RESEARCH PAPER

Essais de lutte biologique in vitro par l'utilisation de *Trichoderma harzianum* et de *Trichoderma viride* contre *Ascochyta rabiei*, agent de l'anthracnose du pois chiche en Algérie

I.E. Benzohra[1,2], B. S. Bendahmane[2], M. Youcef Benkada[2]

1. Station du Milieu Biophysique de la Saoura, Béchar - Centre de Recherche Scientifique et Technique sur les Régions Arides (CRSTRA), Campus Universitaire B.P. 1682 RP, 07000 Biskra, Algérie.
2. Laboratoire de Protection des Végétaux (LPV), Département d'Agronomie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Mostaganem, Algérie.

Received 20 May 2016; Revised 09 Jun 2016; Accepted 15 Jun 2016

Résumé

Cette étude porte sur l'évaluation de l'effet antagoniste de *T. harzianum* et *T. viride* sur la croissance mycélienne et la sporulation d'*Ascochyta rabiei*, agent causal de l'anthracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Quinze isolats d'*A. rabiei* collectés dans différentes régions du Nord-ouest algérien, sont confrontés in vitro avec l'antagoniste. Un effet inhibiteur hautement significatif variant de 20 à 68% a été observé sur la croissance mycélienne pour les deux tests effectués (confrontation directe de l'antagoniste avec le phytopathogène et confrontation à distance avec les substances volatiles émises par l'antagoniste). En ce qui concerne la sporulation (nombre de conidies et de pycnides par ml), une réduction importante arrive jusqu'à 80 % par rapport au témoin Les valeurs obtenues de la croissance mycélienne des isolats confrontés avec les deux espèces testées de *Trichoderma* sont inférieures (1,23 à 4,16 mm/j) à celles du témoin (3 à 7,5 mm/j), et les valeurs de sporulation sont aussi inférieures (10^3 conidies /ml et 82 pycnides/cm^2) à celles du témoin (10^5 conidies/ml et 200 pycnides/cm^2).

Mots-clés: *Ascochyta rabiei*, *Trichoderma viride*, *Trichoderma harzianum* , antagonisme, confrontation.

In vitro biological fight by using Trichoderma harzianum and Trichoderma viride against Ascochyta rabiei, agent of the ascochyta blight of chickpea in Algeria

Abstract

This study focuses on the evaluation of antagonistic effect of T. harzianum and T. viride on mycelial growth and sporulation of Ascochyta rabiei, causal agent of ascochyta blight in chickpea (Cicer arietinum L.). Fifteen isolates of A. rabiei collected in different regions of North-west of Algeria, were confronted in vitro with antagonist. Hight significant inhibitory effect ranging from 20-68% was observed on mycelial growth for two tests (direct confrontation of the antagonist with the phytopathogen and remote confrontation with volatile substances emitted by the antagonist). Regarding sporulation (number of conidia and pycnidia), a significant reduction reaches 80% compared with the control. The obtained values of the mycelial growth for the isolates faced with the antagonists of Trichoderma are always less (1, 23 to 4.16 mm / day), than the control (3 to 7.5 mm / day), and also the sporulation values are lower (103 conidia / ml and 82 pycnidia / cm^2) than the control (105 conidia / ml and 200 pycnides/cm^2).

Keywords: Ascochyta rabiei, Trichoderma viride, Trichoderma harzianum ,antagonism, confrontation,

Corresponding author

Ibrahim E. Benzohra
Email: ibrahimelkhalil@live.fr

INTRODUCTION

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est l'une des légumineuses à graines les plus importantes du monde, elle est très riche en protéines principales pour l'alimentation des populations (Shahid et al., 2008). La production de pois chiche dans le monde a augmenté légèrement pendant les dernières décennies ; en 2009 la production a atteint 09 millions de tonnes (MT), après le haricot sec (Phaseolus vulgaris L.) à 19 MT, et le petit pois (Pisum sativum L.) à 10,3 MT (FAO, 2010). Le rendement moyen du pois chiche varie de 390 à 3600 kg/ha, selon les conditions environnementales, la gestion de la culture, l'itinéraire technique et les contraintes biotiques et abiotiques (Gan et al., 2006).

L'anthracnose, maladie provoquée par *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., est la contrainte principale qui limite la productivité du pois chiche dans le monde (Bouznad et al., 1996 ; Khan et al., 1999 ; Kaiser et al., 2000 ; Chongo et al., 2003).

En Algérie, parmi les maladies observées sur la culture du pois chiche, l'anthracnose est la maladie la plus fréquemment rencontrée et celle qui cause le plus des dégâts (Zikara-Zine et Bouznad, 2007). Les données de plusieurs années de prospections, ont montré sa présence avec des baisses de rendement pouvant aller jusqu'à 100 % (Bouznad et al., 1996). Mabsoute et al. (1996) signalent qu'en Algérie ainsi que dans les autres pays du Maghreb, l'anthracnose reste la contrainte majeure de la culture du pois chiche.

Tous les moyens de lutte culturaux, chimiques et génétiques ont connu des limites pour diminuer les dégâts causés par ce phytopathogène (Labdi, 1995 ; Gan et al., 2006). Plusieurs recherches faites afin de trouver des lignées résistantes, n'ont donné aucun niveau stable de résistance à *A. rabiei* (Labdi, 1995 ; ICARDA, 2003).

Cependant, la lutte biologique par l'utilisation de champignons antagonistes peut être envisagée comme un autre moyen pour combattre la maladie dans le cadre d'un programme de lutte intégrée.

Dans cette étude, nous allons évaluer l'effet antagoniste in vitro de *T. harzianum* et de *T. viride* sur la croissance mycélienne et la sporulation de plusieurs isolats d'A. rabiei.

MATERIEL ET METHODES

1-Matériel fongique

1-1-L'agent phytopathogène : *Ascochyta rabiei*

Les isolats d'*Ascochyta rabiei* utilisés dans cette étude, ont été obtenus par isolement à partir des échantillons de tiges, feuilles et gousses présentant des symptômes de l'anthracnose (Tableau 01).

1-2-L'antagoniste : *T. harzianum et T. viride*

Deux souches de deux espèces de l'antagoniste *T. harzianum* et *T. viride* ont été fournies par le Laboratoire de Protection des Végétaux (LPV), de l'Université de Mostaganem.

2-Méthodes

2-1-Purification et conservation des isolats d' *A. rabiei*

Les isolats sont conservé dans des boites de Petri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed Meal Dextrose Agar) (Dolar et al., 1994). Ces isolats sont maintenus dans le milieu dans l'étuve à une température de 20±2 °C (Jamil et al., 2002).

2-2-Effet antagoniste sur la croissance mycélienne d'*A. rabiei*

2-2-1-Confrontation directe

Nous avons effectué la méthode de Howell (2003) pour évaluer l'action inhibitrice de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne d'*A. rabiei*. Nous déposons diamétralement dans des boîtes de Pétri contenant 15 ml de milieu de CDA, deux explants opposés de 5 mm de diamètre issus de colonie d'A. rabiei et de *Trichoderma* (Fig.01). Quatre répétitions sont réalisées. Les témoins sont constitués de colonies d'*A. rabiei* dans des boites de Pétri en absence d'antagoniste. La croissance mycélienne des isolats d'A. rabiei est évaluée par la mesure du rayon des colonies pendant 7 jours.

2-2-1-1-Evaluation de la croissance mycélienne

Pour l'estimation de la croissance mycélienne, la technique utilisée est celle indiquée par Kuçuk et Kivanç (2003). Cette méthode consiste d'abord à mesurer la croissance mycélienne linéaire journalière des colonies jusqu'au septième jour, selon la formule suivante:

$L = (D - d) / 2$

L : Croissance mycélienne (mm) ; D : Diamètre de la colonie (mm) ; d : Diamètre de l'explant (5mm).

Les moyennes de la vitesse de croissance mycélienne sont calculées par la formule suivante:

$V(mm/j) = \sum (Ln - Ln\text{-}1) / n$

V : Vitesse de la croissance mycélienne (mm/j),

Ln , Ln-1 … Croissances mycéliennes pendant le jour n.

Le taux d'inhibition (%), est calculé par la formule de Kuçuk et Kivanç (2003) comme suit :

$TI (\%) = (Lt - L) \times 100 / Lt$

TI : Taux d' inhibition (%).

Lt : Diamètre de la zone de croissance mycélienne journalière du témoin en mm.

L : Diamètre de la zone de croissance mycélienne journalière des isolats d'*A. rabiei* en présence de l'antagoniste (*T. harzianum et T. viride*) en mm.

2-2-2-Confrontation indirecte (test de substances volatiles)

Cette technique consiste à déposer au centre de chaque boîte de Pétri contenant le milieu de culture CDA (Chickpea Seed-Meal Dextrose Agar) un explant de 5mm de diamètre prélevé à partir de colonies de *Trichoderma* et *A. rabiei*. La boite inférieure contenant *Trichoderma* est scellée avec une autre contenant le phytopathogène, par une bande de para film de façon à éviter toute contamination et toute perte de gaz (Fig. 2) (Camporota, 1985). Quatre répétitions sont faites avec un témoin.

2-3-Effet antagoniste sur la sporulation d'*A. rabiei*

Pour évaluer la sporulation de l'agent phytopathogène A. rabiei sous l'effet des deux antagonistes *T. harzianum* et *T. viride*, nous avons utilisé la méthode de Kuçuk et al. (2007) qui est basée sur le comptage des spores et leurs appareils sporifères (pycnides). Cette méthode consiste à compter la concentration des conidies par ml et les pycnides par cm^2. Le comptage se fait diagonalement au microscope à l'aide de la cellule de *Malassez*. Si le comptage est en dessous de 6 spores par carreau, on compte les 25 carreaux.

x : Compte moyen de 25 carreaux (comptage pour 5 carreaux multiplié par 5).

Alors pour trouver la concentration par ml de la dilution utilisée, il faudra faire :

$$x \times 10^4 = C \text{ spores / ml}$$

Si 'n' est le nombre de fois dilué, alors la concentration de spores dans la solution originale sera égale à:

$$C' \times 10^n = C \text{ spores / ml}$$

n : Nombre de dilutions ;

C' : Solution diluée ;

C : Solution originale.

En ce qui concerne les pycnides, on compte la densité des pycnides de la colonie fongique microscopiquement par cm^2 (Kuçuk et al. 2007). On dénombre ces pycnides par un prélèvement de 5 explants mesurant 5mm de diamètre chaque explant a une surface de 0.20 cm^2 estimée par la formule de la surface du cercle suivante :

$S = \pi \times R^2$

Avec :

S : surface en cm^2 ; R : Rayon de l'explant (=0.25 cm); π : 3.14

Pour obtenir la surface égale à $1cm^2$, on a :

$S = 3.14 \times 0.25^2 = 0.19625 \text{ cm}^2$

Donc, la densité des pycnides par cm^2 s'agit de leur somme dans les 5 explants, on peut compter la densité des pycnides par cm^2.

2-4-Analyse statistique

Le dispositif utilisé est une randomisation totale unifactorielle avec le test de Newman et Keuls ($P_{0,05}$ et $P_{0,01}$). L'analyse a été faite à l'aide du logiciel STAT BOX 6.0.4. (GRIMMERSOFT).

RESULTATS

1-Effet de l'antagoniste sur la croissance mycélienne d'*A. rabiei*

1-1-Confrontation directe

L'analyse statistique des résultats montre un effet hautement significatif de l'action antagoniste de *T. harzianum* et *T. viride* sur la croissance mycélienne des isolats d'*A. rabiei* ($P < 0.01$) (Tableau 2). En effet, on constate que la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène chez le témoin est toujours plus im-

Tableau 1: Isolats d'Ascochyta rabiei avec leur origine et date d'isolement.

Isolats	Origines	Dates d'isolement
At0108	Ain Témouchent	Mars 2008
Sba0108	Didi Bel Abbés	Mars 2008
Sba0208	Didi Bel Abbés	Mars 2008
Msc0108	Mascara	Avril 2008
Ad0108	Ain Defla	Avril 2008
Mos0108	Mostaganem	Juin 2008
Mos0208	Mostaganem	Juin 2008
Msc0208	Mascara	Novembre 2008
Msc0308	Mascara	Novembre 2008
Msc0408	Mascara	Novembre 2008
At0208	Ain Témouchent	Novembre 2008
At0308	Ain Témouchent	Novembre 2008
Rel0109	Relizane	Septembre 2009
Rel0209	Relizane	Septembre 2009
Rel0309	Relizane	Septembre 2009

portante par rapport à celle obtenue en en présence de l'antagoniste. Nous remarquons que les moyennes de la croissance mycélienne des isolats d'*A. rabiei* sous l'effet de *Trichoderma* (avec création d'une zone d'inhibition) (Fig.03), sont toujours inférieures (1.23 et 4.16 mm/j) que celles du témoin (2.93 à 7.50 mm/j) (Fig. 04). Cette réduction est suivie par un arrêt complet de la croissance.

Selon le tableau 2, nous remarquons que le taux d'inhibition est très important pour la plupart des isolats (20 à 68%) (Fig. 4). Cela, explique l'existence d'une action inhibitrice sur la croissance mycélienne d'*A. rabiei* par *Trichoderma*.

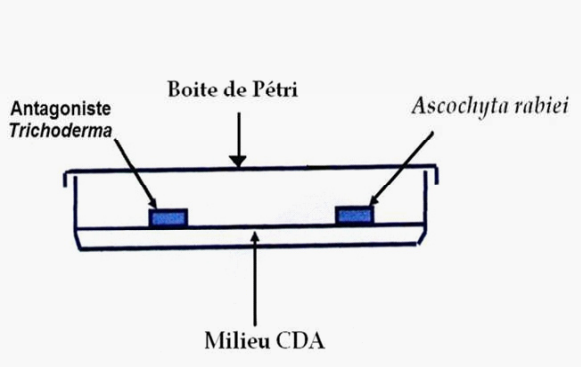

Fig. 1 : Technique de confrontation directe.

1-2-Confrontation à distance

Les résultats montrent un effet hautement significatif de l'action de *T. harzianum* et *T. viride* sur la croissance mycélienne des isolats d'*A. rabiei* (P <0.01). En effet, la croissance mycélienne (1,25 à 7,5 mm/j) des isolats d'*A. rabiei* est toujours inférieure à celle du témoin (2,93 à 7,50 mm/j) (Tableau 3).

Les valeurs des taux d'inhibition (20 à 80%) montrent qu'il existe un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène par les substances volatiles émises par *Trichoderma* (Fig. 5).

2- Effet de l'antagoniste sur la sporulation d'*A. rabiei*

Les résultats montrent aussi un effet hautement significatif (P <0.01), de l'action inhibitrice de la sporulation d'*A. rabiei* sous l'effet des antagonistes *T. harzianum* et *T. viride* (Tableau 04). Nous remarquons que la concentration des conidies et des pycnides chez les isolats d'*A. rabiei* confrontés avec les antagonistes est toujours inférieure par rapport au témoin (Tableau 04), avec un taux d'inhibition près de 100% (Fig. 06). Cette importante inhibition nous indique que l'effet antagoniste des espèces de *Trichoderma* étudiées sur l'inoculum primaire ou secondaire (sporulation), peut jouer un rôle primordial sur le potentiel de la maladie et sur le processus de l'infection et de l'épidémiologie de l'agent phytopathogène.

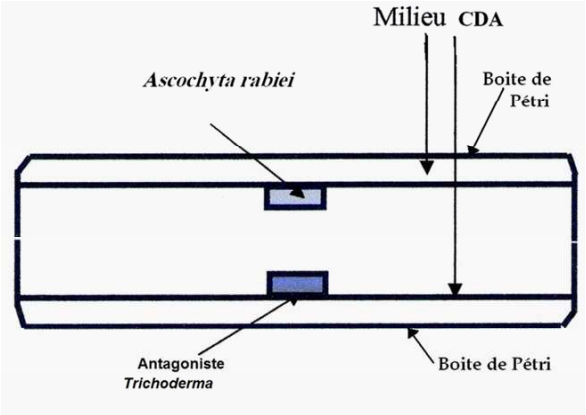

Fig. 2: Technique du test des substances volatiles (Confrontation indirecte).

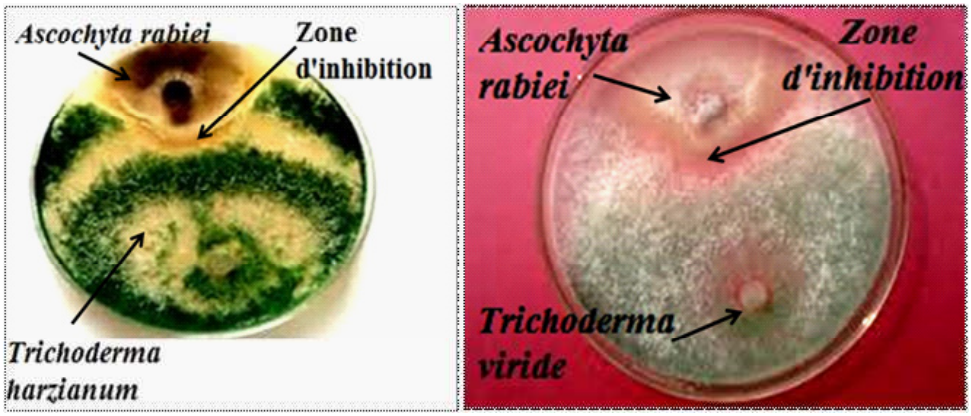

Fig. 3: Effet antagoniste de Trichoderma sur la croissance mycélienne d'*A. rabiei.*

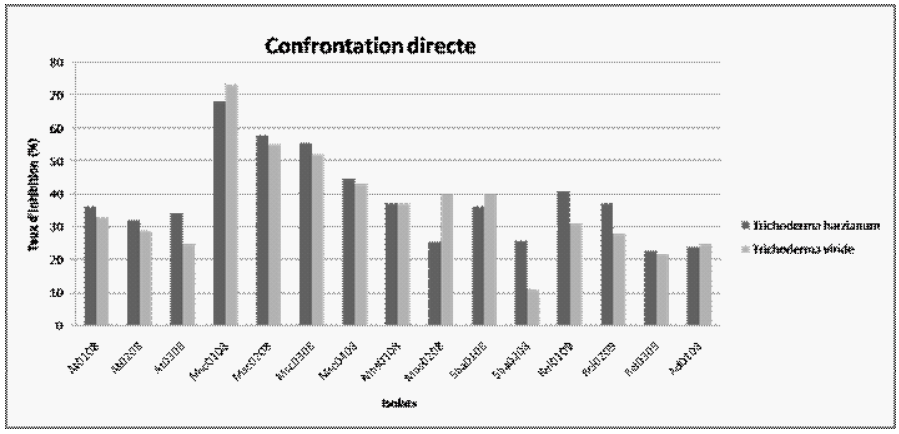

Fig. 4 : Taux d'inhibition (TI) de la croissance mycélienne de *A. rabiei* sous l'effet de T. harzianum et de *T. viride.*

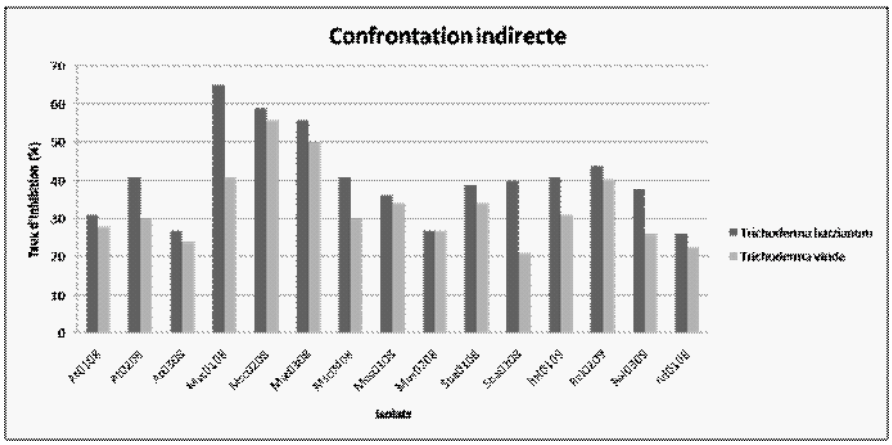

Fig. 5 : Taux d'inhibition (TI) de croissances mycéliennes d'*A. rabiei* sous l'effet des substances volatiles de *T. harzianum* et de *T. viride.*

Tableau 2 : Moyennes de croissance mycélienne (mm/j) des isolats d'*A. rabiei* confrontés avec *T. harzianum* et *T. viride.*

Croissances mycéliennes (mm/j) (Moy ± σ)			
Isolats	**Témoin (mm/j)**	***A. rabiei* confronté avec *T. harzianum* (mm/j)**	***A. rabiei* confronté avec *T. viride* (mm/j)**
At0108	$3,43^{a} \pm 0,4$	$2,2^{b} \pm 0,26$	$2,3^{b} \pm 0,2$
Sba0108	$3,1^{a} \pm 0,1$	$1,96^{b} \pm 0,15$	$1,86^{b} \pm 0,1$
Sba0208	$3,36^{a} \pm 0,15$	$2,46^{b} \pm 0,05$	$2,26^{b} \pm 0,15$
Msc0108	$3,86^{a} \pm 0,32$	$1,23^{b} \pm 0,25$	$1,03^{b} \pm 0,2$
Ad0108	$5,06^{a} \pm 0,11$	$3,83^{b} \pm 0,76$	$3,8^{b} \pm 0,76$
Mos0108	$4,06^{a} \pm 0,05$	$2,56^{b} \pm 0,4$	$2,56^{b} \pm 0,4$
Mos0208	$3,53^{a} \pm 0,25$	$2,63^{b} \pm 0,15$	$2,13^{b} \pm 0,25$
Msc0208	$3,46^{a} \pm 0,25$	$1,46^{b} \pm 0,2$	$1,56^{b} \pm 0,2$
Msc0308	$2,93^{a} \pm 0,11$	$1,3^{b} \pm 0,17$	$1,4^{b} \pm 0,1$
Msc0408	$7,5^{a} \pm 0,5$	$4,16^{b} \pm 0,76$	$4,26^{b} \pm 0,66$
At0208	$3,06^{a} \pm 0,11$	$2,06^{b} \pm 0,11$	$2,16^{b} \pm 0,21$
At0308	$3,43^{a} \pm 0, 2$	$2,26^{b} \pm 0,05$	$2,56^{b} \pm 0,15$
Rel0109	$5,06^{a} \pm 0,11$	$3^{b} \pm 0,5$	$3.5^{b} \pm 0,5$
Rel0209	$4,9^{a} \pm 0,36$	$3,1^{b} \pm 0,28$	$3,5^{b} \pm 0,2$
Rel0309	$4,06^{a} \pm 0,11$	$3,13^{b} \pm 0,11$	$3,15^{b} \pm 0,2$
F calculé		**19,55****	
C.V.		**05,3%**	

C.V. : Coefficient de variation ; * Effet Significatif (P≤0,05) ; ** Effet hautement significatif (P≤0,01) ; σ : Ecart type ; Moy : Moyenne.

Tableau 3 : Moyennes de croissance mycélienne (mm/j) des isolats d'A. rabiei confrontés indirectement avec *T. harzianum* et *T. viride* (Effet des substances volatiles).

Croissances mycéliennes (mm/j) (Moy ± σ)			
Isolats	**Témoin (mm/j)**	***A. rabiei confronté avec T. harzianum (mm/j)***	***A. rabiei confronté avec T. viride (mm/j)***
At0108	$3,33^{a} \pm 0,4$	$2,3^{b} \pm 0,26$	$2,4^{b} \pm 0,6$
Sba0108	$3,2^{a} \pm 0,1$	$1,94^{b} \pm 0,16$	$2,09^{b} \pm 0,26$
Sba0208	$3,76^{a} \pm 0,12$	$2,26^{b} \pm 0,10$	$2,96^{b} \pm 0,11$
Msc0108	$3,56^{a} \pm 0,32$	$1,25^{b} \pm 0,24$	$2.1^{b} \pm 0,1$
Ad0108	$5,17^{a} \pm 0,13$	$3,84^{b} \pm 0,74$	$4^{b} \pm 0,5$
Mos0108	$4,11^{a} \pm 0,06$	$2,61^{b} \pm 0,42$	$2,7^{b} \pm 0,45$
Mos0208	$3,63^{a} \pm 0,25$	$2,63^{b} \pm 0,20$	$2,65^{b} \pm 0,25$
Msc0208	$3,36^{a} \pm 0,25$	$1,36^{b} \pm 0,2$	$1,45^{b} \pm 0,25$
Msc0308	$3,0^{a} \pm 0,11$	$1,31^{b} \pm 0,16$	$1,5^{b} \pm 0,5$
Msc0408	$7,15^{a} \pm 0,5$	$4,19^{b} \pm 0,86$	$5^{b} \pm 0,5$
At0208	$3,16^{a} \pm 0,11$	$2,04^{b} \pm 0,12$	$2,4^{b} \pm 0,1$
At0308	$3,23^{a} \pm 0, 2$	$2,36^{b} \pm 0,15$	$2,46^{b} \pm 0,15$
Rel0109	$5,06^{a} \pm 0,11$	$3^{b} \pm 0,5$	$3.5^{b} \pm 0,5$
Rel0209	$5,9^{a} \pm 0,66$	$03,3^{b} \pm 0,28$	$03,5^{b} \pm 0,25$
Rel0309	$4,06^{a} \pm 0,11$	$2,50^{b} \pm 0,11$	$3^{b} \pm 0,5$
F calculé		**22,03****	
C.V.		**09,36%**	

C.V. : Coefficient de variation ; * Effet Significatif (P≤0,05) ; ** Effet hautement significatif (P≤0,01) ; σ : Ecart type ; Moy : Moyenne.

Tableau 04 : Effet antagoniste de *T. harzianum* et de *T. viride* sur la sporulation des isolats d'*A. rabiei.*

	Sporulation (Conidies/ml)			Sporulation Pycnides/cm^2		
	T. harzianum	*T. viride*	Témoin	*T. harzianum*	*T. viride*	Témoin
Concentration	8×10^2	10^3	10^5	79	82	200
F calculé	18,01**			15,8**		
C. V.	19,71%			16,17%		

C.V. : Coefficient de variation (%) ; ** Effet hautement significatif à 1% (P≤0,01).

DISCUSSION

Le potentiel des espèces de *Trichoderma* comme agent de lutte biologique contre les maladies des plantes a été identifié la première fois pendant les années 1930 (Howell, 2003). Pendant des années, l'antagonisme de *T. harzianum* a été étudié contre plusieurs maladies des plantes (Wells et al., 1972 ; Schirmbock et al., 1994 ; Elad et kapat, 1999 ; Yedidia et al., 1999 ; Harman, 2000 ; Sharon et al., 2001 ; Yedidia et al., 2001 ; Roco et Péres, 2001 ; Ozbay et Newman, 2004).

L'antagonisme qui existe entre les microoganismes peut être utilisé pour lutter contre les parasites phytopathogènes. Navas - Cortés (1992) et Naseby et al. (2000), ont rapporté que lorsqu'il ont enfouis le champignon *A. rabiei* dans un sol stérile il y a une production énorme de pycnides et de pseudothèces (forme sexuée) que dans un sol naturel ; il a conclu que le champignon est affecté par d'autres microorganismes saprophytes.

Wang et al. (2003) ont rapporté que le champignon antagoniste, *Trichoderma* viride influence le développement et la survie d'A. rabiei. La bactérie Rhizobium native produit un acide antifongique, qui limite le développement d'*A. rabiei* dans le sol (Khokhar et al., 2001). Au laboratoire, Dugan et al. (2005) ont trouvé que les deux formes, Ascochyta rabiei et Didymella rabiei sont inhibés par Aureobasidium pullulans et Clonostachys rosea. Ils ont signalé que l'antagoniste Trichoderma viride a la capacité d'inhiber la sporulation d'Ascochyta rabiei et les deux groupes de compatibilité du stade sexuel Didymella rabiei, MATI-1 et MATI-2.

Elad (2000) a signalé que *T. harzianum* attaque les champignons phytopathogènes par mycoparasitisme et production d'antibiotiques. Ce mycoparasitisme se fait à l'aide des appressoria qui se fixent à la surface des cellules des champignons parasites et sucrètent des enzymes spécifiques qui lysent les parois cellulaires des parasites (Harman et al., 2004 ; Almeida et al. 2007 ; De Jaeger et al. 2011). Kuçuk et al. (2007) ont démontré que les enzymes β1,3 glucanase et chitinase sont capables d'hydrolyser les parois cellulaires des champignons parasites.

L'antibiose est un autre mode d'antagonisme effectué par *T. harzianum* et *T. viride* par la sécrétion de substances volatiles comme les glio-viridines et les glio-toxines, substances qui jouent des rôles d'antibiotiques, capables d'inhiber le développement de plusieurs deutéromycètes phytopathogènes (Howell, 2003 ; Harman et al., 2004).

Strobel et al. (2011) ont rapporté que les deux antagonistes *T. harzianum* et *T. viride* libèrent plusieurs substances volatiles comme Benzene-Ethanol, acide butanoique, acide propanoique et acide hexadecanoique, qui ont un pouvoir inhibiteur important sur le développement de *Cercospora beticola*, agent responsable de la cercosporiose de la betterave (*Beta vulgaris*), de *Sclerotinia sclerotiorum*, agent de la pourriture blanche de la carotte (*Daucus carota*), et Colletotrichum lagenarum, agent de l'anthracnose du melon (*Cucumis melo*), et du concombre (*Cucumis sativus*).

CONCLUSION

Ce présent travail qui consiste à étudier l'effet antagoniste in vitro de *T. harzianum* et *T. viride* sur la croissance mycélienne et la sporulation des isolats d'*A. rabiei* a démontré un effet hautement significatif aussi bien pour la méthode dite de confrontation directe que pour celle des substances volatiles. En ce qui concerne les isolats confrontés directement, il y a un arrêt complet de la croissance mycélienne sous l'effet de ces deux antagonistes, cet arrêt est suivi par la création d'une zone d'inhibition dès le septième jour. Ces résultats indiquent qu'il y a un effet antagoniste effectué par les espèces des *Trichoderma* étudiées sur le développement mycélien d'*A. rabiei*. Pour la sporulation de l'agent phytopathogène, un taux d'inhibition remarquable a été observé (99%),

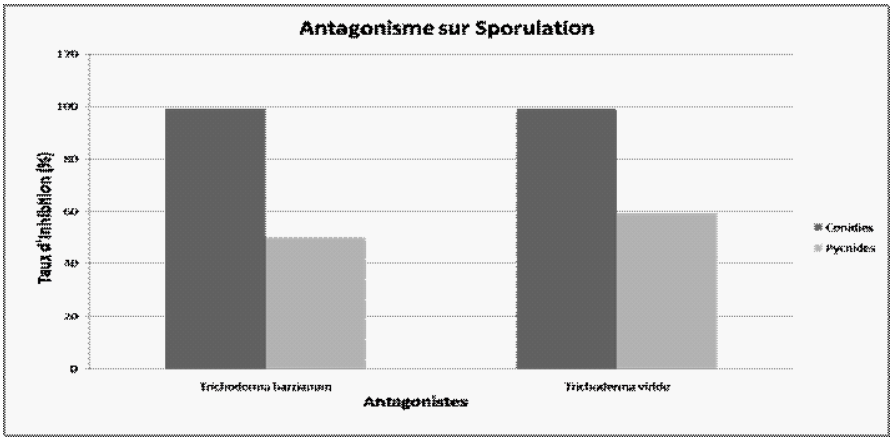

Fig.6: Taux d'inhibition (TI) de la sporulation d'A. rabiei sous l'effet des antagonistes *T. harzianum et T. viride.*

D'après ces travaux, il serait intéressant de mesurer l'effet antagoniste in situ de *T. harzianum* et de *T. viride* contre l'anthracnose sur les plantes de pois chiche ou sur semences comme traitement préventif à l'égard de l'inoculum primaire en vue d'inhiber la maladie.

Cette étude a montré l'importance des champignons antagonistes *T. harzianum* et *T. viride* contre *Ascochyta rabiei*. Ces résultats méritent d'être suivis afin d'avoir une réduction de l'incidence de l'anthracnose du pois chiche sur terrain, surtout pour le cas de notre pays où les cultivars les plus importants du pois chiche (ILC 482 (Chetoui), Flip 88-85 et ICC12-004) (Labdi, 1995), sont sensibles à l'anthracnose.

References

Almeida, F. B. D. R., Cerquiera, F. M., Silva, R. D. N., Ulhoa, C. J. et A.L. Lima. 2007. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. Biotechnoloy Letters 29 : 1189-1193.

Bouznad, Z., Maatougui, M E H. et M. Labdi. 1996. Importance et distribution géographique des maladies fongiques des légumineuses alimentaires en Algérie. In : Proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires, 11-14 Novembre 1996, Rabat (Maroc). Projet Mghrébin PNUD/RAB/91/007.

Chongo, G., Buchwaldt, L., Gossen, B. D., Lafon, G. P., May, W. E., Johnson, E. N. et T. Hogg. 2003. Foliar fungicides to manage ascochyta blight (Ascochyta rabiei) of chickpea in Canada. Canadian Journal of Plant Pathology 25 : 135-142.

Camporota, P. 1985. Antagonisme in vitro de *Trichoderma spp*. Vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kühn. Agronomie : 05 (7), 613-620.

De Jaeger, N., Providencia, I.E., Rouhier, H.et Declerck S. 2011. Co-entrapment of *Trichoderma harzianum* and *Glomus sp*. within alginate beads: impact on the arbuscular mycorrhizal fungi life cycle. Journal of Applied Microbiology 111 : 125-135.

Dolar, F. S., Tenuta, A. et V. J. Higgins. 1994. Detached leaf assay for screening chickpea for resistance to Ascochyta blight. Canadian Journal of Plant Pathology 16: 215 – 220.

Dugan, F. M., Lupien, S. L., Hernandez-Bello, M., Peever, T. L. et W. Chen. 2005. Fungi resident in chickpea debris and their suppression of growth and reproduction of Didymelle rabiei under laboratory conditions. Journal of Phytopathology (Berlin) 153 : 431-439.

Elad, Y. et A. Kapat. 1999. The role of *Trichoderma harzianum* protease in the biocontrol of Botrytis cinerea. European Journal of Plant pathology 105 : 177-189.

Elad, Y. 2000. Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. Plant Protection 19 : 709-714.

FAO. 2010. Production Yearbook 2009, vol.64. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

Gan, Y. T., Siddique, K. H. M., Mcleod, W. J. et P. Jayakumar. 2006. Management options for minimizing the damage by *Ascochyta blight* (*Ascochyta rabiei*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crops Res. 97 : 121-134.

Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol : changes in perceptions derived from research on Trichoderma harzianum T-22. Plant Disease 84 : 377-393.

Harman, G. E., Howell. C. R., viterbo, A., Chet, I. et M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature reviews – Microbiology 02 : 43-66.

Howell. C. R. 2003. Mechanisms employed by Trichoderma species in the biological control of plant diseases : the history and evolution of current concepts. Plant Disease 87 : 04-10.

ICARDA. 2003. Annual report of ICARDA 2003. International Center for the Agricultural research in the Dry Areas (ICARDA). pp. 33-36.

Jamil, F. F., Haq, I., Sarwar, N., Alam, S. S., Khan, J. A., Hanif, M., Khan, I. A., Sarwahr, M. et M. A. Haq. 2002. Screening of ten advanced chickpea lines for blight and wilt resistance. The Nucleus 39 (1-2): 95-100.

Kaiser, W. J., Ramsey, M. D., Makouk, K. M., Bretag, T. W., Acikgog, N., Kumar, J. et F. W. Jr. Nutter. 2000. Foliar diseases of cool season food legumes and their control. In : Knight, R. (ed.), Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21 st century. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. P. 437-455.

Khan, M. S. A., Ramsey, M. D., Corbière, R., Infantino, A., Porta – Puglia, A., Bouznad, Z. et E. S. Scott. 1999. Ascochyta blight of chickpea in Australia : Identification, pathogenicity and mating – type. Plant Pathology 48 : 230-234.

Khokhar, S. N., Khan, M. A. et M. F. Chaudri. 2001. Some characters of chickpea – nodulating Rhizobia native to thal soil. Pakistan Journal of Biological Sciences 04 : 1016-1019.

Küük Ç. et Kivan M. 2003. Isolation of *Trichoderma spp*. and their antifungal, biochemical and physiological features. Turk. J. Biol. 27: 247-253.

Kuuk, Ç., Kivan, M., Kinaci, E. et G. Kinaci. 2007. Efficacy of *Trichoderma harzianum* (Rifaii) on inhibition of ascochyta blight disease of chickpea. Annals of Microbiology 57 : 665-668.

Labdi, M. 1995. Etude de la résistance à l'anthracnose (*Ascochyta rabiei*) chez le pois chiche (Cicer arietinum L.). Thèse de Doctorat, ENSA de Montpellier, France. 143p.

Mabsoute, L., Meskine, M., Bouznad, Z. et M. Kharrat. 1996. Résultats des surveillances sur les maladies cryptogamiques des principales légumineuses alimentaires dans le Maghreb. pp : 43-50. In : Proceeding du symposium régional sur les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires, 11-14 Novembre 1996, Rabat (Maroc). Projet Mghrébin PNUD/RAB/91/007.

Naseby, D. C., Pascual, J.A. et Lynch, J.M. 2000. Effect of biocontrol strains of Trichoderma on plant growth, Pythium ultimum populations, soil microbial communities and soil enzyme activities. Journal of Applied Microbiology 88 : 161–169.

Navas-Cortés, J. A. 1992. El teleomorfo de Ascochyta rabiei en Espana ; Detection desarrollo y papel en la epidemiologia de la rabia del garbonzo (*Cicer arietinum* L.). Thèse de Ph. D. , Université de Cordoba, Cordoba, Espagne.

Ozbay, N. et S.E. Newman. 2004. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. Acta Horticulture 635 :131-135.

Roco, A. et L.M. Péres. 2001. In vitro biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. EJB Electronic Journal of Biotechnology 04 :68-73.

Schirmbock, M., Lorito, M., wang, Y. L., Hayes, C. K., Arisan-Atlac, I., Scala, F., Harman, G. E. et C. P. Kubicek. 1994. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of Trichoderma harzianum against phytopathogenic fungi. Appl. Environ. Microbiol. 60 : 4364-4370.

Shahid, A. A., Husnain, T. et S. Riazuddin. 2008. Ascochyta blight of chickpea: Production of phytoalexins and disease management. Biotechnology Advances 26: 511-515.

Sharon, E., Bar-Eyal, M., chet, I., Herra-Estrella, A., Kleifeld, O. and Y. Spiegel. 2001. Biological control of the root-knot nematode Meloidogyne javanica by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 91 : 687-693.

Strobel, G., Singh, S. K., Riyaz-Ul-Hassan, S., Mitchell A.M., Geary B. et Sears, J. 2011. An endophytic/pathogenicPhoma sp. fromcreosote bush producing biologically active volatile compounds having fuel potential. FEMS Microbiol. Letters 320 : 87–94.

Wang, H., Hwang, S. F., Chang, K. F., Turnbull, G. D. et R. J. Howard. 2003. Suppression of impor-

tant pea diseases by bacterial antagonists. Biocontrol Dordrecht 04 : 447-460.

Wells, H. D., Bell, D. K. et C. A. Jaworski. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for Sclerotium rolfsii. Phytopathology 62 : 442-447.

Yedidia, I., Benhamou, N. et I. Chet. 1999. Induction of defense reponses in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent Trichoderma harzianum. Appl. Environ. Microbiol. 65 : 1061-1070.

Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y. et I. Chet. 2001. Effect of Trichoderma harzianum on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. Plant Soil 235 : 235-242.

Zikara-Zine, F. et Z. Bouznad. 2007. Virulence et groupes de compatibilité dans les isolats d'Ascochyta rabiei en Algérie. INRAAlgérie - Recherche Agronomique N° 19 : 48 – 55.