

Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Pyricularia oryzae*

Mouria A.¹, Ouazzani Touhami A.¹, Douira A.¹, Benkirane R.¹, Mlaiki A.², El Yachioui M.³

¹ Laboratoire de botanique, Faculté des sciences de Kénitra, Maroc

² Département de protection des végétaux, INRAT, Tunisie

³ Laboratoire de microbiologie, Faculté des sciences de Kénitra, Maroc

Résumé

Dans cet article, on a mesuré pour chaque espèce ou souche de Trichoderma, sa capacité à envahir les colonies de Pyricularia oryzae, agent pathogène du riz, ainsi que ses modes d'action : mycoparasitisme, émission des substances inhibitrices non volatiles et volatiles. En confrontation directe, les Trichoderma testés inhibent de 89 à 100 % la croissance de Pyricularia oryzae et certains d'entre eux montrent un mycoparasitisme de l'ordre de 60 à 75 %. Les substances volatiles ou diffusibles produites par les Trichoderma inhibent également la croissance du pathogène. Cette inhibition est variable et dépend de l'antagoniste testé.

Mots clés : *Pyricularia oryzae*, riz, *Trichoderma*, confrontation, mycoparasitisme, substances volatiles et non volatiles

Abstract: Antagonism *In vitro* of *Trichoderma* species against *Pyricularia oryzae*

In this study, we have measured for each species of Trichoderma, its ability to invade the colonies of Pyricularia oryzae rice pathogenic fungi, and its antagonism mechanisms : mycoparasitism and release of volatile or non volatile compounds. In direct confrontation, The Trichoderma tested inhibit 89 to 100 % the growth of the pathogen. A number of them showed a mycoparasitism between 60 and 75 %. The volatile and non volatile compounds produced by Trichoderma inhibit the growth of the pathogen as well. This inhibition is variable and depends on the antagonistic tested.

Key words: *Pyricularia oryzae*, *Trichoderma* sp, mycoparasitism, volatile compound, non volatile compound

ملخص : تأثير بعض أنواع الطريكوذيما في الوسط الاصطناعي على نمو بيريكيلاريا أوريزا

1. مورية 1، وزاني توهامي 1، ع. ادوية 1، ا. حموني 1، ا. مالكي 2 و م. يشوي 3

1 : كلية العلوم، القنيطرة، المغرب

2 : المعهد الوطني للبحث الزراعي، تونس

3 : كلية العلوم، القنيطرة، المغرب

في هذا البحث، قمنا بدراسة قدرة بعض أنواع الطريكوذيما على منع وكبح نمو البيريكيلاريا في الوسط الإصطناعي و ذلك باستعمالها للتضاد الفطري و إفرازات المواد المضادة المتبخرة و الغير المتبخرة. في المواجهة المباشرة، أنواع الطريكوذيما المدروسة منعت من 98 إلى 100% نمو بيريكيلاريا أوريزا و بعضها أظهر تضادا فطريا بنسبة 60 إلى 75%. المواد المتبخرة و الغير المتبخرة منعت أيضا نمو الفطر المتطفل بنسب مختلفة حسب المضاد المستعمل.

الكلمات المفتاحية : بيريكيلاريا أوريزا، أرز، طريكوذيما، تضاد فطري، مواد متبخرة و غير متبخرة

Introduction

Jusqu'à nos jours, la lutte chimique et biologique contre la pyriculariose du riz causée par *Pyricularia oryzae*, n'ont jamais été envisagées dans les rizières marocaines (Douira *et al.* 1993 ; El oirdi *et al.* 1995). En prenant en considération les limites des méthodes de lutte chimique, culturale et génétique contre la pyriculariose (Touze 1979 ; Venkatarao et Muralidharan 1982 ; Vales 1983 ; El Oirdi *et al.* 1995), la lutte biologique s'avère de nos jours de plus en plus indispensable et prometteuse (Lepoivre et Semal 1989 ; Ouazzani Touhami 1995). Ce moyen de lutte fait appel surtout à l'exploitation de l'antagonisme de certaines espèces fongiques comme les *Trichoderma* (Dennis et Webster 1971 a, b et c ; Elad *et al.* 1980 ; Ouazzani Touhami *et al.* 1995).

Sy *et al.* (1983, 1984 et 1991) ont étudié la possibilité d'utilisation des souches antagonistes des micromycètes pour lutter contre la pyriculariose. Sy (1987) a testé certains micro-organismes pour leur capacité à inhiber le développement du mycélium et des conidies de *P. oryzae*. L'association, par exemple, de *Myrothecium verrucaria* et *Trichoderma viride* provoque 100 % d'inhibition de la croissance mycélienne de *P. oryzae*.

Dans cette étude, nous avons évalué le comportement in vitro de *P. oryzae* face à l'antagonisme de certaines espèces de *Trichoderma* en confrontation directe, ainsi que l'incidence de certains modes d'action, définis par Dennis et Webster (1971a) et repris par Camporota (1985) : Mycoparasitisme et antibiose, dans le phénomène d'antagonisme.

Matériel et méthodes

L'isolat Fk1 de *P. oryzae* étudié a été obtenu à partir d'une lésion foliaire d'une plante malade du riz (variété Kenz). Cet isolat est très pathogène sur le riz (El Oirdi *et al.* 1995).

Six souches de *Trichoderma* ont été utilisées pour tester leur capacité antagoniste vis-à-vis de *P. oryzae*. *T. viride* 1, *T. viride* 2 et *T. harzianum* 20 sont fournis par le laboratoire de Cryptogamie-Bactériologie de l'INRAT (Tunisie). *T. viride* 3 provient du mycothèque du laboratoire de Botanique, Université Ibn Tofail, Kénitra (Maroc). *T. harzianum* et *T. orsan* sont fournis par le Laboratoire de biochimie et de pathologie végétale, Université Pierre et Marie Curie (France).

Les mesures des phénomènes d'antagonisme ont été réalisées par la confrontation directe du pathogène avec l'antagoniste et par l'estimation des modes d'action des espèces antagonistes à savoir : Le mycoparasitisme, la production des substances volatiles et diffusibles.

Pour la confrontation directe pathogène-antagoniste, des disques mycéliens de 5 mm de diamètre prélevés à partir des cultures de chacun des protagonistes (pathogène - antagoniste) de façon diamétralement opposée, à 40 mm l'un de l'autre. Les boîtes de Pétri contiennent le milieu Misato Hara (20 g d'amidon, 2 g d'extrait de levure, 15 g d'agar et 1000 ml d'eau distillée) favorable à la croissance de *P. oryzae* et des antagonistes (Benkirane *et al.* 1994 ; Benkirane 1995). Les cultures sont incubées à l'obscurité, à une température de 28 °C pendant dix jours. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène par les antagonistes est évalué, en pourcentage, selon la formule suivante :

$$I = \frac{DP - DPA}{DP} \times 100$$

Où DP est la croissance diamétrale du pathogène seul, et DPA est la croissance du pathogène en présence de l'antagoniste

Chaque combinaison fait l'objet de cinq répétitions disposées en bloc complètement aléatoire.

Dans les boîtes de Pétri où sont réalisées les confrontations directes, on observe sous microscope la zone d'interpénétration des deux colonies afin d'estimer, pour chaque combinaison, l'intensité du phénomène d'enroulement des hyphes de *Trichoderma* sur ceux du pathogène testé (Camporota 1985).

On attribue à chaque combinaison une note de mycoparasitisme suivant une échelle arbitraire : 0 : pas d'enroulement ; 25 : enroulements faibles ; 50 : enroulements moyens ; 75 : enroulements intenses ; 100 : enroulements très intenses (Camporota 1985).

Pour mettre en évidence la production des substances volatiles, on a adopté la technique de Dennis et Webster (1971b) qui consiste à repiquer *P. oryzae* et les antagonistes sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Misato-Hara. Après ce repiquage, les couvercles des boîtes sont enlevés, puis le fond de chaque boîte contenant le pathogène testé est renversé sur celui contenant l'antagoniste et l'ensemble est étroitement fermé avec un ruban de cellophane. Pour les témoins, les boîtes contenant le pathogène sont renversées sur celles contenant le milieu de culture seul. Les deux boîtes sont aussi maintenues accolées à l'aide de cellophane. Toutes les boîtes sont ensuite incubées à l'obscurité et à 28 °C pendant quatre jours. L'inhibition de la croissance mycélienne est ensuite estimée en pourcentage par rapport au témoin.

Quant à la mise en évidence de la sécrétion des substances diffusibles par les antagonistes, on a utilisé la technique de Dennis et Webster (1971a) qui consiste à recouvrir le milieu de culture par une feuille de cellophane stérile. 24 heures après, un disque mycélien de 5 mm de diamètre est prélevé sur une culture de l'antagoniste âgée de six jours et placée au centre de la surface de cellophane. Au bout de 48 h d'incubation à l'obscurité et à 28 °C, la membrane de cellophane et la colonie de *Trichoderma* adhérente sont retirées et remplacées par un disque mycélien du pathogène à tester, de même taille et de même âge que le disque de *Trichoderma*. Les boîtes témoins sont ensemencées par des disques mycéliens de l'isolat pathogène seul, placé directement sur le milieu.

La mesure du diamètre des colonies, après six jours d'incubation, permet de calculer le pourcentage d'inhibition de la croissance des colonies des isolats pathogènes. L'expérience est répétée cinq fois.

Les résultats sont analysés statistiquement selon le test P.P.D.S (la plus petite différence significative) qui porte sur les transformations Arcsin.

Résultats et discussion

Les espèces de *Trichoderma* présentent une action antagoniste à l'encontre de *P. oryzae* (tableau 1). Il en découle donc que l'inhibition de la croissance mycélienne de *P. oryzae* est presque totale en présence des espèces antagonistes testées. Les pourcentages d'inhibition varient entre 89 et 100 %.

Tableau 1. Inhibition de la croissance mycélienne de l'isolat FK1 de *Pyricularia oryzae* par les espèces antagonistes de *Trichoderma*

Antagonistes	TV 2	TV 1	TH 20	TH	TV 3	TO
Pourcentage d'inhibition I (en %)	100 a	100 a	100 a	99,48 a	94,1 b	89,3 b

Les résultats de la même ligne ayant la même lettre, ne diffèrent pas significativement entre eux au seuil de 5 %

A l'exception de *T. orsan*, toutes les espèces de *Trichoderma* se sont conduites en mycoparasites du pathogène testé (tableau 2). Ainsi, les espèces antagonistes produisent des hyphes ayant une tendance à s'enrouler autour de ceux de l'agent pathogène. La technique de Camprota (1985) nous a permis de mettre en évidence une vacuolisation cytoplasmique des hyphes de *P. oryzae*. Parfois, on peut observer des appressoria permettant la pénétration des mycoparasites.

T. harzianum et *T. harzianum* 20 ont montré respectivement un mycoparasitisme de l'ordre de 75 et 60. *T. viride* 2, 1 et 3, présentent des enroulements plus faibles qui sont respectivement de l'ordre de 35, 25 et 10.

On note que *T. orsan* n'agit pas par ce mode d'action sur *P. oryzae*, puisqu'il n'y a aucune interpénétration entre les hyphes

L'aptitude des espèces du genre *Trichoderma* à agir en mycoparasites a été prouvée par plusieurs travaux (Elad *et al.* 1982 ; Elad *et al.* 1983 ; Ridout *et al.* 1988). La mise en évidence d'un tel comportement est fonction des conditions physico-chimiques de la confrontation : Milieu de culture, température, pH...etc. (Ridout *et al.* 1988).

Les différentes étapes du mycoparasitisme ont été largement évoquées par divers auteurs (Chet *et al.* 1981 ; Chet 1990 ; Elad 1993). L'antagoniste commence à développer des hyphes en direction de ceux du pathogène. Par la suite, il y a contact, enroulement et enfin pénétration.

Il est à noter que la dégradation cytoplasmique peut précéder la pénétration de l'antagoniste (De Oliveira *et al.* 1984) par la mise en jeu d'enzymes telles que les chitinases, les B-1,3 glucanase et les protéases (Artigues et Davet 1984 ; Ridout *et al.* 1988).

Les isolats de *Trichoderma* diffèrent significativement dans la production des métabolites volatiles qui inhibent la croissance du pathogène testé (tableau 2). Le degré d'inhibition de la croissance mycélienne de *P. oryzae* le plus important est noté en présence de *T. viride* 1 (77,6 %) et est le plus faible en présence de *T. viride* 2 (17 %).

Les isolats *T. viride* 2, *T. viride* 3, *T. viride* 1 et *T. harzianum* diffèrent significativement des isolats *T. orsan* et *T. harzianum* 20 quant à la production des substances diffusibles (tableau 2). Les pourcentages d'inhibition de la croissance mycélienne de *P. oryzae* induits par les quatre premiers sont de l'ordre de 85 %, 81.4 %, 74.7 %, et 72.7 %, alors que ceux induits par les deux derniers antagonistes ne sont que de 58.04 % et 54.8 %.

Tableau 2. Effet des différents modes d'action des antagonistes sur la croissance mycélienne de *Pyricularia oryzae*

Antagonistes	Note de mycoparasitisme	Inhibition par les substances volatiles en %	Inhibition par les substances diffusibles en %
<i>T. viride</i> 2	35	16,99 d	83,1 a
<i>T. viride</i> 1	25	77,66 a	74,73 a
<i>T. harzianum</i> 20	60	58,99 b	54,83 b
<i>T. harzianum</i>	75	63,16 b	72,74 a
<i>T. viride</i> 3	10	34,96 c	81,45 a
<i>T. orsan</i>	0	40,33 c	58,03 b

Sur la même colonne, deux résultats ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %, s'ils ne sont affectés d'aucune lettre en commun.

La production de métabolites antifongiques et d'autres composés inhibiteurs par les *Trichoderma*, tels que l'alkylpyrone a été rapportée par Dennis et Webster (1971a et b), Tronsmo et Dennis (1978), Bell *et al.* (1982), Papavizas (1985) et Claydon *et al.* (1987). Les *Trichoderma* produisent aussi des enzymes dégradant les parois cellulaires des champignons pathogènes (Chet *et al.* 1981 ; Elad *et al.* 1982, 1983).

Dennis et Webster (1971b) ont mis en évidence que les *Trichoderma* produisent plus qu'un métabolite volatile actif et ont identifié l'acétaldehyde comme un des inhibiteurs utilisés par *T. viride*. Hadar *et al.* (1979) et Elad *et al.* (1980) ont montré que *T. viride* produit le B-1,3 glucanase et la chitinase qui sont capables de solubiliser les hyphes de *Rhizoctonia solani*.

Pour connaître la liaison qui peut exister entre le mycoparasitisme, la sécrétion des substances diffusibles et celle des métabolites volatiles lors de la confrontation du pathogène et les différents antagonistes, des corrélations ont été recherchées entre ces différents paramètres au moyen d'un programme de régression linéaire. Ainsi, les résultats obtenus (Figures 1, 2, 3) ont montré que les valeurs du mycoparasitisme (M), de l'inhibition par la sécrétion des substances diffusibles (ISSD) et de celle par la sécrétion des substances volatiles (ISSV) sont positivement et significativement liées entre elles.

Ces résultats indiquent également que ces modes d'action peuvent intervenir ensemble dans le phénomène d'antagonisme.

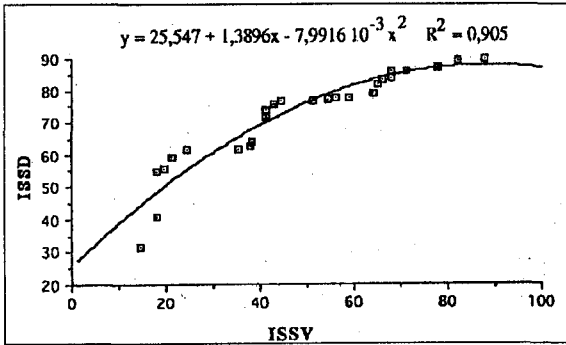


Figure 1. Corrélation entre les valeurs de l'inhibition de *P. oryzae* par les substances diffusées (ISSD) dans le milieu de culture et celles de l'inhibition par les substances volatiles (ISSV)

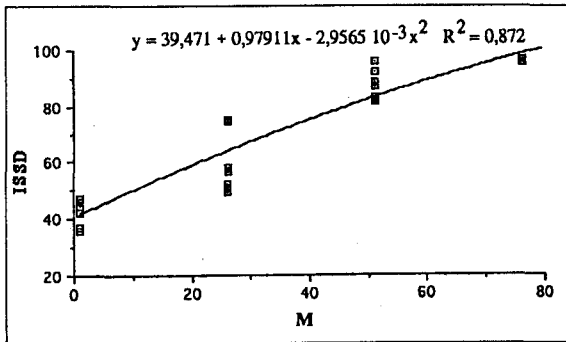


Figure 2. Corrélation entre les valeurs de l'inhibition de *P. oryzae* par les substances diffusées (ISSD) dans le milieu de culture et celles du mycoparasitisme

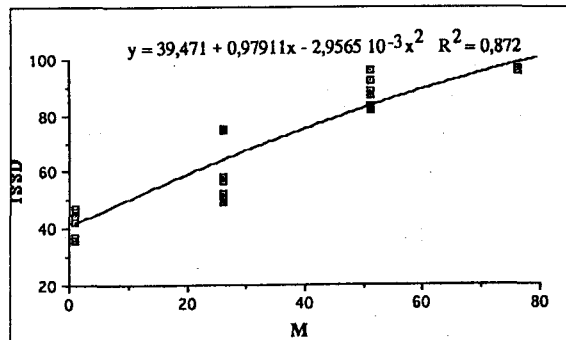


Figure 3. Corrélation entre les valeurs de l'inhibition de *P. oryzae* par les substances volatiles (ISSV) et celles du mycoparasitisme

Conclusion

L'ensemble des recherches effectuées sur l'antagonisme fongique des *Trichoderma* a montré l'efficacité de toutes les espèces de ce genre sur l'inhibition de la croissance mycélienne de *P. oryzae*, mais à des degrés variables et par le biais de plusieurs mécanismes, à savoir le mycoparasitisme et l'antibiose. Cependant, une variation considérable est notée quant à l'efficacité des modes d'action des différentes espèces et souches de *Trichoderma* vis-à-vis du parasite testé. Ceci est en accord avec les résultats de Dennis et Webster (1971a, b et c) et Tong-Kwee et Boon Keng (1990). En effet, chacune des espèces antagonistes possède une aptitude particulière pour éliminer l'agent pathogène.

Le test de confrontation est utilisé pour évaluer l'aptitude des germes antagonistes à la compétition pour l'espace (Mukerji et Garg 1988). Nos résultats ont montré que la croissance et la densité des deux protagonistes sont négativement affectées lorsque ces deux derniers sont confrontés. Cultivés séparément et dans les mêmes conditions, les protagonistes ont une croissance beaucoup plus importante. Mais il est difficile de circonscrire le mécanisme de compétition des points de vue qualitatif et quantitatif (Sy *et al.* 1991), car la production des antibiotiques et des enzymes lytiques peut former une partie importante du processus général de l'antagonisme.

De même, les résultats de la mise en évidence du phénomène d'antibiose ont montré qu'il y a une inégalité d'aptitude à la production de métabolites volatiles et diffusibles aussi bien par les différentes espèces que par les souches d'une même espèce de *Trichoderma*. La corrélation existante entre la vitesse de croissance de l'antagoniste et l'activité antagoniste n'est pas toujours vérifiée dans la mesure où l'inhibition du pathogène est liée à l'existence de métabolites dont la production, selon Moustapha *et al.* 1992, n'est pas nécessairement corrélée positivement avec la croissance.

Concernant le phénomène de mycoparasitisme, les *Trichoderma* retenus pour notre étude, excepté *T. orsan*, se sont révélées capables de parasiter les hyphes de *P. oryzae* avec une nette performance des deux souches de *T. harzianum*. Ainsi, nous avons observé l'enroulement de leurs hyphes autour de ceux de *P. oryzae*, ce qui est en accord avec les résultats de Barnett (1963), Boosalis (1964) ; Hadar *et al.* (1979), Harman *et al.* (1980), Chet *et al.* (1981), Alexander (1982) et Elad *et al.* (1983). Nous avons aussi noté une vacuolisation cytoplasmique des hyphes du pathogène. Ce phénomène a été rapporté par plusieurs auteurs, entre autres Dennis et Webster (1971c), Elad *et al.* (1982), Tong-Kwee et Boon-keng (1990) et Elad (1993), ainsi que l'existence, parfois d'appressoria. Walker et Maude (1975) ont observé des appressoria quand *Gliocladium roseum* vient au contact de *Botrytis alii*, le même phénomène a été observé pour *Gliocladium virens* sur *Rhizoctonia solani* (Howell 1982).

L'étude des corrélations entre les mécanismes d'antagonisme, permet de conclure que les différents modes d'action peuvent intervenir conjointement en partie ou en totalité avec prééminence d'un ou de plusieurs d'entre eux, ceci est en accord avec les résultats de Dennis et Webster (1971a et b) ; et Tronsmo et Dennis (1978).

Références bibliographiques

- Alexander M. (1982). Introduction to Soil Microbiology. Wiley, New York, 467 p.
- Artigues M. et Davet P. (1984). Comparaison des aptitudes parasitaires de clones de *Trichoderma* vis-à-vis de quelques champignons à sclérotés. *Soil Biol. Biochem.*, **5**: 413-417.
- Barnett H. L. (1963). The nature of mycoparasitism by fungi. *Annu. Rev. Microbiol.*, **17**:1.
- Bell D.K., Wells H. D. et Markham C.R. (1982). In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal pathogens. *Phytopathology*, **72**: 379-382.
- Benkirane R., El Oirdi M., Bouslim F., Ouazzani Touhami A., Douira A., Karmoussi M., Fadli M. et El Haloui N. E. (1994). Study of the fungi flora associated with the rice seed in Morocco. Fifth Arab Congress of Plant Protection, Fez, 27 November 2nd December, p: 47.
- Benkirane R. (1995). Contribution à l'étude des maladies du riz au Maroc : Cas de la pyriculariose due à *P. oryzae*. Thèse de 3^e Cycle, Université Ibn Tofail, Faculté des sciences de Kénitra, Maroc, 189 p.
- Boosalis M.G. (1964). Hyperparasitism. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **2**: 263.
- Camporota P. (1985). Antagonisme *in vitro* de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Agronomie*, **5** (7): 613-620.
- Chet I., Harman G.E. et Baker R. (1981). *Trichoderma hamatum* : Its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microbial Ecology*, **7**: 29-38.
- Chet I. (1990). Mycoparasitism - recognition, Physiology and Ecology in: New Directions in Biological Control : Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases, 725-733.
- Claydon N., Allan M., Hanson J.R. et Avent A.G. (1987). Antifungal alkyl pyrones of *Trichoderma harzianum*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **88**: 503-513.
- De Oliveira V., Bellei M. et Borges A.C. (1984). Control of white rot of garlic by antagonistic fungi under controlled environmental conditions. *Can. J. of Microbiol.*, **30**: 884-889.
- Dennis C. et Webster J. (1971a). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma I*. Production of non volatil antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **57**: 25-39.
- Dennis C. et Webster J. (1971b). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma II*. Production of volatils antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **57**: 41-48.
- Dennis C. et Webster J. (1971c). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma III*. Hyphal interaction. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **57**: 363-369.
- Douira A., El Oirdi M., Benkirane R., Khettabi N. et Elhaloui N. E. (1993). Etude de l'efficacité *in vitro* de quelques fongicides sur la croissance de quelques souches marocaines de *Pyricularia oryzae*. Journées nationales de protection des plantes, Rabat, 1-2 Décembre, p: 33.
- EL Oirdi M., Douira A. Benkirane R., Ouazzani-Touhami A., Mouslim J., Bouslim F., Karmoussi M., El Hassani N. et El Haloui N. E. (1995). Comparaison du caractère pathogène de quelques isolats marocains de *Pyricularia oryzae* vis-à-vis de certaines variétés de riz. *Rev. Rés. Amélio. Prod. Agr. Milieu Aride*, **7** : 231-240.
- Elad Y., Chet I. et Katan J. (1980). *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, **70**: 119-121.
- Elad Y., Chet I. et Henis Y. (1982). Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Can. J. Microbiol.*, **28**: 719-725.
- Elad Y., Barak K.R. et Chet I. (1983.) Possible role of lectins in mycoparasitism. *Journal of Bacteriology*, **154**: 1431-1435.

- Elad Y. (1993). Mycoparasitism in : Pathogenesis and host specificity in Plant Diseases. Vol. 2. U.S. Singh, K. Kumoto et R. P Singh, eds. *Pergamon Publishers*, 289-307.
- Hadar Y., Chet I. et Henis Y. (1979). Biological control of *Rhizoctonia solani* damping-off with wheat bran culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, **69**: 64-68.
- Harman G.E., Chet I. et Baker R. (1980). *Trichoderma hamatum* effects on seed and seedling disease induced in radish and pea by *Pythium spp.* or *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, **70**: 1167.
- Howell C.R. (1982). *Gliocladium virens* on *pythium ultimum*. *Rhizoctonia solani* and damping off of cotton seedlings. *Phytopathology*, **72**: 496.
- Lepoivre P. et Semal J. (1989). La lutte biologique en phytopathologie. P : 465-487 in : *Traité de pathologie végétale*, J. Semal, ed. Press agronomique de Gembloux, Belgique.
- Moustafa M.M., Barrault G. et Albertini L. (1992). Lutte biologique contre *Drechslera teres* : Action *in vitro* de microorganismes antagonistes sur la croissance mycélienne et la germination. *Crypt. Mycol.*, **13** : 125-133.
- Mukerji K.G. et Garg K.L. (1988). Biocontrol of plant diseases, vol 2. CRC Press. Boca Raton. FL., 198p.
- Ouazzani Touhami A. (1995). Contribution à l'étude de la mycoflore rhizosphérique de la tomate dans la region du Gharb. Application de la lutte biologique contre la verticilliose. Thèse de 3^e Cycle, Université Ibn Tofail, Faculté des sciences de Kénitra, 122 p.
- Papavizas G.C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biological control. *Ann. Rev. Phytopathol.*, **23**: 23-54.
- Ridout C.J., Coley-Smith J.R. et Lynch J.M. (1988). Fractionation of extracellular enzymes from a mycoparasitic strain of *Trichoderma harzianum*. *Enzyme. Microbial Technology*, **10**: 180-187.
- Sy A.A., Norng K., Albertini L. et Barrault G. (1983). Recherche sur la lutte biologique contre *Pyricularia oryzae* Cav. III. Influence de la température sur l'aptitude des germes antagonistes à inhiber la croissance mycélienne du parasite. *Crypt. Mycol.*, **4**: 245-249.
- Sy A.A., Norng K., Albertini L. et Petitprez M. (1984). Recherches sur la lutte biologique contre *Pyricularia oryzae* cav. IV. Influence du pH sur l'aptitude des germes antagonistes à inhiber *in vitro* la croissance mycélienne du parasite. *Crypt. Mycol.*, **5** : 59-65.
- Sy A.A., Albertini L. Molleti M. et Hamant C.I. (1991). Mécanismes potentiels régissant le contrôle biologique des agents phytopathogènes. *Crypt. Mycol.*, **12** : 133-147.
- Tong-Kwee L. et Boon-Keng T. (1990). Antagonism *in vitro* of *Trichoderma* species against several basidiomycetous soil-borne pathogens and *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, **97**, **1**: 33-41.
- Touze A. (1979). Les moyens de défense des plantes. Les relations hôte-parasite. *Bull. Soc. Bot.*, **4** : 103-110.
- Tronsmo A. et Dennis C. (1978). Effect of temperature on antagonistic properties of *Trichoderma* species. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **71**: 469-474.
- Vales M. (1983). Des connaissances sur les relations hôte-parasite aux stratégies de lutte contre la pyriculariose du riz. Thèse de Doc. 3^e cycle Université Paris sud Orsay. 310p.
- Venkatarao G. et Muralidharan K. (1982). Effect of meteorological condition on the incidence and progress of blast disease on rice. *Z. Pflanzenkr Pflanzen chutz*, **89** (4): 219-223.
- Walker J.A. et Maude B.B. (1975). Natural occurrence and growth of *Gliocladium roseum* on the mycelium and sclerotia of *Botrytis allii*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, **65**: 335.