

Evaluation *in vitro* de l'activité antagoniste d'isolats de *Trichoderma harzianum* Pers. contre trois espèces fongiques pathogènes de l'oignon au Burkina Faso

T.G. Dabire^{1,2*}, S. Bonzi¹, I. Somda¹ & A. Legreve²

Keywords: *Aspergillus niger*- Biological control- *Fusarium oxysporum*- *Fusarium solani*- *Trichoderma harzianum*- Burkina Faso

Résumé

L'action antagoniste de cinq isolats de *Trichoderma harzianum* Pers. dont quatre obtenus au Burkina Faso et un originaire de l'Afrique du Sud a été évaluée *in vitro* contre *Aspergillus niger* van Tieghem, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* Schlecht. Emend. Snyd & Hans et *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. considérés comme les principaux agents pathogènes fongiques rencontrés sur l'oignon au Burkina Faso. Les espèces pathogènes et antagonistes ont été mises en co-culture en confrontation directe dans des boîtes de Petri pendant 7 jours et les diamètres de croissance des pathogènes en présence ou non des antagonistes ont été relevés. Les deux isolats ayant présenté les plus forts taux d'antagonisme ont ensuite été mis en co-culture en confrontation à distance dans deux boîtes de Petri assemblées avec du parafilm et mis en culture. Tous les isolats de *Trichoderma harzianum* testés en confrontation directe ont inhibé la croissance *in vitro* des trois espèces pathogènes avec des coefficients d'antagonisme compris entre 0,61 et 0,93 et entre 0,01 et 0,24 en confrontation à distance. Les isolats ThTab du Burkina Faso et l'isolat ThAfs de l'Afrique du Sud ont été les plus efficaces et ont exercé une action myco-parasitaire sur les trois espèces pathogènes. Les modes d'action des antagonistes et les formes d'utilisation possibles en lutte biologique sont discutés.

Summary

***In vitro* Evaluation of Antagonistic Activity of *Trichoderma harzianum* Pers. Isolates against Three Fungal Species Pathogens of Onion in Burkina Faso**

The antagonistic effect of five *Trichoderma harzianum* Pers. isolates of which four from Burkina Faso and one from South Africa was evaluated *in vitro* against *Aspergillus niger* van Tieghem, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cepae* Schlecht. Emend. Snyd & Hans and *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. regarded as the main onion fungal pathogens in Burkina Faso. The fungal pathogens species and *T. harzianum* isolates were directly confronted in Petri dishes for seven days. The pathogen radial growth in presence or absence of antagonist was measured. The two isolates with the highest antagonism rates were grown with each pathogen in confrontation at distance. The culture took place in two Petri dishes sealed with parafilm for seven days. The radial growth of each pathogen was measured. All isolates of *T. harzianum* inhibited the fungal pathogens growth with antagonism ratio ranging from 0.61 to 0.93 and 0.01 to 0.24 respectively by direct and remote confrontation. The isolates ThTab from Burkina Faso and ThAfs from South Africa showed the best antagonism effect and a myco-parasitic action on all tested pathogens. The antagonistic action modes of these isolates and their possible biological control use are discussed.

¹Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso/ Institut du Développement Rural, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

²Université Catholique de Louvain/ Earth and Life Institute, Faculté des Bioingénieurs, Louvain La Neuve, Belgique

*Auteur correspondant: Email: dabiretobdem@yahoo.fr

Introduction

Parmi les productions maraîchères Burkinabè, l'oignon est celle qui fait le plus l'objet d'un commerce national et sous-régional régulier et sur des volumes relativement importants (15). Depuis la campagne 2009-2010, elle occupe la première place parmi les légumes produits dans le pays (33). Le chiffre d'affaires de l'oignon bulbe en 2008 était évalué à 24,8 milliards de FCFA; soit 29,5% de l'ensemble de la valeur des ventes des produits maraîchers qui était de 84 milliards de FCFA (19). Cependant la production de l'oignon reste limitée par des contraintes dont l'une des plus importantes est la perte de production imputable aux maladies qui surviennent en pépinière, pendant la phase productive ou en conservation. Des études diagnostiques sur les maladies de l'oignon récemment menées de 2013 à 2015 à l'Université de Polytechnique de Bobo-Dioulasso en collaboration avec l'Université Catholique de Louvain ont confirmé que *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium solani* étaient les agents pathogènes les plus associés aux principales maladies rencontrées dans les zones de production (Dabiré, non publié). Ces espèces fongiques ont été rapportées par plusieurs auteurs comme étant responsables de fontes de semis/ manques à la levée (7, 10, 20) et de pourritures de l'oignon en champ (24, 25).

Leur contrôle jusque là demeure essentiellement limité à des mesures prophylactiques (désinfection du sol et des semences, rotations culturales), à l'utilisation de variétés résistantes ou de fongicides chimiques de synthèse (28).

Toutefois, l'efficacité de ces mesures prophylactiques est entravée par leur difficulté d'application sur de grandes surfaces et les limites foncières. La disponibilité dans le commerce, de variétés résistantes à ces agents pathogènes fait souvent défaut et la lutte chimique est, de nos jours, peu conseillée à cause des problèmes d'apparition de résistances des agents pathogènes aux fongicides de synthèse et les risques de toxicité et d'écotoxicité que présente son emploi. Dans les conditions du Burkina Faso, ces risques sont aggravés en raison du taux d'analphabétisme élevé au sein des producteurs qui peut entraîner un usage inadapté des produits (26).

Dans ces conditions, l'utilisation de méthodes alternatives de lutte efficaces et qui respectent l'environnement est plus qu'impérative.

Dans plusieurs institutions de recherche agricole, des agents de lutte biologique (BCA) ont été testés avec succès et certaines formulations à base de BCA tels que GHE bioponic en Espagne, Eco-T en Afrique du Sud et Bioprotect au Burkina Faso sont rencontrées de nos jours dans le commerce. Parmi les BCA utilisés, les champignons telluriques du genre *Trichoderma* occupent une place importante. Plusieurs travaux de recherche ont montré que certaines espèces de *Trichoderma* comme *T. virens*, *T. harzianum* étaient très actifs comme agents de lutte biologique contre des agents pathogènes fongiques dont *A. niger* et les espèces de *Fusarium* (2, 3, 4, 5, 11, 12, 13, 15, 18, 23, 25, 29, 32, 34). La présente étude a pour objectif d'évaluer l'activité antagoniste *in vitro* d'isolats de *T. harzianum* indigènes du Burkina Faso contre des souches de *A. niger*, de *F. oxysporum* et de *F. solani* isolés sur l'oignon au Burkina Faso.

Matériels et méthodes

Les espèces fongiques utilisées

Cinq isolats de *Trichoderma harzianum* dont quatre isolés à partir d'échantillons de sols prélevés au Burkina Faso dans la rhizosphère des périmètres maraîchers et un isolat isolé à partir d'une poudre commerciale (Eco-T, Plant Health Product) Sud africaine, ont été testés. Trois souches de champignons pathogènes dont une de *Fusarium oxysporum*, une de *Fusarium solani* et une d'*Aspergillus niger* (Tableau 1) isolées au départ sur des organes malades d'oignon et purifiées ensuite par isolement monoconidien ont été utilisées. Pour l'obtention des quatre isolats locaux de *T. harzianum*, 10 grammes de chaque échantillon de sol ont été macérés dans un erlenmeyer contenant 100 ml d'eau stérile.

Les filtrats obtenus ont été dilués 100 et 1000 fois. A l'aide d'une pipette pasteur, quelques gouttelettes des solutions mères et celles diluées (100 et 1000 fois) ont été déposées dans des boîtes de Petri contenant un milieu PDA.

Tableau 1
Caractéristiques des espèces fongiques utilisées.

Espèces fongiques	Codes	Origine	Provenance
<i>Aspergillus niger</i>	AN ₉₆₋₀₁₃	Semences Loc _{s4}	BF, Sourou, Di
<i>Fusarium oxysporum</i>	FO ₂₀₋₀₁₃	Plateau racinaire	BF, Ganzourgou, Mogtedo
<i>Fusarium solani</i>	FS ₄₅₋₀₁₃	Bulbes	BF, Mouhoun, Dédougou
<i>Trichoderma harzianum</i>	ThBag	sol	BF, Boulgou, Bagré
	ThKor	sol	BF, Sanmatenga, Korsimoro
	ThTab	sol	BF, Oubritenga, Tabtenga
	ThTen	sol	BF, Sanguié, Tenado
	ThAfs	Poudre Eco-T	Plant Health Products, Ltd, AF

Les boîtes de Petri ont ensuite été mises en incubation sous un cycle alternatif de lumière proche UV et d'obscurité (12h/12h) à la température de 22-25°C pendant 5 jours. A la fin de l'incubation, les colonies fongiques dont la morphologie était caractéristique des *Trichoderma* ont été purifiées puis leur identification a été faite sur la base des caractères culturels et des organes de fructifications (colonies, phialides et conidies). Le cinquième isolat de *Trichoderma* a été obtenu en déposant de fines portions de la poudre commerciale Eco-T dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA puis en incubant les boîtes de Pétri comme précédemment. Les espèces pathogènes ont également été obtenues après incubation d'organes malades d'oignon dans les mêmes conditions suivie d'une purification et d'une identification morphologique (couleurs des colonies et forme des conidies). Le pouvoir pathogène de ces isolats pathogènes a été confirmé à travers une étude de pathogénicité (Dabiré *et al.*, soumis) réalisé avec ces isolats sur des organes sains.

L'identification morphologique de l'ensemble des espèces fongiques utilisées a été complétée par une identification moléculaire.

Pour ce faire, un séquençage de parties de génome pertinentes/discriminantes par amplification PCR des régions ITS1 et ITS2 de l'ARN ribosomal pour les genres *Trichoderma* et *Aspergillus* et de facteurs d'élongation EF1 et EF2 pour le genre *Fusarium* a été réalisé au laboratoire de phytopathologie de l'Université Catholique de Louvain en Belgique.

Evaluation de l'activité antagoniste *in vitro*

L'activité antagoniste des isolats de *T. harzianum* vis-à-vis de *A. niger*, *F. oxysporum* et *F. solani* a été étudiée *in vitro* en co-culture dans des boîtes de Petri selon deux techniques: la co-culture en confrontation directe et la co-culture en confrontation à distance. La première a consisté en des confrontations par contact direct sur milieu de culture des cinq isolats de *T. harzianum* avec les trois souches d'agents pathogènes.

Ces confrontations ont été effectuées selon la méthode de Meraj *et al.* (22). Dans des boîtes de Petri de 90 mm de diamètre contenant 15 ml du milieu PDA, des explants mycéliens de 6 mm de diamètre de chaque pathogène et de chaque antagoniste ont été déposés sur un même axe à équidistance du centre de la boîte de Pétri. La distance qui sépare les deux explants est de 5 cm (Figure 1). Les boîtes de Petri ont été incubées sous 12 h de lumière proche UV alternée avec l'obscurité 12 h à 22-25 °C pendant 7 jours. Le témoin est constitué par un repiquage du pathogène uniquement placé à 5 cm du centre de la boîte Petri. Après sept jours, le rayon des colonies des souches pathogènes dans l'axe séparant les deux explants a été mesuré. Chaque couple pathogène-antagoniste a été répété trois fois. Les deux isolats qui ont exercé un antagonisme important ont été testés à nouveau sur les mêmes souches des espèces pathogènes pour confirmer le premier résultat.

Ici, chaque couple pathogène-antagoniste a été répété cinq fois.

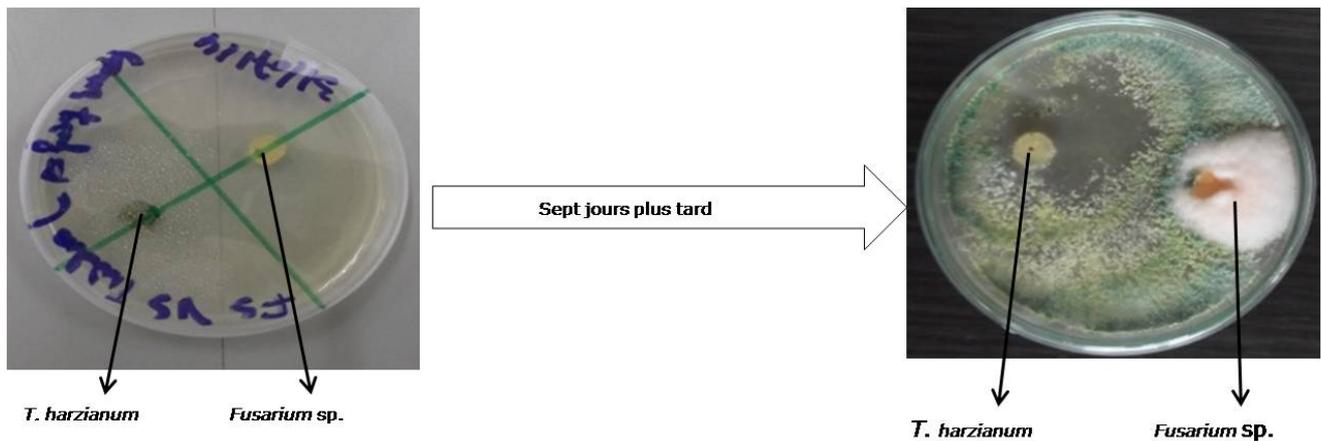


Figure 1: Méthode de co-culture en confrontation directe.

La méthode de co-culture en confrontation à distance visait, elle, à évaluer si l'antagonisme observé était lié à la présence d'un composé volatil produit par l'antagoniste. Dans ce cas, les deux isolats de *T. harzianum* qui ont présenté les meilleurs effets en confrontation directe ont été utilisés pour cette technique. La confrontation à distance a consisté à déposer les explants mycéliens du pathogène et de l'antagoniste dans les centre de deux boîtes de Petri distinctes. Après deux jours d'incubation, les boîtes sont descellées sous hotte à flux laminaire puis un assemblage de deux boîtes est réalisé par la superposition des deux cultures en veillant à garder l'isolat de *T. harzianum* dans la boîte du fond et celui du pathogène dans la boîte du dessus (12). La jonction entre les deux boîtes est maintenue par des couches de Parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles (8). Les boîtes ont été ensuite remises en incubation pendant 7 jours. Après 7 jours, le diamètre de croissance des colonies pathogènes a été mesuré. Chaque couple de pathogène et d'antagoniste a été testé cinq fois.

Evaluation de l'activité myco-parasitaire

L'évaluation de l'activité mycoparasitaire a consisté à réaliser des co-cultures en confrontation directe entre le pathogène et l'antagoniste pendant 21 jours (12).

Au bout des 21 jours, des fragments mycéliens des colonies des agents pathogènes ont été prélevé dans la zone de front entre les deux colonies puis mis en incubation dans des boîtes de Pétri contenant du PDA sous 12 h de lumière proche UV alternée avec l'obscurité 12 h à 22-25 °C pendant 5 jours pour observer la viabilité du pathogène.

Collecte et analyse des données

Au niveau de la confrontation directe et à distance en boîtes de Pétri, les diamètres de croissance mycélienne de l'agent pathogène ont été mesurés au terme du temps d'incubation. L'inhibition exercée par le genre *Trichoderma* a été estimée par le calcul du coefficient d'antagonisme (23) selon la formule I.

$$a_t = (C_{tem} - C_{trait}) / C_{tem} \quad \text{I}$$

où a_t est le coefficient d'antagonisme, C_{tem} le rayon moyen des colonies témoins (souches de champignons phytopathogènes en croissance en l'absence d'antagoniste), C_{trait} le rayon moyen des colonies en présence de l'antagoniste. L'ensemble des données recueillies ont été analysées avec le logiciel IBM.SPSS version 22. Les moyennes ont été comparées suivant le test de classification multiple de Duncan au seuil de 5%. Au niveau de l'action myco-parasitaire, l'évaluation a consisté à constater une croissance ou non du fragment mycélien du pathogène au terme du temps d'incubation.

Résultats

Co-culture en confrontation directe

Les rayons moyens de croissance des agents pathogènes mis en co-culture en confrontation directe avec les isolats de *Trichoderma harzianum* sont consignés dans le tableau 2.

L'analyse du tableau indique que l'ensemble des isolats de *T. harzianum* ont entraîné une réduction significative des rayons moyens de croissance des trois agents pathogènes testés. Les coefficients d'antagonisme obtenus ont été tous supérieurs à 0,60 (Tableau 2). Sur les deux espèces de *Fusarium* testées, *ThTab* a été le plus efficace avec des coefficients d'antagonisme de 0,78 sur *Fusarium oxysporum* et 0,84 sur *Fusarium solani*.

Il est suivi de *ThAfs* avec des coefficients d'antagonisme de 0,75 et 0,82 respectivement sur *F. oxysporum* et *F. solani*. Sur *Aspergillus niger*, *ThAfs* enregistré le plus fort coefficient d'antagonisme qui s'élève à 0,91 suivi de *ThKor* dont le coefficient d'antagonisme a été pratiquement identique à celui de *ThTab* (Tableau 2). L'isolat *ThKor* a enregistré un coefficient d'antagonisme sur *A. niger* statistiquement identique à *ThAfs*. L'isolat *ThTen* a enregistré un résultat statistiquement identique à celui de *ThTab* sur *A. niger* avec un coefficient d'antagonisme de 0,88. L'isolat *ThBag* a été le moins efficace de tous les isolats de *T. harzianum* testés sur tous les pathogènes avec des coefficients d'antagonismes de 0,61; 0,74 et 0,81 respectivement sur *F. oxysporum*, *F. solani* et *A. niger*.

Sur la sensibilité des espèces pathogènes testés, *A. niger* a été le plus sensible à tous les antagonistes avec des coefficients d'antagonismes allant de 0,81 à 0,91.

Il est suivi de *F. solani* (0,74-0,84) et *F. oxysporum* (0,61-0,78). Le classement des isolats de *Trichoderma harzianum* en fonction du nombre de pathogènes contrôlés et du coefficient d'antagonisme exercé contre chaque pathogène est le suivant: *ThTab_ ThAfs_ ThKor_ ThTen_ ThBag* (Tableau 2).

Les résultats du deuxième test de co-culture réalisé avec les isolats *ThAfs* et *ThTab* sont présentés dans le tableau 3. Les isolats *ThAfs* et *ThTab* confirment leur fort pouvoir d'antagonisme sur les trois pathogènes avec des coefficients variant entre 0,83 et 0,93. Comme dans le premier test, les isolats antagonistes ont engendré une inhibition plus forte sur *A. niger* que sur *F. oxysporum* et *F. solani* (Tableau 3). On note en général que les coefficients d'antagonismes ont été légèrement plus élevés que ceux obtenus lors du premier test.

Action myco parasitaire

Les résultats sur le mycoparasitisme présentés dans le tableau 4 indiquent que seuls les isolats *ThAfs* et *ThTab* ont manifesté une action myco-parasitaire sur tous les agents pathogènes testés. Les isolats *ThKor* et *ThTen* ont manifesté des actions myco-parasitaires respectivement sur *A. niger* et *F. solani*. La méthode utilisée n'a pas permis de mettre en évidence une action mycoparasitaire claire de l'isolat *ThBag* sur les pathogènes testés.

Tableau 2

Croissance radiale de *F. oxysporum*, *F. solani* et *A. niger* et coefficients d'antagonisme de 5 isolats de *T. harzianum* sur les 3 agents pathogènes en confrontation directe.

Traitements	Espèces fongiques pathogènes					
	<i>F. oxysporum</i>		<i>F. solani</i>		<i>A. niger</i>	
	Croissance (cm)	α	Croissance (cm)	α	Croissance (cm)	α
Pathogène seul	2,7 ^c	-	3 ^c	-	7 ^c	-
Pathogène seul + <i>ThBag</i> *	1,1 ^b	0,61 ^b	0,8 ^b	0,74 ^b	1,4 ^b	0,81 ^b
Pathogène seul + <i>ThAfs</i>	0,7 ^a	0,75 ^a	0,5 ^{ab}	0,82 ^b	0,6 ^a	0,91 ^a
Pathogène seul + <i>ThKor</i>	0,9 ^{ab}	0,67 ^{ab}	0,7 ^{ab}	0,77 ^b	0,7 ^a	0,90 ^a
Pathogène seul + <i>ThTab</i>	0,7 ^a	0,78 ^a	0,5 ^a	0,84 ^a	0,8 ^a	0,89 ^{ab}
Pathogène seul + <i>ThTen</i>	0,9 ^{ab}	0,65 ^{ab}	0,7 ^b	0,76 ^b	0,8 ^a	0,88 ^{ab}
Valeur de F	68,661	3,412	149,647	2,532	225,105	2,467
Probabilité	0	0,053	0	0,106	0	0,113

Les moyennes suivies de la même lettre alphabétique dans chaque colonne ne sont pas différentes significativement au seuil de 5% (Duncan range test).

*codes des isolats de *T. harzianum*

Tableau 3

Croissance radiale de *F. oxysporum*, *F. solani* et *A. niger* et coefficients d'antagonisme de 5 isolats de *T. harzianum* sur les 3 agents pathogènes en confrontation directe (deuxième test).

Traitements	Espèces fongiques pathogènes					
	<i>F. oxysporum</i>		<i>F. solani</i>		<i>A. niger</i>	
	Croissance (cm)	a	Croissance (cm)	a	Croissance (cm)	a
Pathogène seul	4,1 ^c	-	3,7	-	8,0 ^a	-
Pathogène seul + <i>ThAfs</i>	0,3 ^a	0,92 ^b	0,3 ^a	0,93 ^b	0,6 ^b	0,93 ^b
Pathogène seul + <i>ThTab</i>	0,7 ^b	0,83 ^a	0,5 ^a	0,88 ^a	0,9 ^b	0,89 ^a
Valeur de F	694,28	949,53	425,55	2695,14	894,83	11156,83
Probabilité	0	0	0	0	0	0

Les moyennes suivies de la même lettre alphabétique dans chaque colonne ne sont pas différentes significativement au seuil de 5% (Duncan range test).

Tableau 4

Action myco-parasitaire des isolats de *T. harzianum* sur les agents pathogènes.

Pathogènes	Antagonistes				
	<i>ThBag</i>	<i>ThAfs</i>	<i>ThKor</i>	<i>ThTab</i>	<i>ThTen</i>
<i>A. niger</i>	+	-	-	-	+
<i>F. oxysporum</i>	+	-	+	-	+
<i>F. solani</i>	+	-	+	-	-

(+): croissance du pathogène (-): pas de croissance du pathogène.

Tableau 5

Croissance radiale de *F. oxysporum*, *F. solani* et *A. niger* et coefficients d'antagonisme de 5 isolats de *T. harzianum* sur les 3 agents pathogènes en confrontation à distance.

Traitements	Espèces fongiques pathogènes					
	<i>F. oxysporum</i>		<i>F. solani</i>		<i>A. niger</i>	
	Croissance (cm)	a	Croissance (cm)	a	Croissance (cm)	a
Pathogène seul	8,3 ^b	-	6,6 ^b	-	8,8 ^a	-
<i>ThAfs</i>	6,3 ^a	0,17 ^a	6,1 ^{ab}	0,07 ^{ab}	8,7 ^a	0,01 ^a
<i>ThTab</i>	6,5 ^a	0,21 ^a	5,6 ^a	0,15 ^b	8,6 ^a	0,02 ^a
Valeur de F	12,891	14,467	2,675	3,361	0,107	0,151
Probabilité	0,001	0,001	0,109	0,069	0,9	0,861

Les moyennes suivies de la même lettre alphabétique dans chaque colonne ne sont pas différentes significativement au seuil de 5% (Duncan range test).

Co-culture en confrontation à distance

Les deux isolats de *T. harzianum* ont exercé une légère réduction de croissance des pathogènes fongiques cultivés en confrontation à distance. Les coefficients d'antagonisme ont été nettement inférieurs à ceux obtenus en confrontation directe (Tableau 5). Ils ont varié ici de 0,01 à 0,21 contre 0,75 à 0,93 pour les mêmes couples de confrontation. *A. niger* a été le pathogène le plus résistant à l'action antagoniste et *F. oxysporum* a été le plus sensible (Tableau 5). Il n'y a pas eu de différence significative entre les deux isolats de *T. harzianum* testés.

Discussion

Les résultats obtenus à l'issue de cette étude révèlent que l'ensemble des isolats de *T. harzianum* isolés au Burkina Faso possèdent un pouvoir inhibiteur de la croissance mycélienne de *Aspergillus niger*, *F. oxysporum* et *F. solani* à des degrés variables selon l'espèce pathogène. Des auteurs comme Essalmani et Lahlou (10), Khaled (16), Ebtsam *et al.* (9), Agarwal *et al.* (1), Malathi et Mohan (20), Shaik and Sahera (29) ont mis en évidence l'activité inhibitrice des espèces de *Trichoderma* sur la croissance de *A. niger*, *F. oxysporum* et *F. solani*. Ces résultats vont également dans le même sens que ceux de Malathi et Mohan (20) qui ont montré que *T. harzianum* possède un fort pouvoir d'inhibition contre *F. oxysporum* f.sp *cepae* (82,77%). Les cinq isolats testés ont inhibé la croissance des trois agents pathogènes mais tous n'ont pas exercé d'action myco-parasitaire sur tous les agents pathogènes testés et l'intensité des inhibitions a varié légèrement d'un pathogène à un autre et d'un antagoniste à l'autre mais des valeurs de coefficients d'antagonisme supérieures à 0,75 ont été obtenues avec deux des isolats testés. *En sus*, l'antagonisme lors de la confrontation à distance a été beaucoup plus faible que lors de la confrontation directe. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les *T. harzianum* utilisent plusieurs modes d'action en fonction de la nature de l'agent pathogène pour exercer leur pouvoir antagoniste.

Selon Benhamou et Chet (4), chez les champignons, la chitine est un constituant essentiel de la paroi qui entoure et protège les cellules vis-à-vis de l'environnement.

La paroi cellulaire est donc essentielle pour la croissance fongique et pour la résistance du champignon aux agressions externes. Son altération liée à l'action des *Trichoderma* entraînerait une altération du mycélium qui se traduit par une agrégation, une rétraction et une vacuolisation du cytoplasme. Son assertion est confirmée par Daami-remadi et ElMahjoub (8), qui indiquent que le pouvoir inhibiteur des espèces de *Trichoderma* se manifeste par une importante lyse des cellules mycéliennes des pathogènes. Caron (6) quant à lui, rapporte que *Trichoderma* a la capacité d'attaquer les agents pathogènes via différents modes d'action. Il peut utiliser l'antibiose qui résulte de la production de substances qui agissent comme des «antibiotiques» et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène. Il peut également passer par la compétition qui se manifeste par l'aptitude de *Trichoderma* à utiliser les mêmes ressources du milieu (aires d'alimentation, sites de développement) plus vite que les champignons pathogènes mais *Trichoderma* emploie ce mode d'action surtout pour occuper les lieux avant l'arrivée des indésirables. Il peut enfin utiliser le parasitisme qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque *Trichoderma* s'enroule autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui «injectant» des substances (enzymes) qui le détruisent. Les résultats obtenus en mode de confrontation à distance indiquent que l'utilisation de composés volatiles n'a pas été la principale voie qui explique l'antagonisme observé. La forme des colonies en co-culture en confrontation directe dans tous les couples testés montre que *T. harzianum* occupe la plus grande surface de la boîte de Pétri. Dans certains cas, la colonie de *T. harzianum* se développe sur celle de l'agent pathogène. Selon Sharma (30), ces types d'interactions indiquent respectivement la compétition et le parasitisme.

Ainsi on pourrait dire que dans notre cas ce sont ces deux modes d'antagonisme qui ont été utilisés majoritairement par les isolats de *T. harzianum* même si une petite partie de l'effet antagoniste observé pourrait résulter de la production de substances volatiles comme l'indique les résultats de la confrontation à distance. *Aspergillus niger*, *F. oxysporum* et *F. solani* sont des champignons qui sont transmis le plus souvent par les semences (7, 26).

Ainsi, il serait pertinent d'envisager des essais sur les deux isolats de *T. harzianum* les plus efficaces à savoir celui de Tabtenga et celui de «Plants Health Products» de l'Afrique du Sud en pépinière. Il pourrait s'agir soit d'un traitement des semences ou un traitement des aires des pépinières qui sont le plus souvent de petites tailles avec une forme donnée de ces isolats. On pourra ainsi mettre à la disposition des producteurs, un outil simple et peu coûteux pour une bonne gestion des pépinières d'oignon d'où partent plusieurs problèmes parasitaires de l'oignon.

Conclusion

Les résultats obtenus de la présente étude permettent de conclure que les cinq isolats de *Trichoderma harzianum* possèdent tous un fort pouvoir antagoniste contre *A. niger*, *F. oxysporum* et *F. solani* avec des coefficients d'antagonisme allant de 0,6 à 0,93 en confrontation directe et de 0,01 à 0,21 en confrontation à distance. Les cinq isolats ont utilisé principalement la compétition et le parasitisme pour exercer leur pouvoir antagoniste sur les trois souches pathogènes. Deux isolats dont un originaire du Burkina Faso (*ThTab*) et un de l'Afrique du Sud (*ThAfs*) ont été les plus efficaces et on exercé un pouvoir mycoparasitaire sur toutes les espèces pathogènes testées. Ces résultats incitent à réaliser des études plus étendues sur cette action antagoniste en réalisant des essais de traitement de semences ou des aires des pépinières avec plusieurs formulations des deux isolats contre ces trois champignons qui sont souvent transmis par les semences.

Remerciements

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de phytopathologie de l'Institut du Développement Rural (IDR) de l'Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Burkina Faso avec l'appui financier de ARES/Belgique. L'auteur voudrait adresser ses vifs remerciements à l'équipe des chercheurs et techniciens du laboratoire ainsi qu'à ARES pour avoir permis son aboutissement.

Références bibliographiques

1. Agarwal T., Malhotra A., Biyani M.M. & Trivedi P.C., 2011, *In vitro* interaction of *Trichoderma* isolates against *Aspergillus niger*, *Chaetomium* sp. and *Penicillium* sp., *Indian J. Fundam. Appl. Life Sci.*, 1, 3, 125-128.
2. Bardia P.K. & Rai P.K., 2007, *In vitro* and field evaluation of biocontrol agents and fungicides against wilt of cumin caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*, *J. Spices Aromat. Crops*, 16, 2, 88-92
3. Bardin S.D., Huang H., 2003, Efficacy of stickers for seed treatment with organic matter or microbial agents for the control of damping-off of sugar beet, *Plant Pathol. Bull.*, 12, 19-26.
4. Benhamou N. & Chet L., 1996, Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *T. harzianum*: ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction., *Phytopathol.*, 86, 405-416.
5. Benitez T., Rincon, A.M., Limon M.C. & Codon A.C., 2004, Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains, *Int. Microbiol.*, 7, 249-260
6. Caron J., Laverdière L., Thibodeau P. O. & Bélanger R., 2002, Utilisation d'une souche indigène de *Trichoderma harzianum* contre cinq agents pathogènes chez le concombre et la tomate de serre au Québec, *Phytoprotection*, 83, 73-87.

7. Conn K.E., Lutton J.S. & Rosenberger S.A., 2012, *Onion. Disease Guide. A practical guide for seedmen, growers and agricultural advisors*, Seminis Grow forward, 69.
8. Daami-remadi M. & El mahjoub M., 2001, Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. *Ann. INRAT*, **74**, 167-186.
9. Ebtsam M.M., Kawi K.A. & Khalil M.N.A., 2009, Efficiency of *Trichoderma viride* and *Bacillus subtilis* as Biocontrol Agents against *Fusarium solani* on Tomato Plants, *Egypt. J. Phytopathol.*, **37**, 47-57.
10. Essalmani H. & Lahlou H., 2004, Induction par *Trichoderma harzianum* de la résistance des plantes de lentille contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lentis*. *Essalmani., Actes Inst. Agron.*, **24**, 1 & 2, 51-58.
11. Gautam S.S., Kanchan K., Satsangi G.P., 2015: Effect of *Trichoderma* species on germination and growth of Mungbean (*Vigna radiata* L.) and its antagonistic effect against fungal pathogens, *Int. J. Adv. Res.*, **3**, 2, 153-158.
12. Hibar K., Daami-Remadi M. & El Mahjoub M. 2007, Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* by *Trichoderma* spp., *Tunis. J. Plant Prot.*, **2**, 47-58.
13. Howell C.R., 2003, Mechanisms employed by *Trichoderma* spp. in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.*, **87**, 4-10.
14. Hayden N.J., Maude R.B. & Proctor F.J., 1994, Studies on the biology of black mold (*Aspergillus niger*) on temperate and tropical onions. 1. A comparison of sources of the disease in temperate and tropical field crops, *Plant Pathol.*, **43**, 562-569
15. Kaboré J., 2012, *Analyse de la chaîne de valeur oignon de l'Oudalan et de son potentiel d'insertion dans les marchés urbains au Burkina Faso. Mémoire de master en Sciences Humaines*, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 71 p.
16. Karpagavalli S., Ramabadan R., 2001, Effect of fungicides and *Trichoderma* species on cellulolytic enzyme production, damping-off incidence and seedling vigour of tomato, *Plant Dis. Res.* **16**, 2, 179-185.
17. Khaled H., 2007. Induction of Resistance in Tomato Plants against *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* by *Trichoderma* spp., *Tunis. J. Plant Prot.*, **2**, 47-58.
18. Lone M.A., Wani M.R., Sheik S.A., Sahay S. & Dar M. S., 2012, Antagonistic Potentiality of *Trichoderma harzianum* against *Cladosporium sphaerospermum*, *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum*, *J. Biol., Agric. Healthcare*, **2**, 8, 2224-3208.
19. MAHRH., 2007, *Analyse de l'économie de la production maraîchère*. Rapport final. 110 p.
20. Malathi S. & Mohan S., 2011, Evaluation of biocontrol agents and organic amendments against onion basal rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, *Madras Agric. J.*, **98**, 10-12, 382-385.
21. Mathur S.B. & Kongsdal O., 2003, *Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi*, First edition, Kandrupsbogtrkkeri Publication, Denmark. 425.
22. Meraj-ul-Haque, Nandkar P.B., 2012, Antagonistic effect of rhizospheric *Trichoderma* isolates against tomato damping-off pathogen, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Int. J. Res. BioSci.*, **1**, 27-31.
23. Morsy Ebtsam M., 2005, *Role of growth promoting substances producing microorganisms on tomato plant and control of some root rot fungi*. Ph.D. Thesis, Fac. Agric. Ain shams Univ., Cairo, Egypt.
24. Özer N. & Köycü N.D., 2004, *Seed-borne fungal diseases of onion and their control*. In: Mukerji K.G. (ed.), *Dis. Manage. Fruits Veg.*, **1**, 281-306, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
25. Özer N., Koç M., Der B., 2009. The sensitivity of *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cepae* to fungistasis in onion growing soils, *J. Plant Pathol.*, **91**, 401-410.
26. Oyono M.E.A., 2008, *Risques environnementaux et sanitaires liés à l'utilisation des pesticides dans le maraîchage au Burkina: cas des sites de Tanghin, Boulmiougou et Yitenga*. Mémoire de Diplôme d'ingénieur en équipement rural. Institut International d'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement, Burkina Faso, 101 p.
27. Schwartz H.F. & Mohan K.S., 1995, *Compendium of onion and Garlic Diseases*. APS Press. Am. *Phytopathol. Soc.* 53 p.
28. Shahnaz E., Razdan V.K., Rizvi S.E.H., Rather T.R., Sachin Gupta S. & Muneeb A., 2013, Integrated Disease Management of Foliar Blight Disease of Onion: A Case Study of Application of Confounded Factorials, *J. Agric. Sci.*, **5**, 1, 2013.

29. Shaikh F.T. & Sahera N., 2013, *In Vitro* Assessment of Antagonistic Activity of *Trichoderma Viride* and *Trichoderma Harzianuma* against Pathogenic Fungi, *Indian J. Appl. Res.*, **3**, 57-59.
30. Sharma P., 2011, Complexity of Trichoderma-Fusarium interaction and manifestation of biological control, *Aust. J. Crop sci.*, **5**, 8, 1027-1038
31. Smolinska U. & Kowalczyk W., 2014, The impact of the Brassicaceae plant materials added to the soil on the population of *Fusarium solani* (Mart.) and *Fusarium oxysporum* Schlecht, *J. Hortic. Res.*, **22**, 1, 123-129.
32. Soyong K., Srinon W., Ratanacherdchai K., Kanokmedhakul S. & Kanokmedhakul K., 2005, Application of antagonistic fungi to control anthracnose disease of grape, *J. Agric. Technol.*, **1**, 33-42.
33. Tarpaga W.V., 2012, *Contribution à l'étude de la montaison prématurée des variétés tropicales d'oignon (Allium cepa L.): Cas du Violet de Galmi cultivé au Nord du Burkina Faso*. Thèse de Doctorat de l'Université de Ouagadougou, Burkina Faso. 118p.
34. Zaghoul R.A., Hanafy Ehsan A., Neweigy N. A. & Khalifa Neamat A., 2007, *Application of biofertilization and biological control for tomato production*. 12th Conference of Microbiology, Cairo, Egypt, (18-22) March, 198-212.

T.G. Dabire, Burkinabé, Doctorant, Université Catholique de Louvain, Earth and Life Institute, Faculté des Bioingénieurs, Louvain-la-Neuve Belgique, Doctorat en cotutelle avec: Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Institut du Développement Rural, Bobo-Dioulasso Burkina Faso.

S. Bonzi, Burkinabé, PhD, Assistant, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Institut du Développement Rural, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

I. Somda, Burkinabé, PhD, Professeur titulaire, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Institut du Développement Rural, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso

A. Legreve, Belge, PhD, Professeur ordinaire, Université catholique de Louvain, Earth and Life Institute, Louvain-la-Neuve, Belgique.