



Available online at <http://www.ifg-dg.org>

Int. J. Biol. Chem. Sci. 10(2): 769-778, April 2016

ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print)

International Journal
of Biological and
Chemical Sciences

Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Influence *in vitro* de divers facteurs abiotiques (température, pH, salinité) sur la croissance mycélienne de trois souches locales de *Trichoderma* sp.

Ndiougou GUEYE^{1,2*}, Mame Arama FALL NDIAYE¹, Bathie SARR¹,
Dieynaba SALL SY² et Tahir A. DIOP¹

¹Laboratoire de Biotechnologies des Champignons, Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences & Techniques, Université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar Fann, Sénégal.

²Institut Sénégalais de Recherche Agricole, Centre pour le Développement de l'Horticulture BP. 2619, Dakar, Sénégal.

*Auteur correspondant, E-mail : mamendiogou@hotmail.fr; lbc@ucad.sn;

Tel. : +221777130493, +221338646658;

REMERCIEMENTS

Nous remercions le PPAAO/WAAPP pour l'allocation octroyée pour la réalisation de ce travail.

RESUME

Les *Trichoderma* sont des champignons imparfaits saprophytes que l'on retrouve dans divers milieux comme le sol, le bois mort, les débris des végétaux et les organes aériens des plantes. Ils ont un rôle phytoprotecteur et stimulateur du développement des plantes associées. L'effet de différents facteurs abiotiques (température, pH, salinité) sur la croissance mycélienne de trois souches locales de *Trichoderma* a été évalué. Ces souches ont été isolées à partir de la rhizosphère de la tomate. Une étude préliminaire a été effectuée sur quatre milieux de culture (PDA, MEA, SB et DOX) pour la sélection du milieu d'étude. Les résultats obtenus montrent que le milieu PDA permet une meilleure croissance des souches de *Trichoderma*. La température optimale de croissance des différentes souches est de 29 °C et le pH 5 se révèle être le plus adéquat pour la culture des *Trichoderma*. Cette étude montre également que les souches de *Trichoderma* résistent à des concentrations de sel (NaCl) allant jusqu'à 3%.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés: *Trichoderma*, facteurs limitant, température, pH, salinité, milieu de culture.

***In vitro* influence of various abiotic factors (temperature, pH, salinity) on mycelium growth of three local strains of *Trichoderma* sp.**

ABSTRACT

Trichoderma are saprophytic imperfect fungi that are found in various environments such as soil, dead wood, vegetable fragments and plant aerial organs. They protect and stimulate development of related plants. Effects of various abiotic factors (temperature, pH, salinity) on mycelium growth of three local *Trichoderma* strains were investigated. These strains were isolated from tomato rhizosphere. A preliminary study was performed on four culture media (PDA, MEA, SB and DOX) for the selection of the best media. The results

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.
DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v10i2.26>

2651-IJBSC

showed that PDA medium was highly growth of *Trichoderma* strains. The optimum temperature for growth of different strains is 29 °C and pH 5 was found to be most suitable for *Trichoderma* culture. Indeed, *Trichoderma* strains resistant to salt concentrations (NaCl) up to 3%.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: *Trichoderma*, limiting factors, temperature, pH, salinity, culture media.

INTRODUCTION

Au Sénégal, les champignons pathogènes causent d'importantes pertes de rendements dans le domaine des cultures maraîchères et ornementales. Les méthodes conventionnelles utilisées pour lutter contre ces pathogènes sont basées sur l'utilisation abusive de produits chimiques nuisibles à l'environnement. Afin de pallier à ces pratiques néfastes, les champignons antagonistes du genre *Trichoderma* peuvent être utilisés pour lutter contre ces pathogènes et réduire l'utilisation des pesticides. Les *Trichoderma* sont très efficaces pour la lutte contre les maladies racinaires et aériennes des plantes mais aussi pour la dégradation de composés toxiques présents dans les sols (Singh et al., 2014 ; Kamala et Indira Devi, 2012). La présence de *Trichoderma* dans le sol joue à la fois un rôle préventif et curatif (Harman et al., 2004; Singh et al., 2007). Les sols inoculés par ces champignons protègent les cultures et garantissent un milieu sain pour un développement normal de la végétation (Harman, 2000, Mouria et al., 2007). En effet, diverses souches de *Trichoderma* secrètent de multiples enzymes, antibiotiques, hormones qui sont utiles pour la croissance des plantes. Grâce à leurs nombreuses propriétés antagonistes vis-vis des champignons pathogènes (antibiose, mycoparasitisme, compétition), l'utilisation de ces microorganismes peut permettre une réduction de l'utilisation abusive des traitements chimiques pour une agriculture plus respectueuse des normes environnementales. La répartition, l'abondance et l'efficacité des *Trichoderma* dans les écosystèmes varient en fonction des contraintes biotiques et abiotiques.

Ainsi, certaines espèces sont adaptées à des conditions d'humidité excessive du sol alors que d'autres sont restreintes à des zones où le sol est sec. Les facteurs physico-chimiques qui agissent sur l'efficacité et la répartition des *Trichoderma* dans le sol sont : le pH, la température, la teneur en sel, en matière organique et la présence ou l'absence d'autres microorganismes dans le sol (Landreau, 2001; Naher et al., 2013; Monika et al., 2016; Montoya-Gonzalez et al., 2016). L'utilisation de ces champignons exige donc une bonne connaissance de l'écologie des souches et de leurs différents mécanismes d'action. Ainsi, l'objectif général de cette étude est d'évaluer *in vitro* l'effet de différentes contraintes abiotiques sur la croissance mycélienne de trois souches de *Trichoderma* sp. en vue de leur utilisation dans des itinéraires techniques agricoles.

MATERIEL ET METHODES

Matériel fongique

Les trois souches de *Trichoderma* {TS1 (LBC2013), TS2 (LBC2014), TS3 (LBC2015)} utilisées dans cette étude appartiennent à la collection du Laboratoire de Biotechnologies des Champignons de l'Université Cheikh Anta DIOP de Dakar (UCAD). Les souches ont été isolées à partir de la rhizosphère de plants de tomate du jardin botanique de l'UCAD. La méthode utilisée pour leur isolement est celle dite de suspension dilution dont le principe consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau physiologique stérile et à incorporer les différentes dilutions de cette suspension dans le milieu d'isolement (Rapilly, 1968).

L'identification des souches est basée sur une observation des caractéristiques culturales et morphologiques et par comparaison avec les descriptions de Samuels et al. (2002). Elles ont été ensuite conservées au frais (-24 °C) jusqu'à utilisation sous les numéros de code TS1, TS2 et TS3.

Milieux de culture

Quatre milieux de cultures de compositions chimiques différentes ont été testés: Potato Dextrose Agar (extrait de pomme de terre 200 g, glucose 20 g, agar 20 g, H₂O distillée 1000 ml), Malt Extract Agar (extrait de malt 20 g, glucose 5 g, Agar 20 g, H₂O distillée 1000 ml), Sabouraud : (peptone 10 g, glucose 20 g, agar 20 g, H₂O distillée 1000 ml) et Czapek Dox : (NaNO₃ 10 g, KCl 0.5 g, Mg SO₄, 7H₂O 0.5 g, KH₂PO₄ 1 g, FeSO₄, 7 H₂O 0.001 g, saccharose 20 g, agar 20 g, H₂O distillée 1000 ml). Ce sont des milieux très utilisés pour la culture des champignons et permettant le développement d'un large spectre de champignons. Les différents milieux sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 mn puis sont coulés dans des boîtes de Petri stériles de 90 mm de diamètre. Après solidification sous la hotte, un disque mycélien de 8 millimètre (mm) de diamètre prélevé à partir d'une culture pure de chacune des trois souches de *Trichoderma* est déposé au centre d'une boîte de Petri. Pour chaque type de milieu de culture, cinq boîtes de Petri ont été inoculées avec chaque souche de *Trichoderma*. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées à 25 °C. La croissance mycélienne de chaque souche de *Trichoderma* a été déterminée quotidiennement par la mesure des deux diamètres perpendiculaires de chaque colonie (Botton et al., 1990).

Facteurs abiotiques

L'effet de trois facteurs abiotiques (température, potentiel hydrogène, salinité) sur le milieu le plus compatible à la croissance mycélienne des trois souches de *Trichoderma*

a été étudié. Les différents facteurs pH, température et salinité ont été étudiés chacun à quatre niveaux qui sont respectivement : 3, 5, 7, 9 ; 0 °C, 29 °C, 35 °C, 40 °C et 0%, 1%, 3%, 5%. Pour chaque niveau, cinq boîtes de Pétri ont été inoculées avec chaque souche de *Trichoderma*. L'évolution de la croissance mycélienne a été évaluée quotidiennement par la mesure des diamètres perpendiculaires de chaque colonie (Botton et al., 1990).

Analyse statistique

Les données obtenues ont été soumises à une analyse de variance (ANOVA) avec le logiciel Xlstat 2013 (version 4.07 adinsoft). Le test de Fischer LSD au seuil de 5% a été réalisé afin d'identifier le niveau de probabilité de la différence observée entre les moyennes lors des différents tests.

RESULTATS

Choix des milieux de culture

Le Tableau 1 montre l'effet de quatre types de milieux de cultures sur la croissance des trois souches de *Trichoderma*. L'analyse de la variance montre un effet significatif des différents milieux de culture sur la croissance des trois souches de *Trichoderma* au test de Fischer LSD. Les différents milieux (PDA, MEA, SB, DOX) permettent une bonne croissance de toutes les espèces mais à des degrés différents.

Ainsi, après 24 h d'incubation, on observe une croissance plus importante sur le milieu PDA pour toutes les souches de *Trichoderma*. Cependant, aucune différence n'a été observée par les souches TS1 et TS2 sur les milieux DOX et SB. Pour la souche TS3, la croissance la plus faible a été observée sur le milieu DOX.

Après 48 h d'incubation, on observe un envahissement de toute la surface de chaque boîte de Pétri par les différentes souches sur le milieu PDA. Aucune différence n'a également été observée sur les milieux MEA, DOX et SB pour les souches TS1 et TS2. La croissance la

plus faible pour la souche TS3 a été également observée sur le milieu DOX.

Le milieu de culture à base de pomme de terre (PDA) est plus favorable pour la croissance de toutes les souches et permet un envahissement mycélien total des boîtes de Petri seulement après 48 h d'incubation et est suivi du milieu MEA. La plus faible croissance a été observée sur le milieu DOX pour les souches TS1, TS2 et sur SB pour la souche TS3 (Tableau 1).

Effet des facteurs abiotiques

Effet de la température d'incubation

L'effet de la température sur la croissance mycélienne des différentes souches de *Trichoderma*, est observé sur le milieu PDA. Ainsi, une inhibition totale de la croissance mycélienne est observée à 0 °C et 40 °C. La croissance est ralentie à 35 °C pour toutes les souches.

Par contre, elle est maximale (optimale) à 29 °C pour toutes les souches et varie selon la durée d'incubation. Après 24 h d'incubation, la croissance mycélienne des souches TS1, TS2, TS3 est nettement supérieure respectivement de 5, 3 et 2 fois à celle observée à 35 °C. A 48 h d'incubation à 29 °C, un envahissement mycélien total de toutes les boîtes de Pétri par toutes les souches a été noté. A 35 °C, une surface de 17, 18 et 28% est occupée par respectivement les souches TS1, TS2 et TS3. Après 96 h d'incubation, une occupation de 68, 63 et 69% de la surface des boîtes de Pétri est notée respectivement par les souches TS1, TS2 et TS3 (Tableau 2).

Effet du pH

L'effet de différents pH sur la croissance des souches de *Trichoderma* est représenté dans le Tableau 3. L'analyse de la variance au test de Fischer LSD montre un effet significatif de l'effet des différents pH sur la croissance mycélienne des trois souches de *Trichoderma*. Après 24 h d'incubation, la meilleure croissance a été observée au pH 5

pour les souches TS1 et TS2 et est suivi du pH 7. La souche TS3 ne présente pas de différence de croissance significative sur les pH 5 et 7 où on observe la meilleure croissance. Une différence significative dans la croissance des souches n'a pas été observée aux pH 3 et 9. Après 48h d'incubation, on observe un envahissement mycélien total de toute la surface de la boîte de Pétri aux pH 5 et 7. La croissance la plus faible a été observée au pH 3 pour toutes les souches avec une moyenne de 40 mm.

Un envahissement mycélien par toutes les souches est observé après 72 h d'incubation aux pH 5, 7, 9 et après 96 h au pH 3.

La meilleure croissance pour toutes les souches a été observée au pH 5 où la vitesse de croissance de chacune des souches TS1, TS2 est nettement supérieure de 3 fois à celle obtenue aux pH 3 dans les premières heures d'incubation (Tableau 3).

Effet de la salinité

Un effet significatif de la salinité est observé sur la croissance des différentes souches de *Trichoderma*. En effet, les concentrations élevées de sel diminuent considérablement la vitesse de croissance des différentes souches obtenues. Après 24 h d'incubation à 1% de salinité, une diminution de 13, 23 et 24 mm est notée sur la croissance respectivement des souches TS1, TS2 et TS3 comparée au milieu à 0% de NaCl. Cette réduction de la croissance s'accroît à 3% et à 5% pour toutes les souches. Cette diminution de la croissance des différentes souches est aussi observée après 48 h d'incubation où on a un envahissement mycélien de toutes les boîtes de Petri par les différentes souches. Après 72 h d'incubation, un envahissement mycélien est aussi observé dans les milieux à 1 et 3% (Tableau 4).

Tableau 1 : Croissance (mm) des différentes souches de *Trichoderma sp.* sur 4 milieux de cultures après 24 h et 48 h d'incubation.

Milieux de culture	Diamètre des souches de <i>Trichoderma</i> en (mm)		
	TS1	TS2	TS3
24 h d'incubation			
PDA	34,60a	43,50a	41,00a
MEA	30,50b	29,10b	33,20b
DOX	25,30c	27,40b	22,40c
SB	25,70c	30,50b	32,30b
48 h d'incubation			
PDA	>85,00a	>85,00a	>85,00a
MEA	50,40b	79,00b	80,60b
DOX	79,00b	79,20b	65,40d
SB	80,60b	79,20b	72,00c

Pour chaque colonne et pour chaque temps d'incubation, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au test de Fischer LSD au seuil de 5%. TS1 : Souche de *Trichoderma* 1, TS2 : Souche de *Trichoderma* 2, TS3 : Souche de *Trichoderma* 3.

Tableau 2 : Croissance (mm) de différentes souches de *Trichoderma sp.* à différentes températures sur milieu PDA après 24 h, 48 h, 72 h et 96 h d'incubation.

T° d'incubation	Diamètre des souches de <i>Trichoderma</i> (mm)		
	TS1	TS2	TS3
24 h d'incubation			
0	00,00c	00,00c	00,00c
29	53,30a	55,20a	49,60a
35	10,40b	15,60b	18,20b
40	00,00c	00,00c	00,00c
48h d'incubation			
0	00,00c	00,00c	00,00c
29	>85,00a	>85,00a	>85,00a
35	15,00b	16,80b	24,21b
40	00,00c	00,00c	00,00c
72h d'incubation			
0	00,00c	00,00c	00,00c
29	>85,00a	>85,00a	>85,00a
35	36,00b	33,60b	33,60b
40	00,00c	00,00c	00,00c
96h d'incubation			
0	00,00c	00,00c	00,00c
29	>85,00a	>85,00a	>85,00a
35	58,40b	58,40b	54,90b
40	00,00c	00,00c	00,00c

Pour chaque colonne et pour chaque temps d'incubation, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au test de Fischer LSD au seuil de 5%. T° : température ; TS1 : Souche de *Trichoderma* 1, TS2 : Souche de *Trichoderma* 2, TS3 : Souche de *Trichoderma* 3.

Tableau 3 : Croissance (mm) de différentes souches de *Trichoderma* sp. Selon différents pH sur milieu PDA après 24 h, 48 h et 72 h d'incubation.

pH	Diamètre des souches de <i>Trichoderma</i> (mm)		
	TS1	TS2	TS3
24 h d'incubation			
3	14,40c	15,50c	30,30b
5	53,90a	55,60c	50,70a
7	44,30b	50,40b	42,40a
9	13,40c	16,20c	17,60b
48h d'incubation			
3	36,20c	48,10c	36,50c
5	>85,00a	>85,00a	>85,00a
7	>85,00a	>85,00a	>85,00a
9	44,40b	52,20b	62,30b
72h d'incubation			
3	66,40b	72,10b	55,40b
5	>85,00a	>85,00a	>85,00a
7	>85,00a	>85,00a	>85,00a
9	>85,00a	>85,00a	>85,00a

Pour chaque colonne et pour chaque temps d'incubation, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au test de Fischer LSD au seuil de 5% TS1 : Souche de *Trichoderma* 1, TS2 : Souche de *Trichoderma* 2, TS3 : Souche de *Trichoderma* 3.

Tableau 4 : Croissance de différentes souches de *Trichoderma* sp. sur des % de salinités différents sur milieu PDA après 24 h, 48 h, 72 h et 96 h d'incubation.

% NaCl	Diamètre des souches de <i>Trichoderma</i> (mm)		
	TS1	TS2	TS3
24 h d'incubation			
0	34,60a	43,50a	41,00a
1	20,7b	20,00b	17,60c
3	18,40b	13,10c	14,90b
5	00,90c	00,60d	01,70c
48h d'incubation			
0	>85,00a	>85,00a	>85,00a
1	50,80b	68,40b	63,50b
3	53,00b	50,50c	46,90c
5	14,50c	10,00d	17,20d
72h d'incubation			
0	>85,00a	>85,00a	>85,00a
1	>85,00a	>85,00a	>85,00a
3	>85,00a	>85,00a	>85,00a
5	33,15b	17,70c	41,50b
96h d'incubation			
0	>85,00a	>85,00a	>85,00a
1	>85,00a	>85,00a	>85,00a
3	>85,00a	>85,00a	>85,00a
5	49,10b	25,40c	48,50b

Pour chaque colonne et pour chaque temps d'incubation, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au test de Fischer LSD au seuil de 5%, TS1 : Souche de *Trichoderma* 1, TS2 : Souche de *Trichoderma* 2, TS3 : Souche de *Trichoderma* 3.

DISCUSSION

Les différents facteurs abiotiques testés ont un effet remarquable sur la croissance mycélienne des différentes souches de *Trichoderma* sp. Ces dernières se sont bien développées sur les différents milieux de culture testés (PDA, MEA, DOX, SB). Ce qui montre que les *Trichoderma* sont capables d'utiliser une large gamme de sources de carbone et d'azote pour stimuler leur croissance en accord avec les travaux de Srivastava et al. (2014). Cependant, l'importance de la croissance des souches a varié d'un milieu à un autre. Ainsi, la meilleure croissance a été observée sur le milieu PDA. Donc, le milieu naturel à base de pomme de terre (PDA) se révèle être le milieu le plus adéquat pour la culture de *Trichoderma* vis les composés complexes qui le constituent par rapport aux milieux synthétiques (MEA, SB, DOX) qui sont moins favorables à la croissance des souches. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ubalua et OtiE (2007), Verma (2007), Moussaoui (2010), Jahan et al. (2013), Srivastava et al. (2014) qui ont montré que les *Trichoderma* poussent mieux sur le PDA que les autres milieux de culture.

Les résultats obtenus à partir de la recherche de la température optimale de développement des différentes souches montrent que les souches croissent jusqu'à 35 °C avec un optimum de croissance à 29 °C et une inhibition à 0 et 40 °C. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Moussaoui (2010), Srivastava et al. (2014) qui ont démontré que les *Trichoderma* sont des champignons filamenteux mésophiles qui tolèrent les bases températures voisines de 10

°C mais leurs mycélium est très sensible à des températures supérieures à 35 °C.

Ceci confirme que les souches de *Trichoderma* présentent une grande capacité d'adaptation aux différentes conditions climatiques (Kubicek et al., 2003 ; Zhang et al., 2005 ; Mulaw et al., 2010 ; Skoneczny et al., 2015).

Les résultats de l'effet du pH étudié sur la croissance des souches de *Trichoderma* sp. ont montré que toutes les souches se sont bien développées et la formation de conidies a été observée aux différents pH. Cependant, la meilleure croissance de chacune des souches a été observée au pH 5. Ces résultats sont confirmés par plusieurs chercheurs dont Moussaoui (2010), Srivastava et al. (2014), Steyart et al. (2010) qui ont montré que les souches de *Trichoderma* peuvent croître à des pH allant de 1 à 9 mais leurs pH optimum de croissance se situe entre 4.5 et 6.5.

Les résultats obtenus sur l'effet de différentes doses de sel ont montré un ralentissement de la croissance et une suppression de la conidiation à des doses supérieures à 3% de NaCl. Contrairement aux résultats obtenus par Regragui et Lahlou (2005) où les souches tolèrent des concentrations élevées de NaCl (6%). Cependant, ils ont montré que ces concentrations élevées de NaCl peuvent entraîner chez certaines souches un ralentissement de l'extension mycélienne, une sporulation réduite et une absence de coloration typique du recto des colonies de *Trichoderma*.

Conclusion

A partir des différents résultats obtenus, on peut dire que les souches de *Trichoderma* se développent facilement *in vitro*. Les différents facteurs abiotiques ont des effets variables sur la croissance mycélienne des *Trichoderma*. Le milieu de culture à base de pomme de terre PDA est plus adéquat pour la culture des souches à des pH basiques à neutres (pH 5 et pH 7). La température optimale d'incubation des *Trichoderma* est à 29 °C et la croissance des

souches est meilleure à des doses de sel allant jusqu'à 3%. Ces résultats obtenus suggèrent que les différentes souches de *Trichoderma* testées pourront être utilisées dans des itinéraires techniques agricoles.

CONFLIT D'INTERET

Les auteurs ne déclarent aucun conflit d'intérêt.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

NG est l'investigateur principal ; il est intervenu dans l'élaboration du protocole, l'exécution du travail de laboratoire et la rédaction de l'article ; MAFN est intervenu dans l'élaboration du protocole, la supervision du travail au laboratoire et la rédaction de l'article ; BS est intervenu dans l'élaboration et la correction du protocole et de l'article ; DSS est intervenu dans la correction du protocole, de l'article et la supervision des activités ; TAD est intervenu dans la correction du protocole, de l'article et a coordonné toutes les activités.

REFERENCES

- Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthir S, Larpent JP, Gay PH, Reymond P, Sanglier JJ, Vayssier Y, Veau P. 1990. *Moisissures Utiles et Nuisibles Importance Industrielle* (2nd Edn). Masson: Paris ; Milan; Barcelone; Mexico; 512.
- Harman GE. 2000. Myths and Dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, **84**(4): 377 – 393. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.377>
- Harman GE, Petzoldt R, Comis A, Chen J. 2004. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*, **94**: 147-153. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PHTO.2004.94.2.147>
- Jahan N, Sultana S, Adhikary SK, Rahman S, Yasmin S. 2013. Evaluation of the Growth Performance of *Trichoderma harzianum* (Rifai.) on Different Culture Media. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, **3**(4): 2319-2372: DOI: <http://dx.doi.org/10.9790/2380-0344450>
- Kamala Th, Indira Devi S. 2012. Biocontrol properties of indigenous *Trichoderma* isolates from North-east India against *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. *African Journal of Biotechnology*, **11**(34): 8491-8499. DOI: 10.5897/AJB11.1938
- Kubicek CP, Bissett J, Druzhinina I, Kullnig-Gradinger C, Szakacs G. 2003. Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma* sp. a case study on South-East Asian isolates. *Fungal Genet. Biology*, **38**(3): 310-319. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S1087-1845\(02\)00583-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1087-1845(02)00583-2)
- Landreau A, Pouchus Y-F, Sallenave C, Morel D, Verbist J-F. 2001. Optimisation de la production de métabolites toxiques produits par un *Trichoderma koningii* isolé du milieu marin: étude des facteurs physiques et chimiques, *Acta Botanica Gallica*, 148:3, 268-268. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.2001.10515904>
- Monika S, Sharma OP, Someshwar B, Neetu P. 2016. In-Vivo Evaluation of Competitive Parasitic Ability and Rhizosphere Colonisation of Different *Trichoderma* Isolates. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, **5**(4): 32-38. DOI: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.006>

- Montoya-Gonzalez AH, Quijano-Vicente G, Morales-Maza A, Ortiz-Uribe N, Hernandez-Martinez R. 2016. Isolation of *Trichoderma* spp. from Desert Soil, Biocontrol Potential Evaluation and Liquid Culture Production of Conidia Using Agricultural Fertilizers. *J Fertil Pestic*, **7**: 163. DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/jbfbp.1000163>
- Mouria B, Touhami OA, Douira A. 2007. Effet de diverses souches du *Trichoderma* sur la croissance d'une culture de tomate en serre et leur aptitude à coloniser les racines et le substrat. *Phytoprotection*, **88**(3): 103-110. DOI: <http://dx.doi.org/10.7202/018955ar>
- Moussaoui M. 2010. Développement et extraction des métabolites secondaires de *Trichoderma viride* et leurs effets biologiquement actifs. Mémoire de master, Algérie, 80p.
- Mulaw TB, Kubicek CP, Druzhinina IS. 2010. The Rhizosphere of *Coffea Arabica* in Its Native Highland Forests of Ethiopia Provides a Niche for Distinguished Diversity of *Trichoderma*. *Diversity*, **2**(4): 527-549. DOI: <http://dx.doi.org/10.3390/d2040527>
- Naher L, Mokhtar SIB, Sidek NB. 2015. *Trichoderma harzianum* T32 Growth and Antagonistic Performance Against *Ganoderma boninense* On Different Culture Media, 3rd International Conference on Biological, Chemical & Environmental Sciences (BCES-2015), Sept. 21-22, Kuala Lumpur (Malaysia). DOI: <http://dx.doi.org/10.15242/IICBE.C0915047>
- Rapilly F. 1968. Les Techniques de Mycologie en Pathologie Végétale. Ann. Epiphyt. Bruxelles; 101.
- Regragui A, Lahlou H. 2005. Effect of salinity on *in vitro* *Trichoderma harzianum* antagonism against *Verticilium dahliae*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **8**(6): 872-876. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/pjbs.2005.872.876>
- Samuels GJ, Chaverri P, Farr DF, McCray EB. 2002. *Trichoderma* Online. Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA; <http://nt.ars-grin.gov/taxadescriptions/keys/TrichodermaIndex.cfm>. Consulté le 11 Avril 2015
- Singh A, Srivastava S, Singh HB. 2007. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bio Resource Technology*, **98**: 470-473. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.01.002>
- Singh SP, Singh HB, Singh DK, Rakshit. 2014. *Trichoderma*-mediated enhancement of nutrient uptake and reduction in incidence of *Rhizoctonia solani* in tomato. *Egyptian Journal of Biology*, **16**: 29-38. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ejb.v16i1.4>
- Srivastava M, Singh V, Shahid M, Singh A, Kumar V. 2014. Determination of Biochemical and Physiological Aspects of a Biocontrol Agent *Trichoderma harzianum* Th azad. *International Journal of Advanced Research*, **2**(3): 841-849. DOI: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01>
- Skoneczny D, Oskiera M, Szczech M, Bartoszewski G. 2015. Genetic diversity of *Trichoderma atroviride* strains collected in Poland and identification of loci useful in detection of within-species diversity. *Folia Microbiol (Praha)*, **60**(4): 297-307. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s12223-015-0385-z>

- Steyaert JM, Weld RJ, Alison Stewart A. 2010. Ambient pH intrinsically influences *Trichoderma* conidiation and colony morphology. *Fungal Biology*, **114**: 198-208. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2009.12.004>
- Ubalua AO, Oti E. 2007. Antagonistic properties of *Trichoderma viride* on post-harvest cassava root rot pathogens. *African Journal of Biotechnology*, **6**: 2447-2450. DOI: 10.5897/AJB2007.000-2387
- Verma M. 2007. Développements d'un processus d'obtention d'agents biologiques à base de *Trichoderma spp.* en utilisant des eaux usées ou des boues d'épuration comme substrats de fermentation. Thèse de doctorat, INRS-ETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada, 424 p.
- Zhang CL, Druzhinina IS, Kubicek CP, Xu T. 2005. *Trichoderma* biodiversity in China: Evidence for a North to South distribution of species in East Asia. *FEMS Microbiology Letters*, **251**: 251-257. DOI : <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsle.2005.08.034>