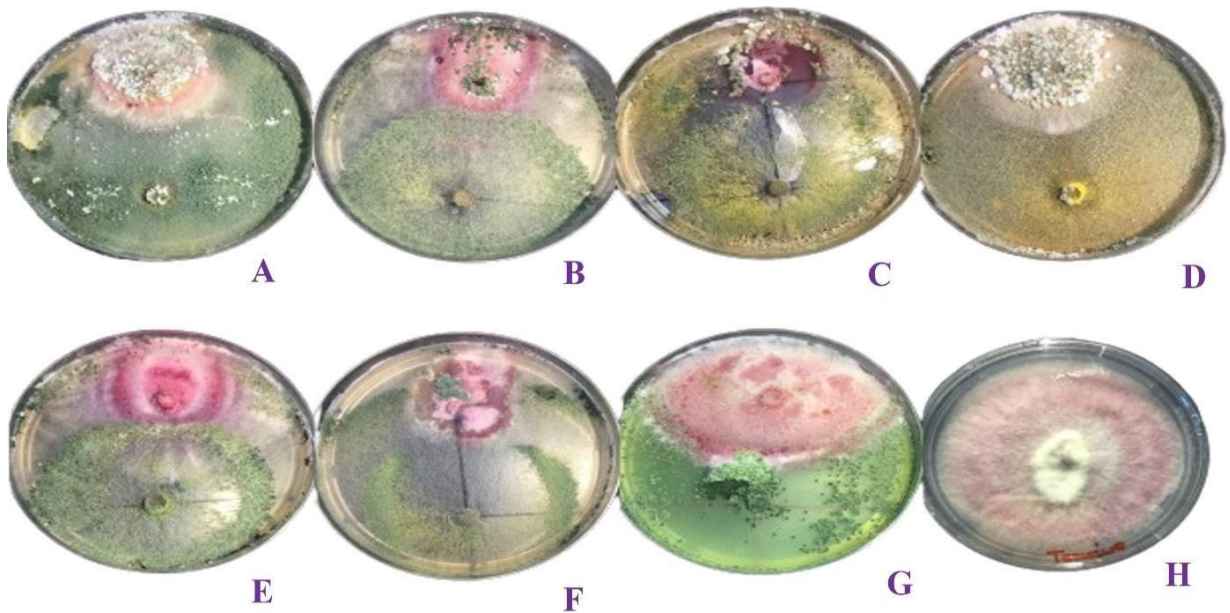


Figure 4. L'effet inhibiteur de différents espèces antagonistes *Trichoderma sp* sur Foc en contact direct. (A) *T. harzianum* (B) *T. polysporum* (C) *T. atroviride* (D) *T. longibraciatum* (E) *T. viride* (F) *T. harzianum* (G) *T. asperalum* (H) Foc.

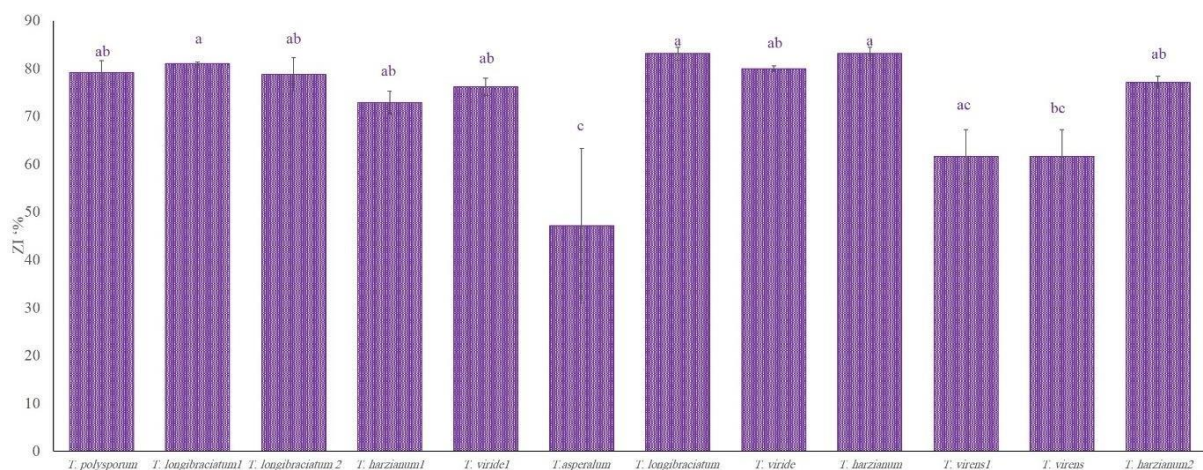


Figure 5. Effet inhibiteur des espèces de *Trichoderma sp* sur le Foc en contact direct. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

A cet effet, l'ANOVA a montré que l'espèce ($F=2.66$; $P=0.007$) a un effet hautement significatif sur la zone d'inhibition de la croissance mycélienne. A cet égard, les isolats de *T. longibraciatum*, *T. harzianum* et *T. viride* sont les espèces les plus efficaces avec des zones d'inhibition de l'ordre de 83.08, 83.08 et 79.95%, respectivement. Par contre, les espèces *T. asperalum*, *T. virens1* et *T. virens* constituent les espèces faiblement efficaces avec des zones d'inhibition de 61.58, 61,58 et 47.09, respectivement (Figure 05).

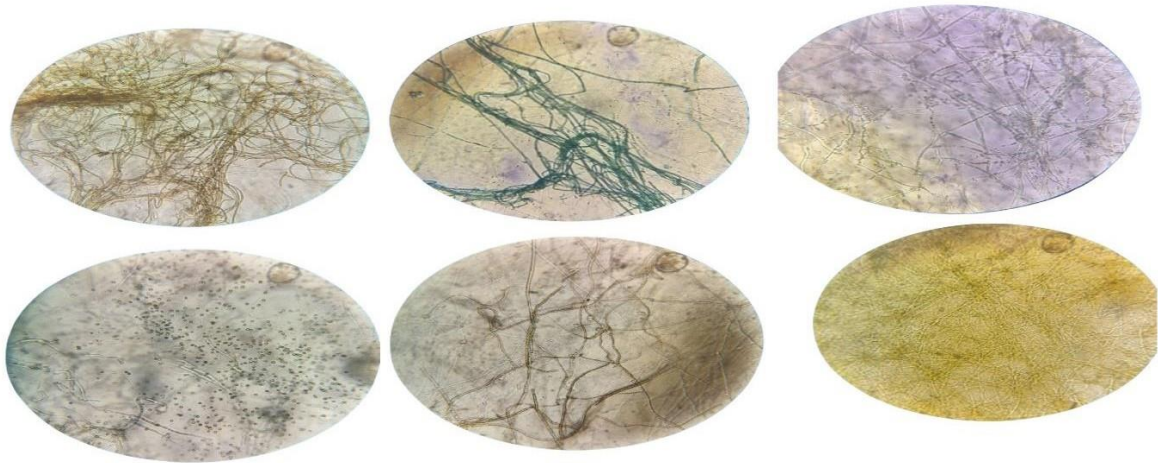


Figure 6. Observations microscopiques des zones de contact entre les espèces de *Trichoderma* sp et le Foc

Des observations microscopiques réalisées au niveau de la zone de contact entre les deux protagonistes, montrent une modification au niveau du mycélium, 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 (Figure 6).

1.2.2. Test de confrontation indirecte (à distance)

L'action antagoniste des *Trichoderma* sp a été vérifiée *in vitro* vis-à-vis le Foc par le test de confrontation indirecte (Figure 7). Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur même à distance de différentes souches testées.

Les analyses ANOVA exposent un effet hautement significatif de l'espèce fongique ($F=2.66$; $P=0.007$) sur la zone d'inhibition du Foc. En effet, les données obtenues montrent des taux d'inhibition variables en fonction l'espèce fongique. A cet égard, les espèces *T. harzianum*, *T. longibraciatum* 2 et *T. harzianum*2 sont les plus efficaces avec des taux d'inhibition de l'ordre de 83.08, 68.91 et 65.03%, respectivement. En revanche, les espèces *T. virens1* et *T. viride1* sont les faiblement efficace avec des taux d'inhibition de 23.54 et 18.38% (Figure 8).

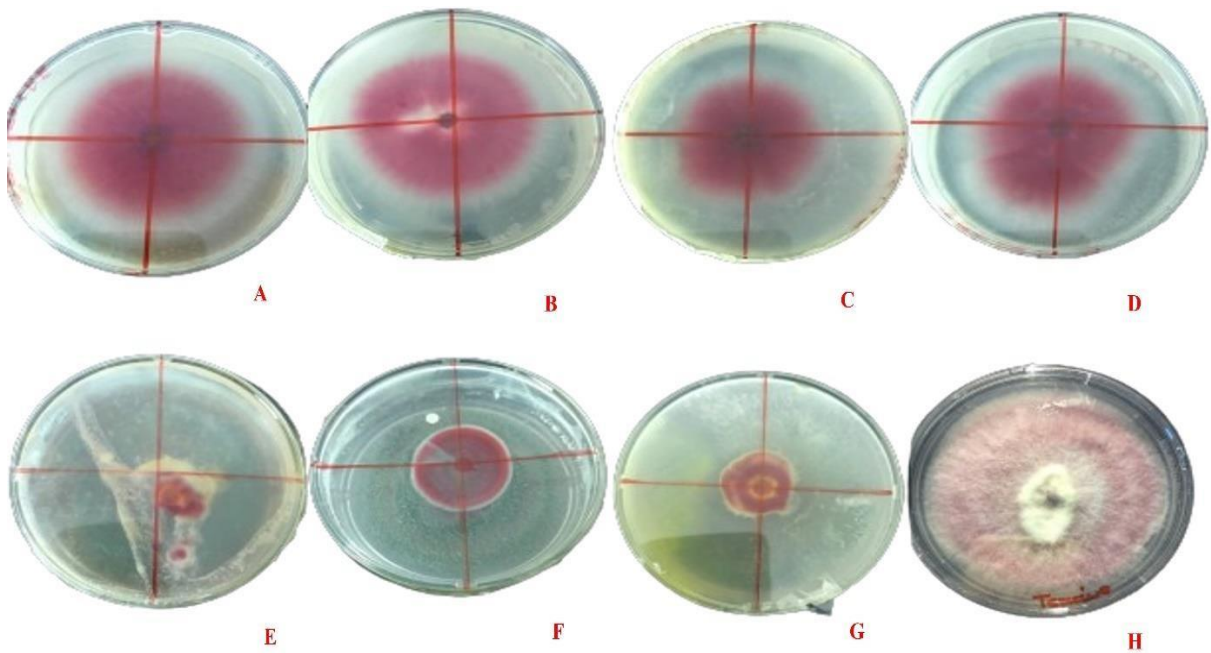


Figure 7. L’effet inhibiteur de différents espèces antagonistes *Trichoderma sp* sur Foc en contact indirect. (A) *T. harzianum* (B) *T. polysporum* (C) *T. atroviride* (D) *T. longibraciatum* (E) *T. viride* (F) *T. harzianum* (G) *T.asperalum* (H) Foc.

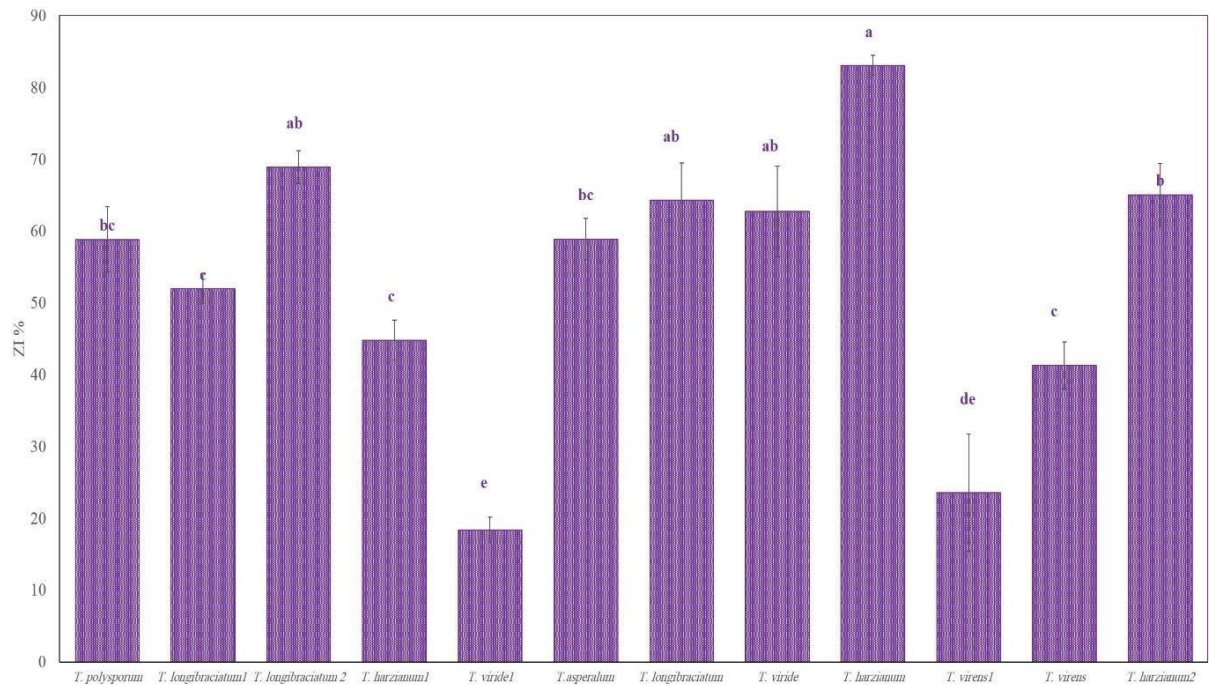


Figure 8. Effet inhibiteur des espèces de *Trichoderma sp* sur le Foc en contact indirect. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions±l’erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

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

L'analyse de la variance ANOVA a montré un effet très hautement significatif ($p < 0.00001$) de l'espèce fongique 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 9).

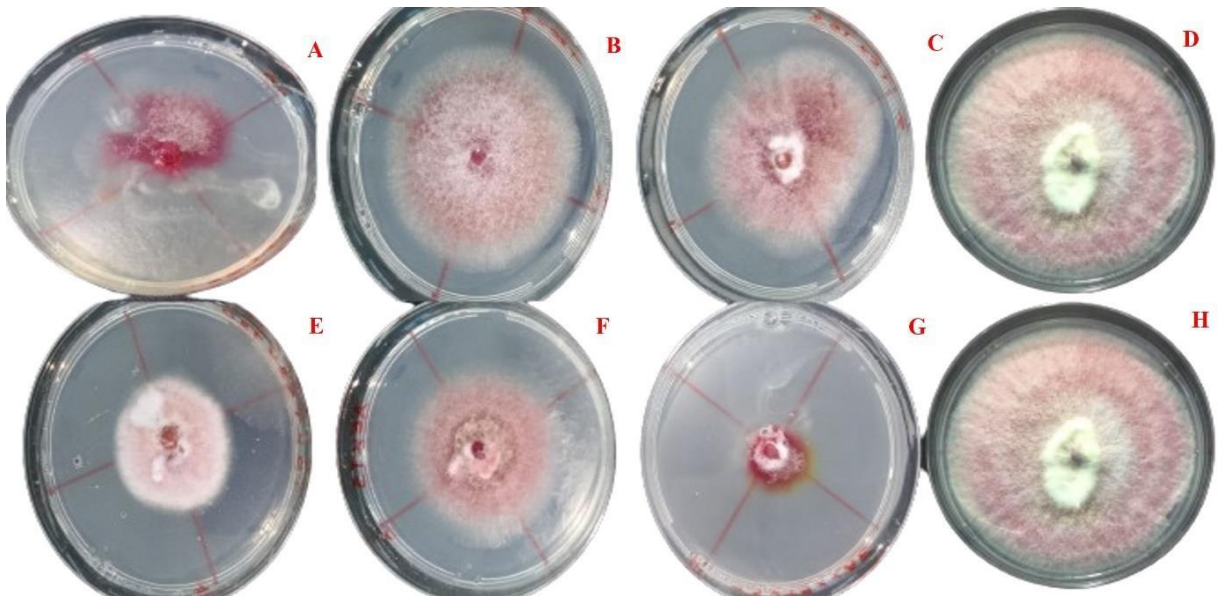


Figure 9. Effet des Filtrats de culture sur la croissance mycélienne du Foc

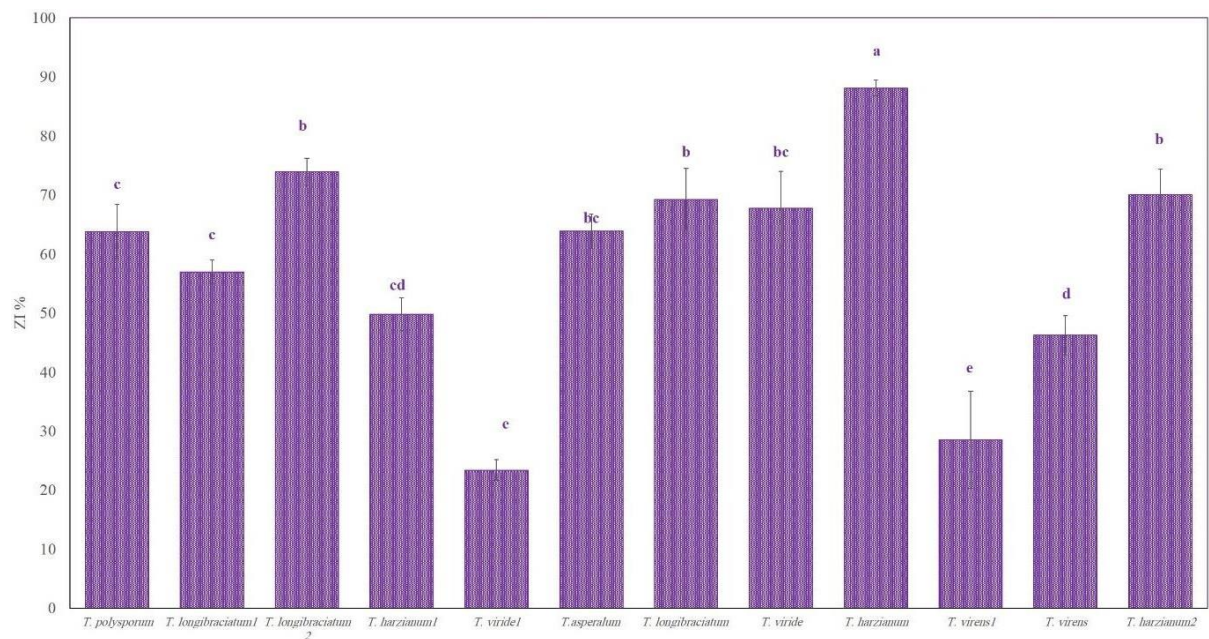


Figure 10. Effet inhibiteur des filtrats de culture de *Trichoderma sp* sur le Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

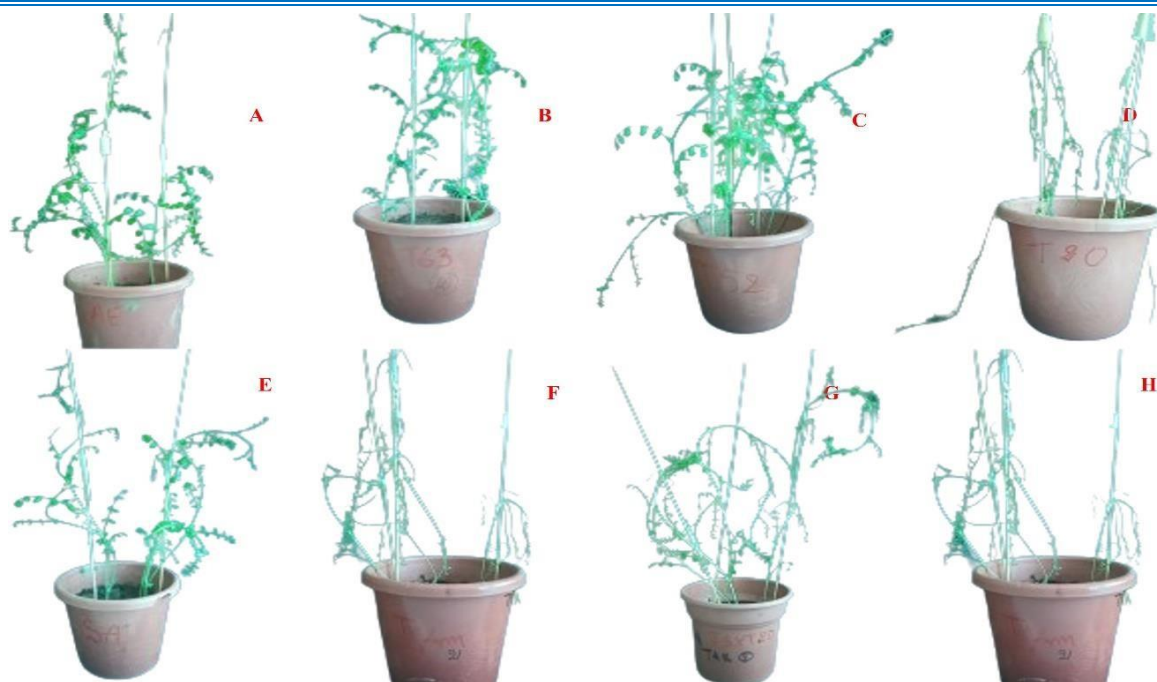


Figure 11. Sévérité de la maladie de flétrissement vasculaire du pois chiche sur les plantules traitées par les différentes espèces de *Trichoderma* sp.

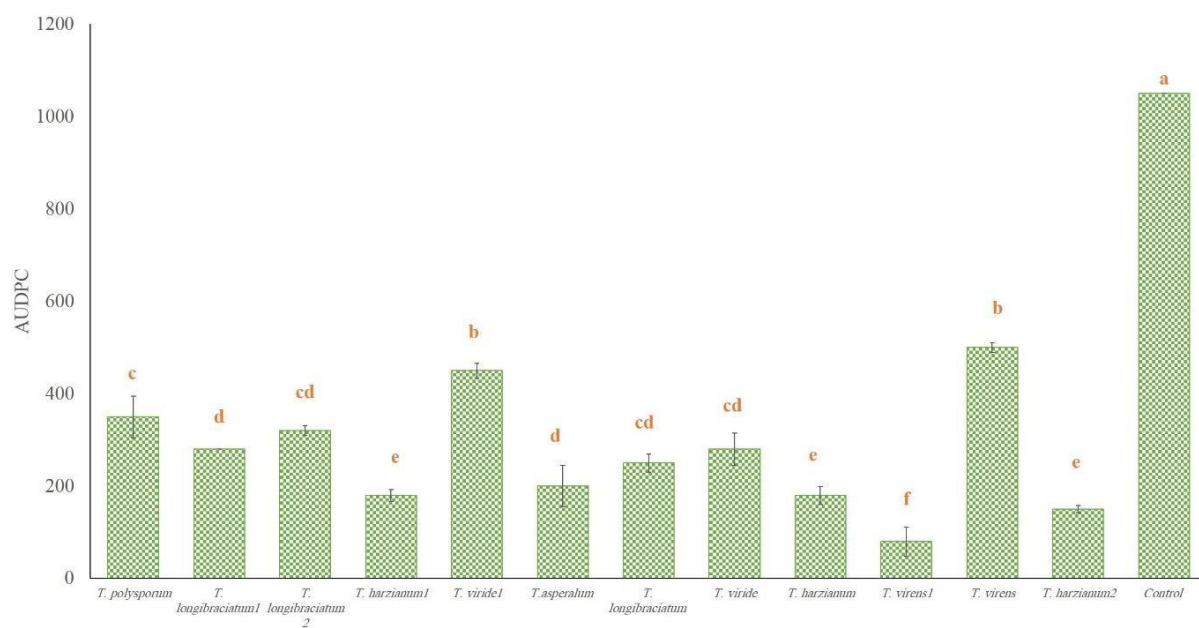


Figure 12. Effet des espèces de *Trichoderma* sur la sévérité de flétrissement vasculaire causé par le Foc dans les conditions *in vivo*. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

La lecture de donnée indique des zones d'inhibition très variables en fonction l'espèce de *Trichoderma sp* ($F=19.2$, $P=0,0000*$). A cet effet, l'espèce *T. harzianum* a dénudé la zone d'efficacité la plus élevée avec environ 88.08% d'inhibition, contrairement à l'espèce *T. viride* qui a enregistré la valeur d'efficacité la plus faible avec environ 23.50% de la zone d'inhibition (Figure 10).

1.2.4. Effet des espèces de *Trichoderma sp in vivo*

Le traitement du sol par les différentes souches de *Trichoderma sp* a exposé effectivement une efficacité très intéressante contre le Foc *in vivo*. 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 ($F = 13.57$; $P =0.00013$) sur la variation de la valeur de l'AUDPC (Figure 11).

La lecture des données affichées sur la figure montre 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 entre 80 et 500 expliquent une réduction de la maladie variable entre 52.38% et 92.38 %. Dans ce cadre, *T. harzianum* est la plus efficace et *T. virens* est la faiblement efficace (Figure 12).

1.3. Effet de l'association *in vitro*

1.3.1. Effet de l'association en contact direct

L'analyse de l'effet de l'association entre les différentes espèces de *Trichoderma* a montré une augmentation significative de la zone d'inhibition en comparaison avec l'effet individuel (Figure 13). A cet effet, l'ANOVA a montré que l'association ($F=2.66$; $P=0.007$) a un effet hautement significatif sur la zone d'inhibition de la croissance mycélienne. L'analyse des données affichées sur la figure expose des zones d'inhibition variables entre 83.08 et 91.82% devient 71.82% exposent par conséquent une augmentation variables entre 9.60 et 44.18%. Dans ce cadre, l'association 05 est la plus efficace. En revanche, l'association 08 est la faiblement efficace (Figure 14).

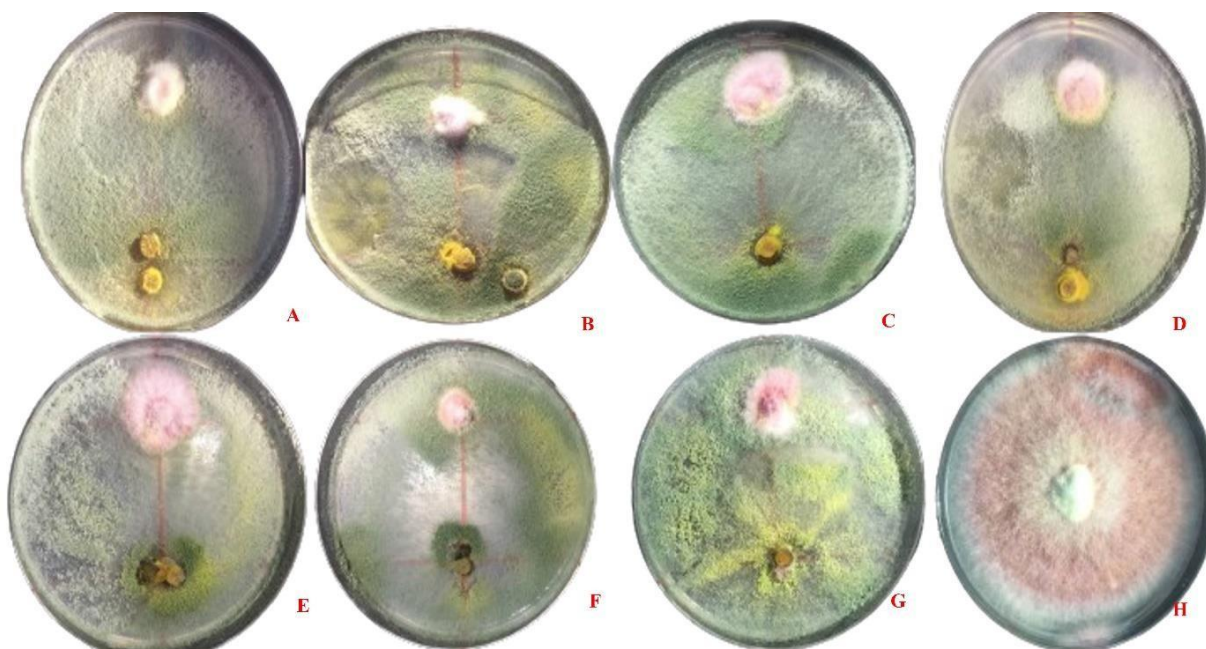


Figure 13. L'effet inhibiteur de différentes associations entre les espèces de *Trichoderma sp* sur Foc en contact direct.

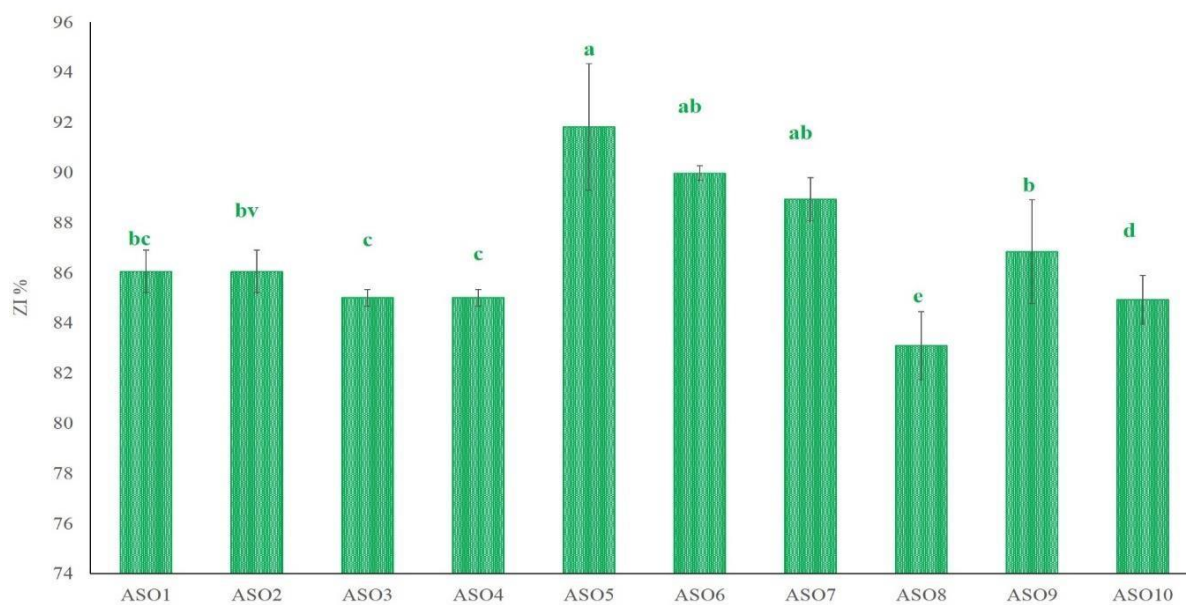


Figure 14. Effet de l'association des *Trichoderma sp* sur la zone d'inhibition de Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

1.3.2. Effet de l'association en contact indirect

L'analyse de l'effet de l'association à distance entre les différentes espèces de *Trichoderma* a montré un accroissement significatif de la zone d'inhibition en comparaison avec l'effet individuel (Figure 15). A cet effet, l'ANOVA a montré que l'association ($F=2.66$; $P=0.007$) a un effet hautement significatif sur la zone d'inhibition de la croissance mycélienne.

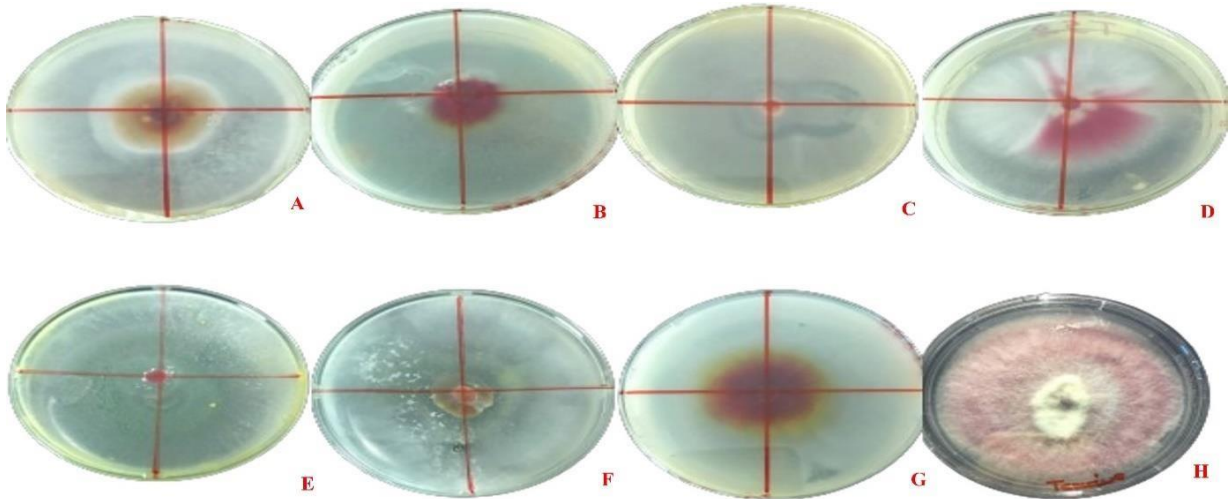


Figure 15. L'effet inhibiteur l'association des *Trichoderma* sp sur le Foc en contact indirect.

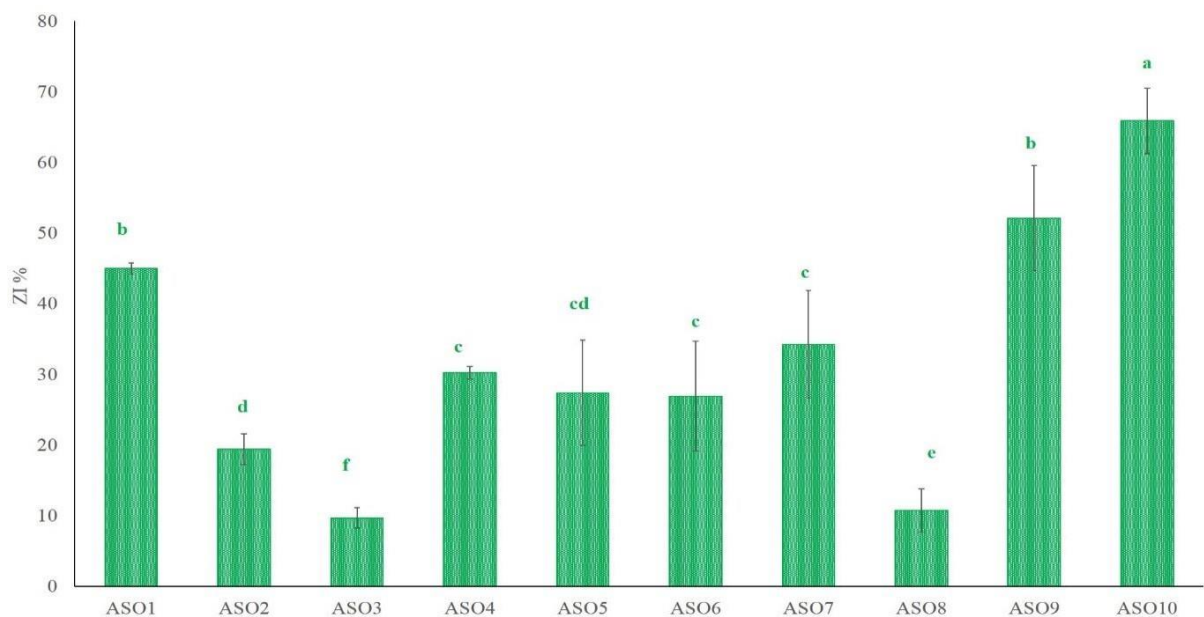


Figure 16. Effet de l'association des *Trichoderma* sp sur la zone d'inhibition de Foc en contact indirect. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

L'analyse des résultats obtenus (figure) expose des zones d'inhibition variables entre 09.06 et 65.85% exposent par conséquent une augmentation variable entre 12.13 et 30.45%. Dans ce cadre, l'association *T.asperalum/T. longibraciatum./T. viride* est la plus efficace. Par

contre, l'association *T. polysporum*/*T. longibraciatum*/*T. asperalum* est la faiblement efficace (Figure 16).

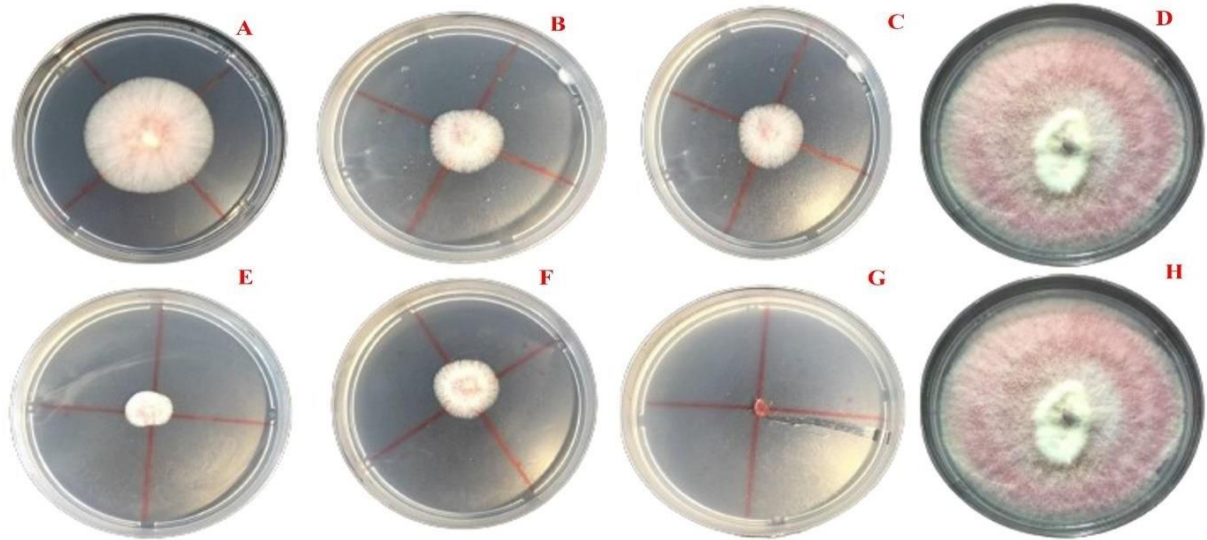


Figure 17. Effet inhibiteur de l'association des filtrats de culture de *Trichoderma* sp sur le Foc.

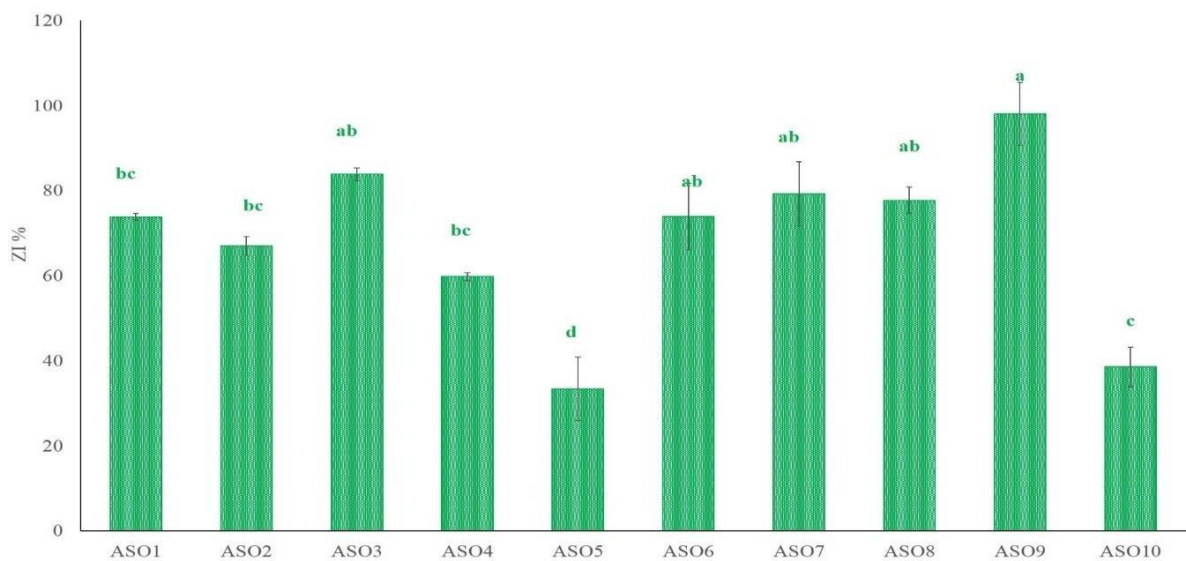


Figure 18. Effet inhibiteur de l'association des filtrats de culture de *Trichoderma* sp sur le Foc. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.

1.3.3. Effet de l'association entre les filtrats de culture.

L'ANOVA a montré le traitement ($F=112.29$, $P=0.0000$), a un effet hautement significatif sur la zone d'inhibition (Figure 17). Les traitements associés des filtrats de culture des différentes espèces de *Trichoderma* sp exposent également l'augmentation de l'efficacité en comparaison avec les traitements individuels. Dans ce cadre, l'association *T. viride*/*T.*

longibraciatum /*T.asperalum* et l'association *T. polysporum*/*T. longibraciatum* sont les plus efficace avec des taux d'inhibition environ 98.08 et 83.91%, respectivement (Figure 18).

1.3.4. Effet de l'association *in vivo*

L'étude de l'effet de l'association *in vivo* des *Trichoderma* sp dévoile une augmentation de l'efficacité dans la diminution de la gravité de la maladie en comparaison avec les traitements individuels. Les symptômes de la maladie ont été observés pendant la quatrième semaine après le semis pour tous les traitements (Figure 19). En outre, les symptômes ont été observés 33 jours après le semis dans le traitement et 31 jours après le semis dans le traitement.

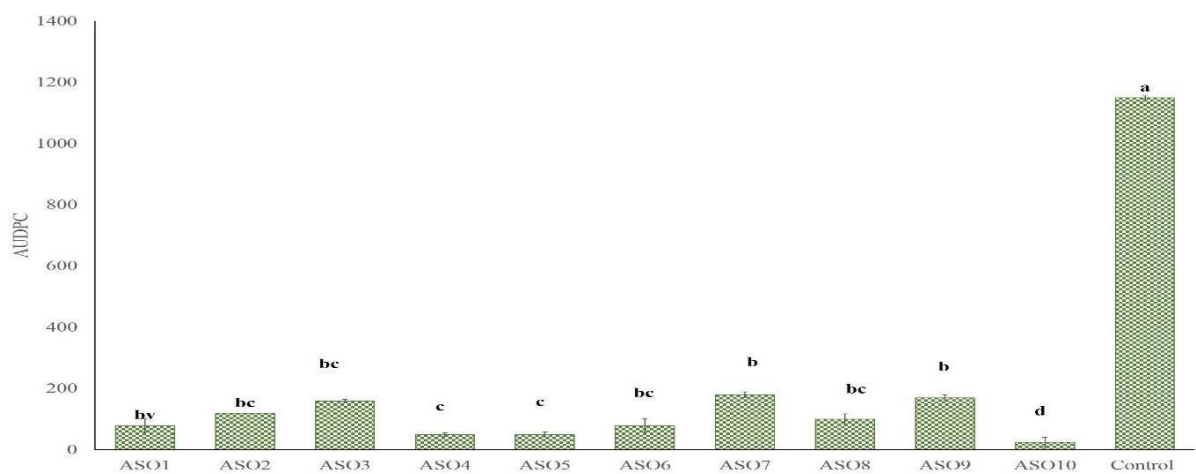


Figure 19. Effet de l'association des espèces de *Trichoderma* sp sur la sévérité de flétrissement vasculaire causé par le Foc dans les conditions *in vivo*. Les valeurs représentent la moyenne de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seuil de 5%.



Figure 20. Sévérité de la maladie de flétrissement vasculaire du pois chiche sur les plantules traitées par les associations des espèces de *Trichoderma* sp.

L'analyse ANOVA montre un effet hautement significatif du traitement sur la valeur de l'AUDPC ($F=4330$; $P=0,00^*$). Dans ce cadre, les valeurs de l'AUDPC sont variables entre 25

et 180 expriment une diminution de sévérité de la maladie variable entre 86.08 et 97.82%. Tous les traitements associés ont élucidé une action synergétique positif contre le Foc *in vivo* (Figure 20).

2. Discussion

Les phytopathogènes fongiques représentent des menaces biotiques graves, provoquant des pertes de rendement significatives dans l'agriculture et posant un risque majeur pour la sécurité alimentaire. Ils affectent des cultures essentielles telles que le blé, le riz, les haricots, le maïs et le pois chiche (Almeida *et al.*, 2019; Moutassem, 2020 ; Larran *et al.*, 2023). Les principales cultures mondiales, y compris le pois chiche, sont continuellement menacées par des maladies des plantes, comme le souligne l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) des Nations Unies (Almeida *et al.*, 2019), ce qui met en danger la subsistance alimentaire. Les récents progrès en productivité agricole ont été largement stimulés par l'utilisation intensive de fongicides, d'herbicides et d'engrais inorganiques pour satisfaire la demande alimentaire croissante (Asghar *et al.*, 2024).

La culture du pois chiche est l'une des légumineuses alimentaires les plus importantes pour la population mondiale, en raison de sa valeur nutritive riche en protéines végétales et de sa capacité agronomique à fixer l'azote biologique. Cette culture est cependant affectée par plusieurs maladies qui réduisent le rendement et la qualité des semences, entraînant ainsi des pertes significatives. Parmi ces maladies, le flétrissement vasculaire du pois chiche, causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, est l'un des problèmes les plus coûteux à l'échelle mondiale.

Actuellement, le contrôle des agents phytopathogènes, y compris *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Foc), repose principalement sur des produits chimiques de synthèse. Toutefois, en raison de la grande diversité génétique et de l'adaptabilité de ces pathogènes, des résistances ont émergé contre la plupart des fongicides utilisés (Shao *et al.*, 2021). Cela a poussé la communauté scientifique à explorer des méthodes de contrôle alternatives, telles que la lutte biologique avec l'utilisation d'agents antagonistes, notamment les espèces du genre *Trichoderma* (Nicot *et al.*, 2011). Les espèces de *Trichoderma* sont reconnues pour leur capacité à améliorer la qualité du sol, à renforcer la tolérance des plantes au stress hydrique, à favoriser la croissance des plantes et à agir comme agents de biocontrôle contre diverses maladies des plantes (Asghar *et al.*, 2024; Quazi *et al.*, 2024; Jiménez-Bremont *et al.*, 2024). C'est dans cette perspective que s'inscrivent les objectifs de cette étude

La présente étude, examine le contrôle biologique de flétrissement vasculaire du pois chiche via quelques espèces de *Trichoderma* avec des traitements individuels et associés. Ces travaux ont été exécutés en deux fraction ; l'analyse de l'effet individuel et associée *in vitro* et

in vivo. En premier lieu, cette étude a permis de mettre en évidence l'existence d'une biodiversité importante au sein de la population de *Trichoderma* spp. En effet, au niveau des échantillons de sol exploités, la biodiversité s'avère variée aux plans qualitatif et quantitatif.

Les résultats obtenus sur l'effet antifongique des isolats du *Trichoderma sp in vitro* ont révélé une activité inhibitrice significative sur la croissance mycélienne du Foc avec des fréquences d'inhibition qui varient entre 10 et 80% en fonction l'espèce fongique, le temps d'exposition ainsi que le mode d'application.

Les traitements individus et associés montrent une compétitivité éventuelle des espèces de *Trichoderma sp* envers le Foc. Les espèces de *Trichoderma sp* inhibent la croissance et la reproduction des phyto pathogènes principalement par compétition, hyperparasitisme et antibiose.

Ces dernières années, *Trichoderma* spp est de plus en plus utilisée dans la lutte contre les maladies des plantes transmises par le sol, en particulier des fusarioses vasculaires des plantes, en raison de ses activités natives de biocontrôle par plusieurs mécanismes (**Contreras-Cornejo et al., 2016 ; Gava et coll., 2016 ; Jogaiah et al., 2017 ; Singh et al., 2022 ; Sa-daña-Mendoza et al., 2023 ; Adnani et al., 2024**).

La compétition est le processus qui se produit lorsqu'un organisme confronte une déficience de nutriments et d'espace vital. La « faim » causée par une insuffisance nutritionnelle est la cause la plus fréquente le phénomène biocide microbien. Ceci est en concordance avec nos résultats sur l'activité antagonistes des *Trichoderma sp* par confrontation direct. Les résultats obtenus montrent une croissance rapide des *Trichoderma* limitant par conséquent le développement de pathogène. Nos résultats dévoilent l'augmentation de la zone d'inhibition avec l'augmentation du temps. 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**). L'utilisation d'un agents de lutte biologique capables de concourir les pathogènes pour la nutrition limitée est un moyen important de prévenir les maladies des plantes (**Halifu et al., 2021, Mukherjee et al., 2022**).

Dans le test double culture, les résultats obtenus exposent également que le taux de croissance de toutes les souches de *Trichoderma* testées était plus rapide que celui du Foc. De façon notable, les observations sur les tests antagonistes exhibent que certaines souches de *Trichoderma* peuvent continuer à se développer sur la colonie Foc, telles que *T. asperellum*, alors que certaines souches de *Trichoderma* étaient dans un « état d'impasse » avec le Foc.

La croissance rapide est la caractéristique commune des *Trichoderma spp.*, indique que ces espèces pourraient directement s'emparer de l'espace de croissance commun avec les pathogènes (**Rahman et al., 2015 ; Wang et coll., 2021 ; Saldaña- Mendoza et al., 2023**).

Les résultats concordent avec des études antérieures montrant que les *Trichoderma* sp inhibent la croissance des phytopathogènes cibles grâce à leur vitesse de croissance plus rapide, compétition pour l'espace et les nutriments (**Hammad et al., 2021 ; Younesi et al., 2021 ; Mukherjee et al., 2022 ; Asad, 2022**), ainsi que par mycoparasitisme impliquant l'enroulement et la pénétration des hyphes, et par antibiose incluant la lyse des cellules et des spores des hyphes, la dénaturation et la rupture des hyphes (**Dubey et al., 2007 ; El-Debaiky, 2017 ; Bunbury-Blanchette et Walker, 2019 ; Younesi et al., 2021 ; Mukherjee et al., 2022 ; Asad, 2022**). La diminution des concentrations de nutriments entraîne généralement une réduction de la germination des conidies et une croissance plus lente des germes pathogènes (Asad, 2022).

En effet, les activités inhibitrices effectuées sur le mycélium du Foc sont attribuées aux effets hyperparasitaires. Ce constat a été consolidé par les observations microscopiques des zones d'interaction entre les deux protagonistes indiquent que les hyphes antagonistes de *Trichoderma* enroulent autour des hyphes de pathogènes Foc et inhibent sa croissance mycélienne. Avec l'augmentation du temps de confrontation, le mycélium de Foc s'amincit progressivement et cesse de croître. Les résultats de l'observation microscopique expose autrement que le mycélium de *Trichoderma* sp enroule en forme spirale et entrave le mycélium du Foc pendant la phase de croissance. Ces résultats sont conforme aux résultats antérieurs rapportés par plusieurs chercheurs (**Toghueo et al., 2016 ; El-Debaiky, 2017**). 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**).

Au cours du processus hyperparasitaire, *Trichoderma* sp sécrète des enzymes dégradant la paroi cellulaire (CWDE), notamment les chitinases, cellulases, xylanases, glucanases et protéinases (**Francesca et al., 2016, Mukherjee et al., 2022**). Les CWDE et les métabolites secondaires dégradent de manière synergique la paroi cellulaire du pathogène (**Xiong et al., 2016**). Nous avons trouvé plusieurs gènes à réguler positivement, dont sept gènes liés à la reconnaissance et à la transduction du signal, six gènes de chitinase, six de glucanase et un gène de protéase.

Les interactions entre *Trichoderma* sp. et diverses espèces phytopathogènes peuvent entraîner la mort ou l'inactivation des hyphes pathogènes, facilitant ainsi leur invasion par les hyphes de l'antagoniste (**Askary et al., 1997 ; Bahous et al., 2008**). Selon **De Oliveira et al. (1984)**, la vacuolisation cytoplasmique des hyphes peut précéder la pénétration de l'antagoniste par des actions enzymatiques lytiques. Il a également été rapporté que les espèces de *T. atroviride*, *T. virens*, *T. viridiscens* et *T. viride* présentent un phénomène de mycoparasitisme

caractérisé par l'enroulement et la lyse des hyphes de Foc et d'autres phytopathogènes (**Dennis et Webster, 1971 ; Dubey et al., 2007**).

Nos résultats révèlent également une lyse partielle, et parfois complète, des mycéliums de Foc après six jours de confrontation directe. Ce phénomène peut être attribué aux sécrétions enzymatiques des souches de *Trichoderma*, qui possèdent d'importantes activités lytiques et dégradent les parois pectocellulosiques. Ces observations sont en accord avec celles de nombreux chercheurs. Par ailleurs, **Benitez et al. (2004), Harman et al. (2004), Vos et al. (2015) et Gutiérrez et al. (2021)** ont rapporté que *Trichoderma* sp. peut localiser des proies potentielles grâce à la sécrétion constitutive d'enzymes dégradant la paroi cellulaire (CWDE).

Dans ce contexte, le mycoparasitisme de *Trichoderma* sp. implique la sécrétion d'enzymes dégradant la paroi cellulaire, telles que les chitinases, les protéases et les glucanases (**Harman, 2006 ; Sanchez et al., 2019**). Cette activité bénéfique de *Trichoderma* sp. varie en fonction de la souche, du type d'agent pathogène, de l'état de la plante et de l'environnement (**Brimmer et Boland, 2003 ; Cordier et Alabouvette, 2009 ; Mohiddin et al., 2010 ; Mukherjee et al., 2022**).

En outre, **Zhang et al. (2016)** ont observé que les hyphes de *T. harzianum* se développent en parallèle et s'attachent étroitement aux hyphes pathogènes, créant des branches de contact illustrant le mycoparasitisme. Ces auteurs ont rapporté que *T. harzianum* inhibe la croissance mycélienne de *S. sclerotiorum* avec une efficacité de 56,3 % dans des tests en double culture. Par ailleurs, *T. harzianum*, *T. viride* et *T. reesei* ont inhibé plus de 85,5 % de la croissance mycélienne de *Phytophthora capsici* en double culture (Nawaz et al., 2018).

Nos résultats corroborent ceux obtenus par **Debbi et al. (2018)** qui ont rapporté l'efficacité de quatre isolats de *Trichoderma* sp. collectés dans l'Ouest de l'Algérie. Ces espèces ont montré une activité inhibitrice de la croissance mycélienne par confrontation directe contre deux isolats de Fo f. sp.1 (FOL) et Fo f. sp. radialis-lycopersici (FORL), avec des pourcentages d'inhibition allant de 62,8 à 70,6 %. Des tests de biocontrôle *in vitro* effectués par **Hammad et al. (2021)** ont révélé que quatre isolats indigènes de *Trichoderma* sp. présentaient une forte activité antagoniste contre *B. cinerea*, réduisant la croissance mycélienne de 62 à 65 % par la technique de double culture, de 62,31 à 64,49 % dans les tests de composés volatils, et enregistrant une forte inhibition de la croissance des germes par l'isolat TBS1 avec 90,68 % dans les tests de filtrats de culture. Les travaux de **Reghmit et al. (2021)** sur l'activité antagoniste de quatre souches algériennes de *Trichoderma* sp. contre *V. dahliae* ont montré une inhibition de la croissance mycélienne par confrontation directe avec une moyenne de 68,86 %.

Les résultats obtenus par **Wang et al. (2023)** sont en accord avec nos conclusions, ces derniers ayant démontré l'efficacité de *Trichoderma asperellum* contre *Fusarium oxysporum* f.

sp. *cucumerinum* en culture mixte et à distance, avec des zones d'inhibition variant entre 40 et 70 %. Nos observations corroborent également celles de **Younesi et al. (2021)**, qui ont montré que huit isolats, notamment *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma pleurotum*, *T. crassum*, *T. guizhouense*, et *Trichoderma* sp., ont supprimé la croissance des colonies de Foc avec des taux d'inhibition variant de 61,1 % à 65,5 % en test direct. Ces espèces ont été testées in vitro pour leur production de substances volatiles. Les huit isolats sélectionnés ont produit des métabolites volatils qui ont inhibé la croissance radiale du Foc, avec des zones d'inhibition allant de 17,5 % à 31,0 %.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Chihat et al. (2021)** en confrontation directe, le taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc., *Botrytis cinerea* (Pers.), *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout et *Rhizoctonia solani* (J.G. Kühna) a été trouvé entre 37,22 % et 80,95 %, tandis qu'en confrontation indirecte, il se situait entre 100 100 % et 88,89 %. 88,89 %. Les résultats obtenus par **Mishra et al. (2022)** indiquent une excellente zone d'inhibition du Foc par *Trichoderma asperellum* avec environ (76.58 et 73.29 %), respectivement.

Selon **Dubey et al. (2007)**, **Elad et al. (1980)** et **Kumar et al. (2001)**, l'observation des interactions des hyphes montre que les hyphes antagonistes de *T. viride* s'enroulent autour des hyphes pathogènes (Foc) et inhibent leur croissance mycélienne. Des modifications importantes dans le mycélium du pathogène, telles que la transformation des filaments mycéliens en cordons et l'enroulement du mycélium de *T. harzianum* et *T. viride*, ont été observées. Selon **Markuz et al. (2012)**, les espèces de *Trichoderma* sp. impliquent des mécanismes d'inhibition tels que l'enroulement des hyphes autour de l'agent pathogène, la pénétration, la production d'haustoria et la lyse des hyphes pathogènes (FOC).

De plus, d'autres modes d'action, représentés par la production de composés volatils, ont été associés à l'efficacité de *Trichoderma* pour lutter contre les agents pathogènes des plantes (**Dennis et Webster, 1971 ; Dubey et al., 2007 ; Toghueo et al., 2016**). Les résultats de cette étude ont révélé que les composés volatils de cinq espèces de *Trichoderma* sp. peuvent inhiber significativement la croissance mycélienne de Foc, avec une gamme d'inhibition comprise entre 27,86 et 54,79 %.

En examinant les données sur la confrontation indirecte, il est également envisageable que *Trichoderma* inhibe la croissance mycélienne du Foc en produisant des substances volatiles. Nos résultats indiquent l'efficacité des espèces de *Trichoderma* à distance avec des taux d'inhibition variables entre 10 et 20%. Des études antérieures indiquent que l'antibiose est l'un des mécanismes clés impliqués dans la lutte biologique contre le Foc (**Dennis et Webster, 1971 ; Dubey et al., 2007 ; Moutassem et al., 2020**). En effet, l'antibiose est un type d'antagonisme

provoqué par des métabolites secondaires spécifiques ou non spécifiques d'origine fongique, ainsi que par des substances volatiles et d'autres composés toxiques (**Dennis et Webster, 1971a ; Toghueo et al., 2016 ; Mukherjee et al., 2022 ; Asad, 2022, Jim'enez-Bremont et al., 2024**).

Les métabolites spécialisés, anciennement métabolites secondaires, sont essentiels à la bioactivité des *Trichoderma*. En effet, les composés organiques volatils (COV) émis par *Trichoderma* ont de multiples fonctions dans la protection des plantes, y compris l'amélioration de la croissance des plantes, la modulation de l'architecture des racines et l'activation des défenses des plantes contre les agents biotiques et abiotiques. De plus, le mélange de COV produit par les espèces de *Trichoderma* inhibe les micro-organismes phytopathogènes (**Jim'enez-Bremont et al., 2024**).

L'émission de différents COV de *Trichoderma* se produit lorsque ces champignons se développent séparément ou pendant l'interaction avec les plantes ainsi que les phytopathogènes. L'émission de COV produits par *Trichoderma* dépend de divers facteurs dont l'espèce fongique, son âge et son milieu de culture, ainsi que le moment de l'interaction avec d'autres organismes. Un biostimulant L'effet sur les plantes a été obtenu en appliquant des composés volatils purs et commerciaux, identifiés dans les mélanges de COV émis par les espèces *Trichoderma* (**Jim'enez-Bremont et al., 2024**).

Dennis et Websters (1971) ont identifié que *Trichoderma* sp émet des dérivés toxiques de l'hydrazine sous forme de substances volatiles. La production de ces substances varie entre les isolats, même au sein d'une même espèce. Les isolats *T. gamsii* (TGS7) et *T. atroviride* (TAtC11) dégagent une forte odeur, suggérant que leurs inhibiteurs volatils contre *B. cinerea* pourraient inclure la pyrone 6-pentyl-2H-pyran-2-one, également appelé « arôme de noix de coco », produit par *Trichoderma* sp. (**Vinale et al., 2008**). **Pezet et al. (1999)** ont démontré l'activité antifongique de cette pyrone *in vitro* et *in vivo* contre *B. cinerea*.

Moutassem et al. (2020) ont révélé que les composants volatils de cinq espèces de *Trichoderma* sp inhibent significativement la croissance mycélienne de *Foc*, avec des taux d'inhibition entre 27,86 et 54,79%. Autrement, *T. gamsii* (TGS7) et *T. atroviride* (TAtC11) ont montré une efficacité notable (**Hammad et al., 2021**), bien que, *T. harzianum* est également reconnu pour produire divers composés volatiles et non volatiles (**Markuz et al., 2012; Singh et al., 1997; Moutassem et al., 2020**). En général, les composés volatils produits par *Trichoderma* sp inhibent la croissance mycélienne de *F. oxysporum f. sp. lycopersici* et *Rhizoctonia solani* (**Dubey et Patel, 2001**).

Cependant, la fonction de nombreux métabolites secondaires reste à identifier, car une seule espèce de *Trichoderma* sp est capable de produire une grande diversité de métabolites secondaires spécifiques. L'importance écologique de la plupart de ces métabolites est également

mal comprise, et des recherches supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'écologie de *Trichoderma* sp (Keswani *et al.*, 2014).

Nos résultats indiquent également un effet fongicide des métabolites secondaires des espèces de *Trichoderma* contre le Foc en traitement individuel et même associés *in vitro*. Les résultats obtenus indiquent une zone d'inhibition avec environ 10 % en appliquant la concentration 0,5. Autrement, la diminution de la gravité de la maladie est d'environ 10 % et 15 % après l'utilisation des *T. harzianum* et *T. viride* en traitements individuels. En comparaison avec les traitements combinés, en constatant une augmentation d'environ 10 et 15 %.

Ainsi, les *Trichoderma* sp, par la production de divers métabolites secondaires, jouent un rôle crucial dans la lutte contre les champignons phytopathogènes, en particulier le Foc. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier et comprendre pleinement la fonction écologique de ces métabolites secondaires et optimiser leur utilisation dans la gestion des maladies des plantes

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) de certaines souches de *Trichoderma* sp ont révélé la présence de 33 composés dans les fractions méthanoliques et hexaniques des filtrats de culture. Parmi ces composés volatils avec des activités antifongiques importantes, on trouve l'Undécane, l'Octadécane, l'Eicosane, le 13-Docosénamide (Z), l'Hexadécénamide, le 9-Octadécénamide (Z), la Cyclopentanone 2-méthyl, l'acide tétradécanoïque ester propylique, l'acide oléique et l'acide n-hexadécanoïque. Des recherches antérieures ont indiqué que les espèces de *Trichoderma* sp sécrètent divers composés volatils et non volatils tels que les alkylpyrones, peptaibols, polycétides, stéroïdes, isonitriles, sesquiterpènes et dicétopipérazines (Zeilinger *et al.*, 2017; Meena *et al.*, 2017). Ces substances ont une large gamme d'actions, inhibant la croissance des bactéries et des champignons phytopathogènes. Leur activité antimicrobienne dépend principalement de leur composition chimique.

L'espèce *T. polysporum* est connue pour produire une variété de métabolites secondaires tels que les peptaibols, les trichopolyns, les alaméthiines, les hypelcins, les trichosporines, les trichocellius, les trichokindines et les aibellines. Ces métabolites, y compris des ions chalcis et des hypolysés, sont impliqués dans le découplage de la phosphorylation oxydative (New *et al.*, 1996; Akira *et al.*, 1999). De plus, Vinale *et al.* (1999, 2013) ont rapporté que l'acide harzianique, un métabolite secondaire de *T. harzianum*, présente des activités antifongiques significatives. Keszler *et al.* (2000) ont identifié des antibiotiques pyroniques aromatiques produits par *T. atroviride* comme étant responsables de l'effet inhibiteur.

Des études ont montré que les mélanges de composés secondaires testés démontrent un effet antifongique notable et un potentiel antagoniste contre les isolats de *V. dahliae*. La plus

grande inhibition a été observée avec l'utilisation de filtrats de culture à une concentration de 20%, présentant le niveau d'inhibition le plus élevé (**Reghmit et al., 2021**).

Les résultats de nos études indiquent que différentes espèces de *Trichoderma* sp. réduisent efficacement la gravité des maladies dans des conditions contrôlées, avec des pourcentages de réduction de la sévérité de la maladie variant entre 28.27% et 64.27%. Cette efficacité *in vivo* pourrait être attribuée à la réduction de la population de Foc dans le sol et à l'induction de la résistance systémique chez la plante hôte. Nos résultats corroborent ceux de **Moutassem et al. (2020)**, qui ont démontré que *T. harzianum* et *T. viride* réduisent la sévérité de la fusariose vasculaire du pois chiche et augmentent le taux de polyphénols chez les plantules traitées.

L'induction de la résistance systémique chez les plantes par *Trichoderma* sp. a été étudiée et comparée aux réponses induites par les rhizobactéries. *Trichoderma* est résistante aux cyanures et produit deux enzymes capables de dégrader les cyanures dans la zone racinaire (Ezzi et al., 2002). En conséquence, ce champignon peut augmenter la croissance racinaire, détruire les métabolites toxiques produits par la microflore et contrôler directement les pathogènes des racines.

Des observations microscopiques ont révélé que *Trichoderma* peut croître parallèlement à *Rhizoctonia solani*, s'enroulant autour de celui-ci et formant des crochets, empêchant ainsi son développement (**Shalini et al., 2007**).

Les travaux de **Bouragda et al. (2009)** ont démontré que les isolats de *T. viride* et *T. harzianum* diminuent la gravité de la maladie et sont associés à une augmentation de la croissance végétale, incluant la hauteur de la tige ainsi que le poids frais et sec de la plante.

L'activité fongistatique de *Trichoderma* a été étudiée par **Ragab et al. (2012)**, révélant une incidence de 63% pour *T. viride* et 53,5% pour *T. harzianum*. De même, **Ramezani (2009)** a démontré que *T. harzianum* réduit l'incidence de la maladie de 5% et *T. viride* de 14% *in vitro*. Cet effet bénéfique est observé même en l'absence de pathogènes, comme l'ont montré Windham et al. (1986), où l'addition de *T. harzianum* et de *T. koningii* à un sol autoclavé a augmenté le pourcentage de germination des semences de tomate et de tabac, tout en améliorant le poids sec des racines et des parties aériennes, représentant 213% à 291% de celui du témoin non traité.

Toutes les études antérieures sur *Trichoderma* sp. ont montré leur efficacité *in vivo* contre de nombreux microorganismes phytopathogènes, en particulier le Foc (**Moutassem et al., 2020**). Des recherches récentes sur le rôle de *Trichoderma* dans la lutte biologique 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, *T.*

pseudokoningii (Mei *et al.*, 2019 ; Cheng *et al.*, 2010 ; Bi, 2016 ; Díaz-Gutiérrez *et al.* 2022), *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 également reconnu comme un agent d'amélioration de la croissance chez de nombreuses plantes. Verma *et al.* (2007), travaillant sur la tomate, et Gravel *et al.* (2008), ont prouvé que *Trichoderma* sp. favorise la croissance de certains végétaux. Selon Yedida *et al.* (2001), *Trichoderma* sp. inhibe ou dégrade les pectinases et autres enzymes essentielles pour les phytopathogènes. En outre, *Trichoderma* sp. est capable d'induire une résistance localisée et systémique. L'amélioration de la croissance des plantes par *Trichoderma* sp. peut se manifester au niveau de la plante (Yedida *et al.*, 2001) ou du sol (Chang *et al.*, 1986 ; Harman, 2001).

Les microorganismes associés aux racines des plantes sont extrêmement diversifiés. Le complexe de la communauté microbienne associée aux espèces végétales est considéré comme un deuxième génome de la plante, crucial pour sa santé et son développement. Des études récentes sur l'interaction plante-microbe ont révélé que les plantes façonnent leur microbiome rhizosphérique en sécrétant des exsudats racinaires (Berendsen *et al.*, 2012).

Un inconvénient majeur des agents de contrôle biologique est leur capacité limitée à cibler un spectre restreint de pathogènes. Jusqu'à présent, la plupart des agents biologiques ont été développés pour cibler des maladies spécifiques. Il est toutefois possible que les mélanges d'organismes ayant différents modes d'action, ou la combinaison de produits naturels avec des agents de contrôle biologique, puissent élargir ce spectre d'action, bien que nos connaissances sur ces interactions restent limitées.

Il est intéressant de noter que *Trichoderma* sp., lorsqu'appliqué contre les phytopathogènes, est largement utilisé comme antagoniste dans la lutte biologique, notamment contre ceux présents dans le sol. Nos résultats démontrent que les associations testées de *Trichoderma/Trichoderma* ont montré des effets synergiques marqués, surpassant en efficacité toutes les espèces de *Trichoderma* sp. appliquées individuellement.

Pour la gestion des maladies des plantes, l'utilisation de consortiums microbiens constitués de plusieurs souches efficaces pour la lutte biologique peut être une stratégie plus efficace que l'utilisation de souches microbiennes individuelles (Sarma *et al.*, 2015). De plus, l'application de microbes en consortium peut améliorer leur efficacité, leur fiabilité et leur constance dans diverses conditions de sol et environnementales (Stockwell *et al.*, 2011). La compatibilité microbienne, où l'absence de suppression ou d'antagonisme entre les souches microbiennes lorsqu'elles sont co-cultivées, est également cruciale (Jain *et al.*, 2012 ; Singh *et al.*, 2013a,b).

Les consortiums peuvent ainsi avoir un impact accru sur la promotion de la croissance des plantes ou la suppression des maladies. L'utilisation de différentes espèces de microbes en combinaison peut également réduire la concurrence en occupant différentes niches dans la zone racinaire. De plus, la diversité des mécanismes de biocontrôle offerts par chaque composant microbien peut améliorer la suppression des maladies.

Cette forte activité synergique observée dans les associations de *Trichoderma* sp. est probablement due à l'interaction synergique entre les métabolites secondaires produits par les différentes espèces de *Trichoderma* sp., comme l'ont confirmé **Saravanakumar *et al.* (2016)**, démontrant que les combinaisons de composés dérivés de *Trichoderma* sp. renforcent l'activité de lutte biologique tant *in vitro* qu'*in vivo*.

Cependant, la compatibilité des métabolites secondaires de *Trichoderma* sp. avec les plantes hôtes nécessite encore d'être étudiée, car certains de ces métabolites peuvent non seulement agir comme antibiotiques contre les agents pathogènes, mais aussi comme régulateurs bénéfiques de la croissance des plantes (**Vinale *et al.*, 2013, 2014**).

CONCLUSION

L'étude démontre l'efficacité potentielle des espèces de *Trichoderma* comme agents de biocontrôle contre le flétrissement vasculaire du pois chiche causé par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Les résultats montrent que l'utilisation de *Trichoderma* sp. peut significativement inhiber la croissance de Foc à travers divers mécanismes, incluant la compétition pour les nutriments, l'hyperparasitisme et l'antibiose.

L'analyse des données montre l'isolement de cinq différentes espèces, dont *T. harzianum* est l'espèce dominante avec une fréquence d'isolement de 33.33 %. Par contre, *T. virens* est la plus faiblement isolée avec une fréquence de 3.33 %

Les résultats obtenus montrent l'efficacité des espèces de *Trichoderma* contre le Foc *in vitro*. A cet égard, les isolats de *T. longibraciatum*, *T. harzianum* et *T. viride* sont les espèces les plus efficaces avec des zones d'inhibition de l'ordre de 83.08, 83.08 et 79.95%, en contact direct. Bien que, en contact indirect les espèces *T. harzianum*, *T. longibraciatum* 2 et *T. harzianum*2 sont les plus efficaces avec des taux d'inhibition de l'ordre de 83.08, 68.91 et 65.03%, respectivement.

L'analyse des filtrats de culture confirme également l'efficacité des *Trichoderma* sp. dans la réduction de la croissance mycélienne de Foc, dénudé une zone d'efficacité variable entre 23.50 et 88.08%.

L'analyse de l'effet des associations pour les espèces criblées montre une augmentation de l'efficacité avec des taux variables entre 9.60 et 44.18% pour le test direct 12.13 et 30.45% pour le test indirect ; ainsi que entre 41.45 et 45.12%. Pour les filtrats des cultures fongiques.

Les souches de *Trichoderma* ont été avérés très efficaces *in vivo* avec des valeurs de l'AUDPC variables entre 180 et 500 expliquent une réduction de la maladie variable entre 52.38% et 92.38 %. 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 25 et 180 expriment une diminution de sévérité de la maladie variable entre 86.08 et 97.82%.

Les traitements individuels et associés des *Trichoderma* sp. montrent une augmentation de l'efficacité dans la réduction de la sévérité de la maladie *in vivo*, offrant ainsi une alternative prometteuse aux méthodes de contrôle chimique traditionnelles. L'importance de la biodiversité des espèces de *Trichoderma* dans la rhizosphère et leur capacité à agir comme agents de biocontrôle souligne leur potentiel dans la gestion durable des maladies des plantes.

REFEFRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. 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.
2. Akira, I., Tomohiro, M., Tetsuro, F., Takalshi, Y. (1999). Peptidic immunosuppressants from the fungus *Trichoderma polysporum*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9: 3393-3396.
3. 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.
4. 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.
5. Ardestani, A., Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104 (1): 21–29.
6. 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.
7. Ayoubi, N., Zafari, D., Mirabolfathy, M. (2014). Evaluation of β -1,3-glucanase and β -1,4-glucanase enzymes production in some *Trichoderma* species, *Archives of Phytopathology And Plant Protection*, DOI: 10.1080/03235408.2013.862457.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. Boureghda, H., Bouznad, Z., (2009). Biological control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 44(1):1588-2691.

12. 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.
13. Chet, I. (1987). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405-416.
14. 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.
15. Chet, I., Baker, R. (1981). Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 71: 286-290.
16. Chet, I. (1993). *Biotechnology in Plant Disease Control*. John Wiley and Sons, New York
17. 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.
18. 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.
19. Clavet, C., Pera., Bera, J.M. (1990). Interaction of *Trichoderma* sp. With *Glomus mossaeae* and two pathogenic. *Agric Ecosyst. Environ*, 9: 59-65.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Dennis, L., Webster, J. (1971). Antagonisme properties of species-groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interaction. *Trans. Br. Mycol. Soc*, 57: 363-369.
24. 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.
25. Dervilla, M.X., Dgnnelly, M., Sheridan, M. (1986). Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. *Phytochemistry*, 25(10): 2303-2304.

26. 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.
27. Donnelly, D.M.X., Sheridan, M.H. (1986). Anthraquinones from *Trichoderma polysporum*. Phytochemistry, 25 (10): 2303–2304.
28. Dubey, M.K, Broberg, A., Sooriyaarachchi, S., Wimal, U., Dan, F.J. (2013). The glyoxylate cycle is involved in pleiotropic phenotypes, antagonism and induction of plant defence responses in the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride*. Magnus Karlsson Fungal Genetics and Biology
29. 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.
30. 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.
31. 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.
32. Elmassi, F., Ghisalberti, E.L., Narbey, M.J. (1991). New antibiotics from strains of *Trichoderma harzianum*. Journal of Natural Products, 54: (2), 396-402.
33. 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.
34. 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.
35. 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.
36. Ghisalberti, E., Rowland, C.Y. (1993). Antifungal Metabolites from *Trichoderma harzianum*. Journal of Natural Products, 56(10): 1799-1804.
37. 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.

38. 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-
39. Heguera, G., Beauge, L. (1997). Phosphoryl group exchange between ATP and ADP catalyzed. *Plant Physiol.* 114, 1397–1403.
40. 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.
41. Iida, A., Mihara, T., Fujita, T., Takaishi, Y. (1999). Peptidic immunosuppressants from the fungus *Trichoderma polysporum*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 9 (24): 3393–3396.
42. Irum, M. (2007). Comparison of phytochemical and chemical control of *Fusarium oxysporium* f. sp. *ciceris*. *Mycopathology*, 5(2):107-110.
43. 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.
44. 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.
45. 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.
46. 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.
47. 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
48. 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.
49. 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.

50. 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.
51. 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
52. 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.
53. 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.
54. 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.
55. 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.
56. 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.
57. Nawrocka, J., Małolepsza, U. (2013). Diversity in plant systemic resistance induced by *Trichoderma*. *Biological Control*, 67 (2), 149–156.
58. 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.
59. 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.

60. 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.
61. 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.
62. 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.
63. 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.
64. 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.
65. 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.
66. Toghueo, R.M.K., Eke, P., Zabalgoceazcoa, 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.
67. Trapero-Casas, A., Jimenez-Diaz, R.M. (1985). Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in Southern Spain. *Phytopathology*, 57: 1146-1151.
68. Trivedi, S., Neetu, T., ChaudharyRG. (2013). Efficacy of *Trichoderma* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, the incitant of Wilt Disease in Chickpea. *J Mycol Plant Pathol*, 43(1).
69. 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.

70. 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.
71. 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.
72. 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.
73. 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.
74. Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., Mukherjee, P.K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. Fungal Biology Reviews, 30 (2): 74–90.
75. 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.
76. 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.
77. Livak, K.J.; Schmittgen, T.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the 2⁻(DDCt) method. Methods, 25, 402–408.
78. Halifu S, Deng X, Song X, Song R., Liang., 2021. Inhibitory Mechanism of *Trichoderma virens* ZT05 on *Rhizoctonia solani*. Plants 2020, 9, 912
79. 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.
80. 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.
81. Nassr S, Barakat R (2013) Effect of factors on conidium germination of *Botrytis cinerea* in vitro. Methods 67:68
82. 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.

83. 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.
84. Sood, M.; Kapoor, D.; Kumar, V.; Sheteiwiy, M.S.; Ramakrishnan, M.; Landi, M.; Araniti, F.; Sharma, A. Trichoderma: The “Secrets” of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants* 2020, 9, 762.
85. 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.
86. 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
87. 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
88. 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
89. 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
90. 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.
91. 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.
92. Whipps JM (1997) Ecological considerations involved in commercial development of biological control agents for soilborne diseases. *Modern soil microbiology.*, 525-546.

93. 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.
94. 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
95. Bakker, P.A.H.M., Pieterse, C.M.J., van Loon, L.C., 2007. Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 97, 239e243.
96. 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.
97. 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.
98. Singh, A., Jain, A., Sarma, B.K., Upadhyay, R.S., Singh, H.B., 2013b. Rhizosphere microbes facilitate redox homeostasis in *Cicer arietinum* against biotic stress. *Annals of Applied Biology* 163, 33e46.
99. 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.
100. 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.
101. Goulson, D. (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4): 977–987.
102. 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.
103. 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.

104. Dubey SC. And Patel.,(2001), Evaluation of fungal antagonist against *Thanatephorus cucumeris* causing web blight urd and mung bean. *Indian Phytopathol* 54:206-209.
105. Dubey.S.C, Singh.B., (2003), Reaction of chickpea genotypes against *Fusarium Oxysporum F.sp.ciceris* causing vascular wilt. *Indian Phytopathology*, 57:233.
106. Haware M. P., Nene Y. L. and Natarajan M., 1996. The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathology Mediterranean*. (35): 9-12.
107. Merkez 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.
108. 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