



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE
UNIVERSITE ABDELHAMID IBN BADIS DE MOSTAGANEM



Mémoire

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master dans le Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences agronomiques

Spécialité : Protection des cultures

Thème

Essai de lutte biologique contre
Fusarium oxysporum f.sp. *ciceris*, agent causal de la
fusariose dupois chiche (*Cicer arietinum* L.), par
Pseudomonas fluorescens.

Présenté par :

Mlle Dzanouni Imène

Mlle Djaafri Asmaa

Devant le jury :

Présidente

Mme SAIAH Farida

MCB, Université Mostaganem

Promoteur

Mr MAHIOUT Djamel

MCA, Université Mostaganem

Examinatrice

Mme BADAoui M. Ikram

MCB, Université Mostaganem

Année Universitaire : 2021/2022

REMERCIEMENTS

Au terme de cette étude, nous remercions avant tout, Dieu tout puissant ALLAH qui nous a guidés sur le chemin de la science et nous a permis la réalisation de ce présent travail.

- *Nous tenons plus particulièrement à remercier :*

Mr. MAHIOUT Djamel, Maitre de conférences à l'université de Mostaganem, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Mme SAÏAH Farida, Maître de conférences à l'Université de Mostaganem, qui nous fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Mme BADAoui M. Ikram, Maitre de conférences à l'université de Mostaganem qui a bien voulu accepter d'examiner ce mémoire.

MrSekkai Ibrahim Doctorant à l'Université de Mostaganem. Nous sommes particulièrement reconnaissantes et honorées par ses conseils, ses orientations et son aide précieuse tout au long de ce travail.

Nous remercions vont également à toute l'équipe pédagogique de l'université de Mostaganem qui a contribué et veillé à la réussite de notre formation durant tout notre cursus universitaire.

Nous remercions également tous nos enseignants(es) du département d'agronomie de Mostaganem et spécialement ceux de notre spécialité Protection des Cultures qui ont contribué à notre formation.

Que toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail, trouvent ici l'expression de notre profonde gratitude et reconnaissance.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire, le fruit de plusieurs années d'études et de sacrifices, à :

*Ma chère mère **Leila***

La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon Coeur, ma vie et mon bonheur.

*Mon cher grand-père **Aissa***

Ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.

*Ma chère grand-mère **Fatiha***

La personne qui peut remplacer n'importe qui, mais qui ne peut être remplacée par personne

*A ma cher soeur, **Neila** La joie de ma vie.*

*Et la sœur que ma mère n'a pas enfantée **Wiam** la vrai ami est celui qui fait ressortir le meilleur en moi... pas de mot pour te décrire*

*A mon binôme **Asmaa** merci pour son soutien et son amitié.*

*A toutes les personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieure : ma famille (**Tantes, Oncles, Cousin et Cousine...**), mes aimables amis (**Kalthom, Amina, Aicha...**), collègues d'études (**Asmaa, Chaima, Ilham, Nessrine, Faiza, Bachir, Youcef, Baba, Aimen, Souleimen, Bayoub, Idrisse, Mohamed, Khodir, Fouzia**) et toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.*

Que Dieu vous garde et vous protège.

Imène

Dédicaces

Je dédie ce mémoire, le fruit de plusieurs années d'études et de Sacrifices, à mes chers parents à :

*Ma chère mère **Alia***

La lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon Coeur, ma vie et mon bonheur.

*Mon cher père **Taib***

Ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir.

*A mes frères et sœurs, **Hiba, Bouchera, Mouhamed, Imene, Hanane, Amine, Abd el rassak, et le petit adorable Louay (Abido)**
Ma belle sœur **Karima***

*A mon binôme, **Imène** merci pour son soutien et son amitié.*

*A toutes les personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieure : ma famille (**Tantes, Oncles, Cousin et Cousine...**), mes aimables amis(**Fatima, Ikram, Aicha...**) , collègues d'études(**Imène, Ilham, Chaima, Nessrine, Fouzia ..**) , et toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.*

Asmaa

Résumé

Nous avons testé les capacités antagonistes de 5 souches de bactéries appartenant à *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, responsable de la fusariose vasculaire du pois chiche.

Les cinq souches de *Pseudomonas* ont été collectées de différentes régions de Mostaganem. Elles proviennent de la rhizosphère du pois chiche.

Les tests de confrontation sont réalisés *in vitro*, selon deux modes de confrontation : en confrontation directe ou antibiose et en confrontation indirecte par l'intermédiaire de substances volatiles.

Les résultats obtenus révèlent une importante inhibition de la croissance mycélienne et de la sporulation du parasite lors test d'antibiose. En revanche dans le cas du test des substances volatiles, seule la croissance mycélienne a été inhibée, la sporulation a au contraire été stimulée en présence des souches de *Pseudomonas fluorescens*.

Mots clés : *Pseudomonas fluorescens*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, *in vitro*, confrontation directe, confrontation indirecte.

Abstract

We tested the antagonistic capabilities of 5 strains of bacteria belonging to *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, responsible for chickpea vascular *fusarium wilt*.

The five strains of *Pseudomonas* were collected from different regions of Mostaganem. They come from the rhizosphere of the chickpea.

Confrontation tests are carried out *in vitro*, according to two modes of confrontation: in direct confrontation or antibiosis and in indirect confrontation via volatile substances.

The results obtained reveal an important inhibition of mycelial growth and sporulation of the parasite during antibiotic testing. On the other hand, in the case of the test of volatile substances, only mycelial growth was inhibited, sporulation was instead stimulated in the presence of strains of *Pseudomonas fluorescens*.

Key words: *Pseudomonas fluorescens*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, *in vitro*, direct confrontation, indirect confrontation.

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Plante de pois chiche	3
Figure 02 : Description morphologique du pois chiche	5
Figure 03 : Les différentes couleurs de fleurs de pois chiche.....	5
Figure 04 : Les différents types de graine de pois chiche	7
Figure 05 : Pourcentage de production de pois chiche par continent en 2018.....	9
Figure 06 : La distribution potentielle du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> estimée par CLIMEX ^M	11
Figure 07 : Variabilité de l'aspect de la colonie et de la morphologie des microconidies et macroconidies et chlamydospores du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	13
Figure 08 : Cycle biologique du <i>Fusarium oxysporum</i>	15
Figure 09 : Dispositif utilisé pour le teste de confrontation directe.....	28
Figure 10 : Dispositif utilisé pour le teste de confrontation indirecte	30
Figure 11 : Effet des souches de <i>P.fluorescens</i> sur la croissance mycélienne de FOC, après 6 jours d'incubation. Du haut, de gauche à droite (B1, B2, B3,B4, B5, Témoin).....	32
Figure 12 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC après 6 jours de confrontation directe.....	32
Figure 13 : Taux d'inhibition de sporulation après 10 jours de la confrontation directe	33
Figure 14 : Effet des substances volatiles des souches de <i>P.fluorescens</i> sur la croissance mycélienne de F.O.C, après 6 jours d'incubation. Du haut, de gauche à droite (B1, B2, B3, B4, B5, Témoin).....	34
Figure 15 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC, après 6 jours de la confrontation indirecte	34
Figure 16 : Taux de stimulation de la sporulation après 10 jours de la confrontation indirecte	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01 : Souches de <i>Pseudomonas fluorescens</i> et codification adoptée	27
Tableau02 : Composition du bouillon nutritif	27
Tableau 03 : Composition du milieu PDA pour 1 L d'eau distillée.....	28
Tableau 04: Mensurations des zones d'inhibition des bactéries	32

LISTE DES ABREVIATIONS

FOC	<i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i> .
PDA	Milieu Potato Dextrose Agar.
DO	Densité optique.
CFU	Unité formant colonie.
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
COVs	Composées organiques volatiles

TABLEAU DES MATIÈRES

Résumé	
Abstract	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : Données sur la culture du pois chiche	
I.1. Généralités	3
I.2. Classification et caractères botaniques	4
a) classification.....	4
b) caractères botanique.....	4
I.3. Exigences agro-écologiques de la plante	6
I.4. Les cultivars du pois chiche	6
I.5. Intérêt du pois chiche	7
c) Intérêts nutritionnels.....	7
d) Intérêts écologique et agronomique	8
I.6. Le pois chiche en Algérie	8
I.7. Situation de la culture du pois chiche.....	9
I.8. Présentation de la Fusariose du pois chiche.....	10
I.8.1. Historique.....	10
I.8.2. Distribution et extension géographique de la maladie dans le monde	10
I.8.3. Agents responsables de la fusariose du pois chiche.....	11
I.8.3.1. Principales caractéristiques des deux espèces (<i>Fusarium ciceris</i> et <i>Fusarium redolens</i>)	12
I.8.3.1.1. <i>Fusarium ciceris</i>	12
a) Biologie	12
• Les microconidies	13
• Les macroconidies	13

• Chlamydospores	13
b) cycle de vie du <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp.ciceris.....	14
I.8.3.2. <i>Fusarium redolens</i>	15
e) Taxonomie.....	16
I.9. La lutte	16
I.9.1. Lutte culturale	17
I.9.2. La sélection variétale	17
I.9.3. Lutte chimique	18
I.9.4. Lutte biologique	19

Chapitre II : La lutte biologique contre les champignons phytopathogènes

II.1. Mécanismes d'antagonisme en lutte biologique	21
II.1.1. La compétition	21
II.1.2. Le mycoparasitisme	21
II.1.3. L'antibiose	22
II.1.4. Emission de substances volatiles	22
II.2. Les <i>Pseudomonas</i> antagonistes de champignons et de bactéries phytopathogènes..	23
II.3. Biosynthèse des métabolites secondaires chez les <i>Pseudomonas</i>	23

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Matériels	27
III.1.1. <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. ciceris (FOC).....	27
III.1.2. <i>Pseudomonas fluorescens</i>	27
III.1.3. Milieu de culture	27
III.2. Méthodes	28
III.2.1 Préparation des bactéries antagonistes	28
III.2.2. Test de confrontation.....	28
III.2.2.1. Test de confrontation directe	28
III.2.2.1.1. Evaluation de la croissance mycélienne.....	29
III.2.2.1.2. Evaluation de la sporulation	29

III.2.2.2. Test de confrontation indirecte	29
III.2.2.1. Mesure de la croissance mycélienne	30
III.2.2.2.2. Evaluation de la sporulation.....	30
Chapitre IV : Résultats et discussions	
IV.1. Etude <i>in vitro</i> de l'activité des <i>Pseudomonas</i>	32
IV.1.1. Confrontation directe	32
a) Evaluation de la croissance mycélienne	32
b) Evaluation de la sporulation.....	33
IV.1.2. Technique de Confrontation indirecte.....	33
a) Evaluation de la croissance mycélienne.....	33
b) Evaluation de la sporulation.....	35
IV.2. Discussion.....	36
Conclusion.....	38
Annexe	39
Références bibliographiques	

Introduction

Les légumineuses alimentaires sont une denrée à large consommation et à grand intérêt économique. Elles comprennent des espèces très importantes utilisées comme cultures vivrières qui viennent en second après les céréales et avec qui elles forment la base du régime alimentaire en Afrique, en Asie et en Amérique latine (**Broughton, 2003**). Parmi elles, le pois chiche, est l'une des premières plantes domestiquées par l'homme à travers l'histoire (**Abdelguerfi-Laouar et al., 2000**).

En Algérie, malgré la forte augmentation des emblavures de la culture de pois chiche, les rendements sont restés faibles. Cette faible production est due notamment aux problèmes de mauvaises herbes, de maladies parasitaires, au mauvais état des semences, en plus des contraintes abiotiques comme la sécheresse et la salinité.

Parmi les maladies les plus importantes de la culture du pois chiche, les champignons telluriques constituent l'un des principaux facteurs limitant le développement de cette culture à travers le monde et en Algérie. Elles provoquent la pourriture des racines et /ou le flétrissement de la plante. *Fusarium oxysporum* f.sp.*ciceris* (Padwick) (FOC), un champignon parasite qui persiste de longues années dans le sol, constitue une menace permanente pour la culture de pois chiche car causant un flétrissement vasculaire irréversible (**Jiménez-Díazetal., 2015**) ce qui se traduit par des pertes rendement de la culture considérables.

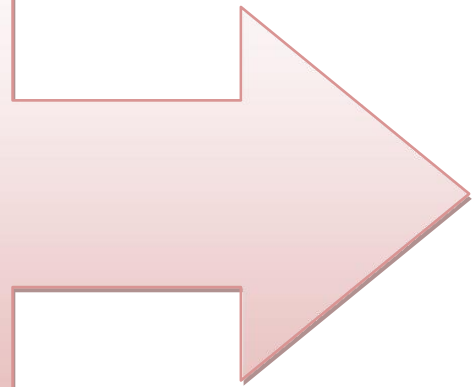
La lutte biologique contre les champignons phytopathogènes telluriques fait appel à l'antagonisme de plusieurs espèces de champignons et bactéries antagonistes. L'efficacité de la lutte dépend du choix de souches antagonistes performantes à partir de critères impliquant une bonne connaissance de particularités biologiques du matériel bactériologique utilisé. Pour *Pseudomonas*, les modes d'action antagoniste peuvent servir à caractériser les souches.

Nous avons défini un programme de sélection des souches de *Pseudomonas fluorescens* pour lutter contre la fusariose vasculaire du pois chiche. Afin de réaliser ce travail, nous avons choisi de confronter *in vitro* une souche de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* avec 5 souches de *Pseudomonas fluorescens* pour lesquelles nous avons mesuré individuellement 2 modes d'action : Antibiose et émission de substances volatiles agissant sur la croissance et la sporulation.

Le but de ce travail est de savoir, d'une part si la souche FOC a une réaction différente face à l'antagonisme global de *P. fluorescens* et d'autre part quelle est l'incidence des 2 modes d'action dans le phénomène antagoniste.

Chapitre I :

*Données sur la culture
du pois chiche et
Fusarium oxysporum
f.sp *ciceris*.*



I.1. Généralités :

Les premiers vestiges de pois chiche (*Cicer arietinum*) (**Figure 1**) utilisés comme aliments datent du 8^{ème} millénaire avant JC à Tellel-Kerkh et Tell Abu Hureyra Syrie et entre 7500-6800 avant JC au Cayonu et 5450 avant JC à Hacilar en Turquie. En Egypte et au Moyen-Orient, le pois chiche est susceptible d'avoir été domestiquées dans le sud-est de l'Anatolie. À la fin du néolithique la culture du pois chiche se propage vers l'ouest de la Grèce moderne. Le pois chiche a été introduit dans le Nouveau Monde par les Espagnols et les Portugais au 16^{ème} siècle, et les types Kabuli ont été déplacés vers l'Inde à partir de la Méditerranée via la route de la soie au 18^{ème} siècle. Le type Desi a probablement été importé au Kenya par les immigrants indiens au cours du 19^{ème} siècle (**Van Der Maesen, 1972**). Le Pois chiche est très apprécié en Algérie par ses qualités culinaires, comme c'est le cas dans tous les pays méditerranéens (**Labdi, 1990**).



Figure 01 : Plante de pois chiche (**Original, 2022**).

I.2. Classification et caractères botaniques :**a) classification :**

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Fabales

Famille : Fabaceae

Genre : Cicer

Espèce : *Cicer arietinum* L. (USDA, 2008).

b) caractères botaniques

Sur le plan botanique, le pois chiche cultivé (*Cicer arietinum* L.) est une plante herbacée (dressée ou rampante), annuelle, diploïde ($2n=16$) et autogame présentant moins de 1% d'hybridation naturelle (Singh et Reddy, 1991).

La plante comporte (Figure 02) une tige de 30 cm à 70 cm de hauteur, d'aspect velu et glanduleux. Elle est constituée de 1 à 8 branches primaires, des branches secondaires et tertiaires. On se basant sur l'angle des branches de la verticale, cinq types de port peuvent être identifiés: érigés, semi-dressés, semi-étalés, étalés et prostrés (Gaur et al., 2010).

Les feuilles sont velues, composées et imparipennées avec 5 à 17 paires de folioles crénelées-dentées (Gaur et al., 2010). Elles sont hermaphrodites, de couleurs violettes ou pourpres, blanches et parfois rose (Figure 03). Les fruits sont des gousses ovales à réniformes, mesurent entre 15 et 30 mm de long sur 8 à 15 mm de large et portent de 1 à 3 graines (Saxena et Singh, 1987). Les graines chez le pois chiche présentent peu d'albumen, leurs couleurs, leurs tailles ainsi que leurs formes, varient selon le type de pois chiches.

Le système racinaire du pois chiche est généralement fort et profond (peut atteindre les 1m) qui se développe dans les deux sens, latéral et pivotant. Les racines latérales forment des nodules avec les bactéries symbiotiques, *Rhizobium*, capables de fixer l'azote atmosphérique sous une forme utilisable par les plantes. Les nodules sont visibles environ un mois après la levée des plantes, et généralement confinés aux premiers 15 cm de la surface (Gaur et al., 2010).

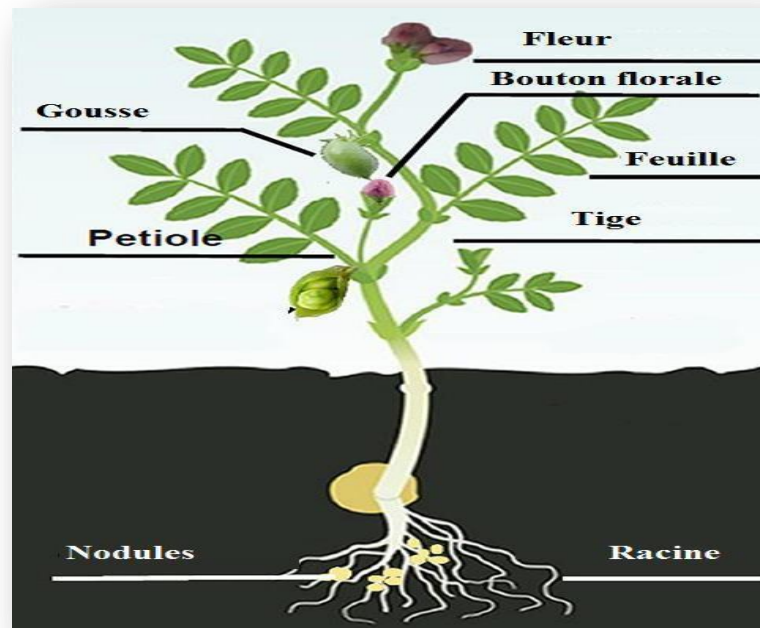


Figure 02 : Description morphologique du pois chiche (Kudapa et al., 2018)



Figure 03 : Les différentes couleurs de fleurs de pois chiche (Bellemou et al., 2016)

I.3. Exigences agro-écologiques de la plante

- **Type du sol :** Le pois chiche se cultive dans différents types de sols (**Khan et al., 2009 ; Babar et al., 2009 ; Yusuf et al., 2002**). Il est peu exigeant en qualité du sol, mais préfère les sols lourds, meubles, profonds, de texture limoneuse et argilo siliceuse de couleur noire rougeâtre ou noirâtre, bien drainés, avec une bonne capacité de rétention, il redoute les sols calcaires, les sols secs aussi qui prédisposent la plante à donner des graines de mauvaise cuisson (**Berger et al., 2003**).
- **Humidité du sol:** Les besoins en humidité du sol de la plante sont de 15-40% pendant la germination et le développement de la graine, mais l'humidité excessive du sol à la floraison réduit le rendement en grain (**Wery et al., 1994**).
- **PH du sol:** Le pois chiche se cultive dans des sols à pH neutre ou alcalin, variant de 7,3 à 8,2 (**Berger et al., 2003**).
- **Nutrition minérale:** Le pois chiche exige du potassium qui favorise la formation des graines et qui existe dans la solution du sol en très petite quantité (**ITGC, 2003**). Alors que la fertilisation azotée n'est nécessaire que pour favoriser le départ de l'activité des nodosités puisque le pois chiche fixe l'azote atmosphérique (**Allali et al., 2007**).

I.4. Les cultivars du pois chiche

Il existe trois types de pois chiche existents, à savoir :

- **Type Desi** ou "**microsperma**" : caractérisé par des petites graines, angulaire avec la présence éminente d'un bec et une surface rugueuse. Les téguments de la graine sont colorés et épais ; les couleurs comprennent diverses nuances qui combinent : le marron, le jaune, le vert et le noir (**Figure 04 (a)**).
- **Type Kabuli** ou "**macrosperma**" : caractérisé par des grosses graines, de couleur blanche ou beige avec la forme de « tête de bélier », des téguments minces et lisses (**Figure 04 (b)**).
- Un troisième type intermédiaire appelé **Gulabi** a été identifié par certains auteurs, présente des grains lisses, de couleur claire et d'une taille moyenne (**ITGC, 2011**) (**Figure 04 (c)**).

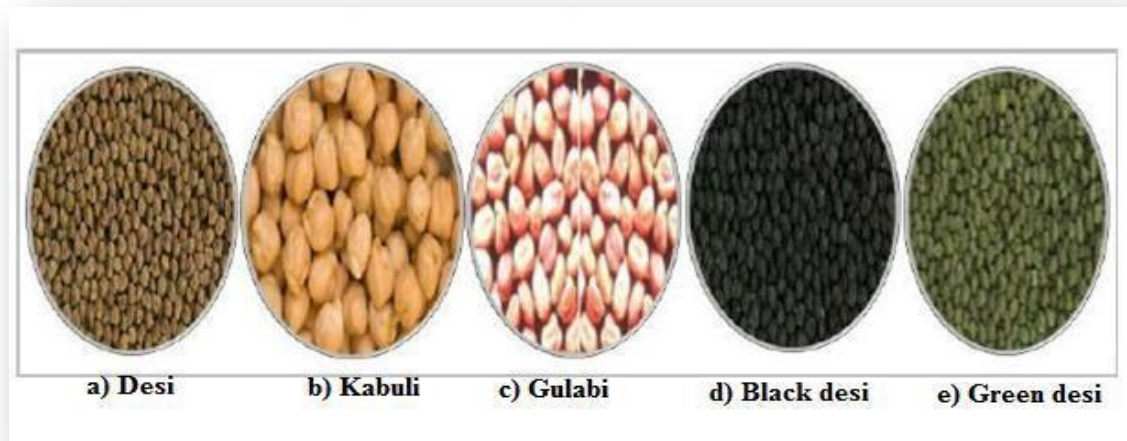


Figure 04 : Les différents types de graine de pois chiche (Sing et al., 2015).

I.5. Intérêt du pois chiche

a) Intérêts nutritionnels

Les légumineuses alimentaires y compris le pois chiche occupent une place importante dans l'alimentation humaine pour de nombreux pays en voie de développement. Les nutritionnistes recommandent vivement l'introduction des légumineuses comme le pois chiche dans l'alimentation humaine au vu de nombreux avantages nutritionnels de cette ressource alimentaire (Ravi et Bhattacharya, 2004). Ainsi, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande une consommation de 80 g/jour de légumineuses par personne (Yadav et al., 2007). Les pois chiches représentent une excellente source de protéine et de glucides qui, ensemble, représentent environ 80% du poids sec des grains (Singh et al., 1984).

Toutefois, la qualité nutritionnelle des graines peut varier en fonction de la variété, de l'environnement, du climat, de la biologie du sol, des pratiques culturales et des facteurs de stress biotiques et abiotiques (Singh et al., 1984).

En effet, le pois chiche est destiné, en sa majeure partie, pour la consommation humaine et les débris de culture sont utilisés pour le bétail comme fourrage (Upadhyaya et al., 2017). Par ailleurs, la plante entière, la graine et la paille, peuvent aussi être utilisées dans l'alimentation des ruminants et des volailles.

b) Intérêts écologiques et agronomiques

Sur le plan écologique et agronomique les légumineuses permettent la restauration de la fertilité des sols grâce à leur capacité de fixation d'azote atmosphérique et donc la protection de l'environnement en réduisant les apports d'azote et par conséquent, la réduction des coûts de production.

Selon **Gaur et al. (2012)**, une culture de pois chiche peut fixer, par voie symbiotique, 140kg d'azote/ha. Grâce à ces importantes quantités d'azote, incorporées dans le sol et délaissées dans les résidus, la culture du pois chiche maintient, pour une longue durée, la fertilité du sol et entre dans le système d'agriculture durable (**Gaur et al., 2012**).

En Algérie, les agriculteurs cultivent le pois chiche en tête d'assolement, en rotation avec les céréales.

I.6. Le pois chiche en Algérie

De l'indépendance à 1987, l'évolution des superficies a connu des fluctuations remarquables. Les augmentations de celles-ci sont devenues plus prononcées en 1983, avec l'exécution du programme de diminution des superficies consacrées à la jachère et d'intensification de la production des légumineuses alimentaires (**Labdi, 1990**). Mais depuis, on note une régression plus au moins constante des superficies passant de 68 590 ha en 1987 à 19 480 ha en 2000 (**FAO, 2019**). Ces dernières années et selon les statistiques de la **FAO (2019)**, certaines augmentations considérables de superficie ont été enregistrées mais qui restent de loin inférieures à celles de 1987 (29 320 ha en 2013 ; 32 065 ha en 2018).

Concernant la production nationale moyenne des pois chiches, elles fluctuent d'une décennie à l'autre. Le plus bas niveau a été enregistré en 2000 avec 66 610 qx. Les productions les plus importantes ont été observées durant les années 2012-2014, avec une production maximale en 2014 de 351 180 qx. Durant les deux années 2015 et 2016, une nette régression de la production a été notée qui a été estimée à plus de 15 000 qx (**FAO, 2019**).

L'analyse de l'évolution des superficies récoltées, des productions et des rendements montre que l'évolution de la production nationale moyenne ne suit pas celle des superficies mais plutôt celle des rendements. Au cours de la décennie 2008-2018, le rendement est passé d'environ 5,5 q/ha à 11,39 q/ha (**FAO, 2019**).

Cependant, la production nationale est très faible, irrégulière et ne peut satisfaire qu'une petite partie de la consommation locale croissante. En conséquence, afin de combler le déficit de la production en pois chiche, l'Algérie fait recours à des importations massives, de l'ordre de 66 000 tonnes, soit plus de 200% de sa production (FAO, 2019).

I.7. Situation de la culture de pois chiche

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est la deuxième légumineuse alimentaire la plus cultivée dans le monde en termes de production et de superficie (Gaur et al., 2012). En 2016, la production mondiale a été estimée à 17 217 705 tonnes pour une superficie totale de 17 849 300 ha (FAO, 2019).

Plus de 80% de la production mondiale annuelle provient de l'Asie ; l'Inde étant le principal producteur de cette légumineuse (Figure 05). L'Afrique, par contre, ne contribue qu'avec 5.9% de la production annuelle mondiale, avec l'Ethiopie comme principal producteur du continent (FAO, 2019).

Auparavant, 90% des pois chiches se consommaient dans le pays où ils sont produits ; mais au cours de ces dernières années les échanges mondiaux de pois chiches ont fait que des pays exclusivement exportateurs ont apparus (FAO, 2019). En effet, les cinq plus grands exportateurs sont : l'Australie, la Russie, le Canada, l'Argentine et l'Inde. Par contre, les cinq plus grands importateurs sont : le Pakistan, l'Inde, le Bangladesh, le Pakistan, les Emirats, L'Algérie étant le sixième plus grand importateur.

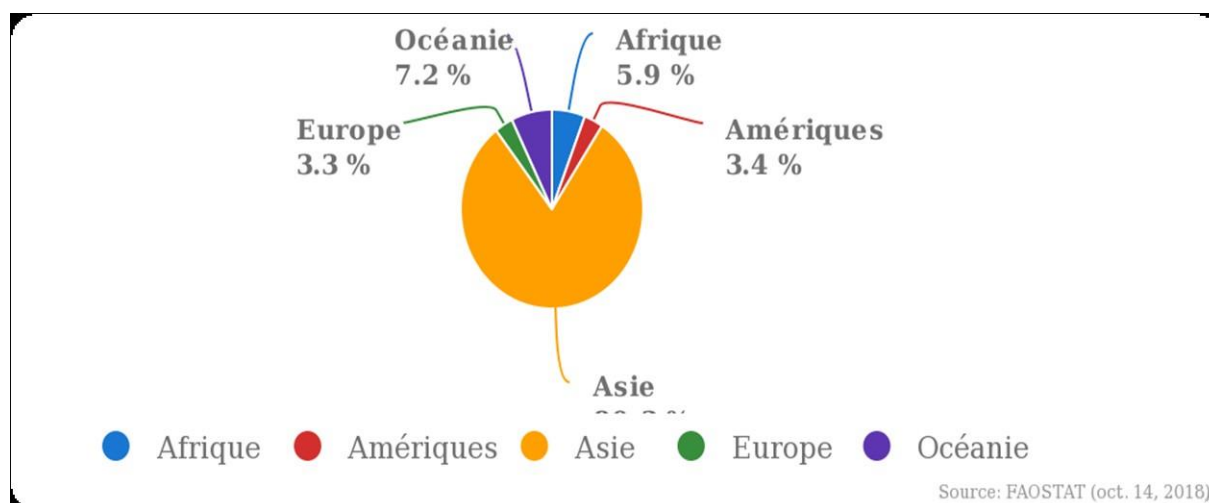


Figure 05: Pourcentage de production de pois chiche par continent en 2018 (FAO, 2019)

I.8 Présentation de la fusariose de pois chiche

I.8.1. Historique

Le nom *Fusarium* est donné à un genre de champignons imparfaits (Deutéromycètes), qui comprend plus de 100 espèces. Les formes parfaites (téléomorphes) de quelques-unes d'entre elles sont connues, et appartiennent à la classe des Ascomycètes (ordre des Hypocréales, famille des Nectriacées, genres *Gibberella*, *Albonectria*, et *Haematonectria*). Pour plusieurs espèces de *Fusarium*, le stade parfait demeure encore inconnu.

Sur le plan économique, le genre *Fusarium* est très important parce qu'il regroupe de nombreuses espèces phytopathogènes, et de forma spécialis captables d'induire des maladies (fusarioses) chez de nombreuses plantes. Les espèces du genre *Fusarium* peuvent ainsi attaquer les céréales (maïs, blé, orge, avoine), les légumes, les plantes ornementales et beaucoup d'arbres fruitiers. La majorité des espèces de *Fusarium* sont susceptibles de produire des mycotoxines et sont ainsi impliquées dans des intoxications chez les animaux d'élevage (Nelson et al, 1983).

Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fusus* car ses spores sont en forme de fuseau. Le genre *Fusarium* des représente les espèces présentant des spores cloisonnées, fusiformes, formées sur des stromas.

I.8.2. Distribution et extension géographique de la maladie dans le monde

Le flétrissement vasculaire du pois chiche a été découvert pour la première fois en Inde, il été ensuite propagé dans 32 pays du monde répartis à travers les quatre continents. En effet, la maladie a été signalée dans la majorité des pays producteurs de pois chiche : en Argentine, Chili, Chine, Colombie, Egypte, Hongrai, Iraq, Italie, Kenya, Malawi, Mexique, Maroc, Népal, Myanmar, Tunisie, Uganda, Zambie, Syrie, USA, Soudan, Sri Lanka, Iran, Pakistan, Australie, Ethiopie, Pérou, Turquie, Bengladesh, USSR (Akhtar, 2001). La maladie ne cesse de se propager à travers le monde (Figure 6).

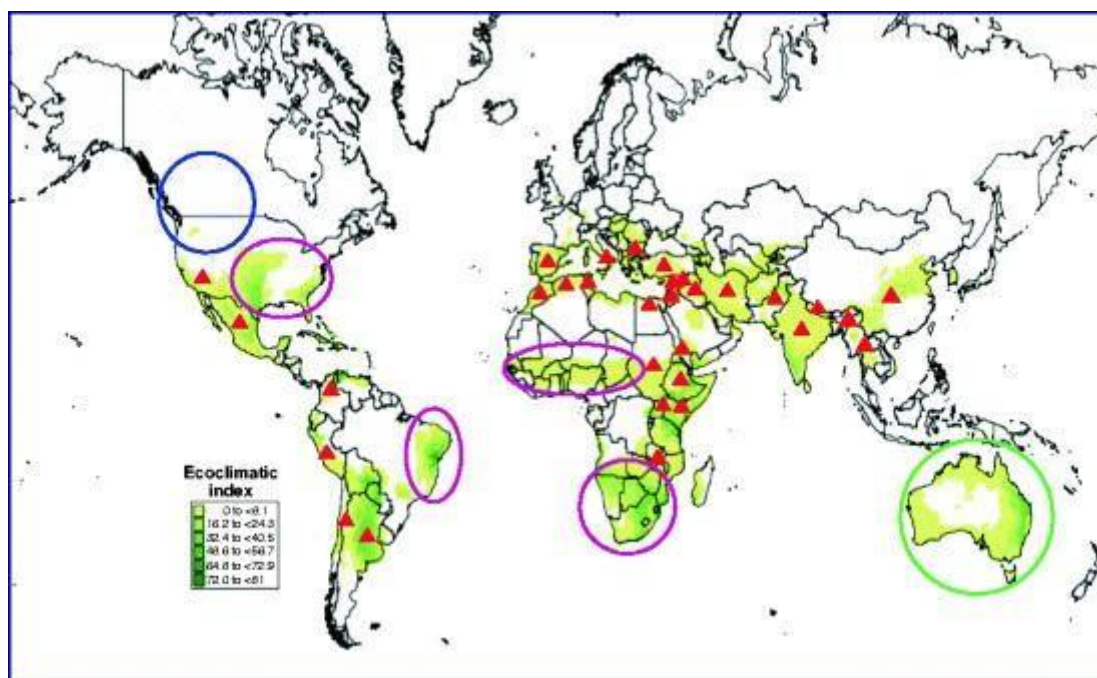


Figure 06: Carte mondiale de la distribution rapportée du *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* et de sa distribution potentielle estimée par le model CLIMEX[™] pour les conditions climatique actuelles. Les cercles indique les zones ou les conditions climatiques sont propres au développement de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* bien qu'il n'ait pas été décrit (vert) ou le pois chiche n'est pas favorable ou développement de *F. oxysporum*. f. sp. *ciceris*, les triangles rouge indiquent les pays où *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* a été signalé dans la littérature scientifique (Blanca et al., 2013).

En Algérie le flétrissement fusarien du pois chiche a été rapporté par **Bouznad (1989)** et dans d'autres pays méditerranéens (Espagne, Tunisie, Maroc, Turquie) par **Haware (1990)**. En Algérie la maladie a été observée principalement dans le centre et l'est du pays (**Labdi, 1990**) et légèrement vers l'Ouest (**Bouznad et al., 1996**).

I.8.3. Agents responsables de la fusariose du pois chiche

Le Foc est un champignon du sol qui peut survivre en saprophyte pendant six ans, sous forme de chlamydospores, dans la semence et dans les débris des plantes mortes. Il survit également, sur d'autres plantes hôtes, telles que la lentille, la fève et le pois, sans montrer de symptômes extérieurs (**Nene, 1979 ; Haware, 1990**). L'infection primaire est initiée par les chlamydospores ou le mycélium. L'optimum de germination des chlamydospores et de l'infection a lieu à 91% d'humidité relative et une température de 25° C. La transmission se

fait principalement par la semence et l'utilisation de matériel agricole contaminé (**Nene, 1979; Haware, 1993**).

- Deux espèces sont responsables de la fusariose du pois chiche en Algérie: *Fusariumoxysporum* f. sp. *ciceris* (**Halila et Strange, 1996**) et *Fusarium redolens* (**Zaim, 2022**).

I.8.3.1. Principales caractéristiques des deux espèces (*Fusariumoxysporum* f. sp. *ciceris* et *Fusariumredolens*) responsables de la fusariose du pois chiche

I.8.3.1.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

Morphologiquement cette espèce est caractérisée par un appareil sporifère du types porodochial produisant des microconidies, des macroconidies et des chlamydospores ; ces derniers présentent les formes de résistance de cette espèce en condition défavorables.

La forme parfaite du *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* a été rattachée au genre *Gibberella* sp. (**Erwin, 1958 ; Booth, 1971**). D'après **Agrios (2005)**, l'agent causal du flétrissement du pois chiche *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* est classé comme suit :

Règne	: Eumycota
Embranchement	: Ascomycota
S/ Embranchement	: Deuteromycètes
Classe	: Hyphomycetes.
S/Classe	: Hyphomycetidae.
Ordre	: Moniliales
Famille	:Tuberculariaceae
Genre	: <i>Fusarium</i>
Espèce	: <i>Fusariumoxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> .

a) Biologie

L'agent du flétrissement est un champignon supérieur à thalle constitué d'un mycélium hyalin et cloisonné. Sa croissance sur le milieu PDA (Potato-Dextrose-agar) à 25°C donne des colonies blanches et cotonneuses, qui deviennent feutrées et ridées dans les vieilles cultures (**Haware, 1990**). Les hyphes cloisonnés sont abondamment ramifiés.

Cette espèce est caractérisée morphologiquement par un appareil sporifère de types porodochial produisant micro conidies et macro conidies.

- **Les micro-conidies** sont unicellulaires ou bicellulaires, portés par un conidiophore court et simple se présentant sur des hyphes (**Figure 07**). De forme variable, elles peuvent être ovales à réniformes, et droites à courbées mesurant, 2.5 à 3.5 μm -5 à 12 μm .
- **Les macro-conidies** sont moins importantes en nombre que les micro-conidies et sont portées sur un conidiophore court ramifié; se formant latéralement sur un hyphes de taille variable (3 à 15 μm x 3 μm à 5 μm). Leur forme peut être ovale à cylindrique et droite à courbées. Elles sont très nombreuses et sont uni ou bicellulaires, ovales ou cylindriques, mesurent 2.5-3.5 x 5-11 μm (**Booth, 1975**).

Ces deux types de conidies sont généralement rares sur milieu solide et sont abondantes sur milieu liquide à base de pomme de terre (**Haware, 1990**).

- **Les chlamydozores lisses** ou rugueuses (**Figure 07**) considérées comme des organes de résistance aux conditions défavorables du milieu, se forment de façon solitaire ou en paire, sont formées dans les cultures âgées de 23 plus de vingt jours. Elles sont terminales ou intercalaires, produites sur les filaments mycéliens les plus âgés ou sur les macro-conidies. Elles peuvent être formées seules, en paires ou en chainettes (**Haware, 1990**).

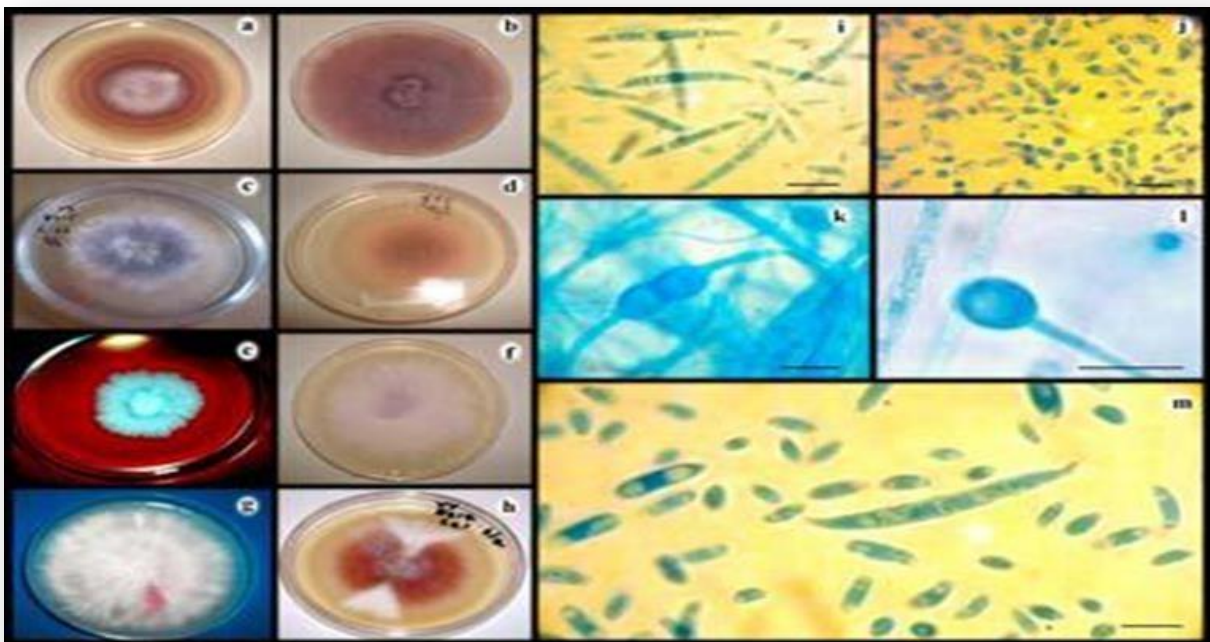


Figure 07 : Variabilité de l'aspect de la colonie et de la morphologie des micro-conidies et macroconidies et chlamydozores du *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (**Arvayo-Ortiz et al., 2011**).

b) Cycle de vie du *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* :

Le cycle biologique du FOC (**Figure 08**) comprend une phase saprophytique et une phase parasitaire (**Nelson, 1981**). Le cycle biologique du champignon débute le plus souvent par une germination des chlamydospores. La germination de ces formes de conservations endormis et immobiles dans les tissus des plantes infectées est stimulée par les exsudats racinaires des plantules du pois chiche, les éléments nutritifs présents dans le sol et les conditions climatiques favorables (**Haware et al., 1986 ; Backman et Turner, 1989**). Cette germination est accomplie entre 6 à 8 heures dans les conditions favorables.

Cependant, celle-ci est effectuée dans 2 à 3 jours si les conditions sont défavorables (**Akhtar,2001**).

Le processus de l'infection est très complexe commence par l'adhésion des hyphes avec un mécanisme non spécifique sur la surface des racines comme une étape préparatoire de la pénétration (**Jiménez-Fernandez et al., 2013**). Le pathogène traverse les poils, diffuse dans les régions apicales des racines et colonise les cellules épidermiques hôtes (**Jimenez-Fernandez et al., 2013**).

Le champignon envoie son mycélium dans les espaces intercellulaires à travers le cortex de la racine jusqu'à ce qu'il arrive aux vaisseaux du xylème (**Jimenez-Fernandez et al., 2013**).

La colonisation fongique du système vasculaire de l'hôte est souvent rapide et fréquemment facilité par la formation de macro conidie dans les vaisseaux (**Groenewald, 2005**).

Il en résulte une obstruction des tissus vasculaires par le mycélium, induisant ainsi jaunissement et un dessèchement des feuilles, un brunissement des vaisseaux, aboutissant au flétrissement total des plants (**Grewal et al., 1974 ; Smithsonet al., 1985 ; Gupta et al., 1986**).

Le pathogène survit dans les débris des plantes infectées sous forme mycélienne et les autres organes de sporulation, mais le plus communément comme les chlamydospores (**Groenewald, 2005**).

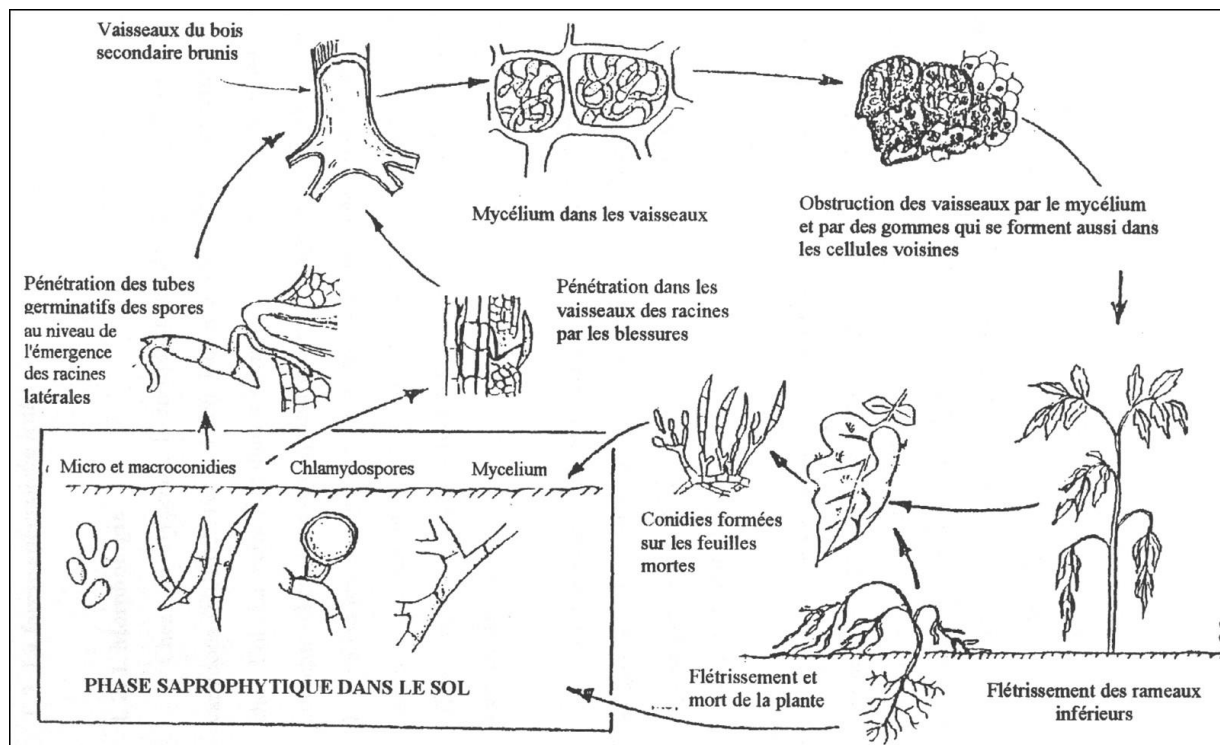


Figure 08 : Cycle biologique du *Fusarium oxysporum* (adapté d'Agrios, 2005).

Fusarium redolens

Cette espèce a été découverte par **Wollenweber (1913)** et son statut taxonomique a été corrigé par **Snyder et Hansen (1940)**. **Booth (1971)** a considéré *F. redolens* comme étant *F. oxysporum*. **Nelson et al. (1983)** ont adopté la classification de **Snyder et Hansen (1940)** et considèrent *F. redolens* comme *F. oxysporum*. **Gerlach et Nirenberg (1982)** a considéré *F. redolens* une espèce séparée. Des similitudes entre *F. oxysporum* et *F. redolens* ont été décrites par **Baayen et Gams (1988)**.

Les souches confrontées de deux espèces sont capables de former des hétérocaryons (**R.ataj-Guranowska., 1991**) et les tests sérologiques de protéines par électrophorèse de deux espèces montrent l'apparition des bandes similaires (**Rataj-Guranowska et Wolko, 1991**). *F. redolens* est un agent causal de la pourriture racinaire pour un grand nombre d'espèces végétales. *F. redolens* a un pouvoir de produire de fumonisines et l'acide fusarique (**Abbas et al. 1995**).

D'autres noms scientifiques ont été proposés par les chercheurs :

- *Fusarium oxysporum* var. *redolens*(**wollenw. Gordon**).
- *Fusarium redolens* var. *solani* SHER.
- *Fusarium solani* var. *redolens*(**woll. Golden**).

a) Taxonomie

Kingdom : Fungi
Division : Ascomycota
Class : Sordariomycetes
Order : Hypocreales
Family : Nectriaceae
Genus : Fusarium
Species : *F.redolens*(**wollen., 1913**)

En Algérie, *F. redolens* a été trouvée dans la région de Mascara et signée pour la première fois par **Zaim (2022)**.

I.9. La lutte

La plupart des moyens utilisés pour lutter contre les maladies et les ravageurs ne sont pas durable, les moyens de contrôle de *F.oxysporum*, hormis la résistance génétique, sont assez peu efficace du fait que ce champignon peut survivre de nombreuses années dans le sol en absence de l'hôte (au moins 06 ans sous forme de chlamydospores) sans prendre en compte les capacités saprophytique du champignon qui augmentent ces chances de survie.(**Nene,1979**), et cela rend son contrôle difficile (**Sharma et Muehlbauer, 2007**), différents moyens de lutte ont été préconisés en vue de réduire les pertes dues à la fusariose du pois chiche.

Les mesures préventives sont importantes et efficaces car une fois le champignon est présent dans le sol, l'emploi des autres méthodes de lutte seront très coûteuses. Ces pratiques contre le flétrissement vasculaire consistent à éviter les conditions qui favorisent la maladie soit, un sol léger et acide et un arrosage à l'eau froide soit, un manque d'azote et de calcium (**Barna et al., 1985; Duval, 1991**).

I.9.1. Lutte culturale

L'agent pathogène est un champignon tellurique, peut survivre dans le sol pour de longue durée en absence de la plante hôte et peut être hébergé par d'autres plantes (pois, lentille) sans extérioriser des symptômes, ce qui rend difficile de contrôler la maladie par les techniques culturales (**Nene et Reddy, 1987**).

Cependant, les stratégies de lutte les plus appropriées sont celles basées sur la réduction de la quantité de l'inoculum initial dans le sol et/ou de réduire son efficacité (**Jiménez-Díaz, 2011**). A cet effet, la rotation du pois chiche avec des cultures non-hôtes peuvent contribuer à réduction importante de l'inoculum du Foc dans le sol (**Jiménez Díaz, 2011**).

Plusieurs méthodes culturales ont été adoptées pour réduire l'incidence de la maladie. Le labour profond, la rotation agricole, la jachère et la stérilisation du sol tous sont utiles pour réduire et détruire la population du Foc. Réduire ou détruire les débris par un labour permet d'affaiblir la quantité d'inoculum, et donc sa dispersion ultérieure (**Akhtar, 2001**).

I.9.2. La sélection variétale

Cette résistance est dite spécifique soit partielle, selon que l'on se trouve en présence d'un ou plusieurs gènes de résistance variétale. Le choix variétal peut être intégré au raisonnement de la lutte contre le flétrissement du pois chiche. Certaines variétés sont tolérants et parfois, dans certaines situations (modes de contamination, semences et /ou sol) témoignent des résistances. Ces dernières peuvent être valorisées en agriculture. L'utilisation des cultivars résistants est une des stratégies les plus pratiques et la moins coûteuse pour le contrôle de la fusariose du pois chiche, mais le déploiement des variétés résistantes n'a pas été extensive à cause des caractères agronomiques parfois indésirables (**Upadhyaya et al., 2007**).

En plus, leur résistance est non durable à cause de la présence des races physiologiques de FOC (**Sharma et Muehalbauer, 2007**) et certains cultivars présentent une sensibilité à d'autres maladies (**Sharma et al., 2009; Jimenez –Gasco et al., 2004 ; Navas –Cortes et al., 2000; Singh et al., 1994; Singh et al 1994; Jalali et Chnd, 1992; Nene et Reddy, 1987**). Les variétés du pois chiche cultivées par les agriculteurs ont des niveaux de résistance très différents les unes des autres. Cette résistance est fonction des gènes présents lors de la création de la variété. Deux types de résistance sont mis en évidence au niveau du pois chiche, la résistance spécifique et la résistance partielle.

La résistance spécifique est déterminée par des gènes dominants aussi appelés gènes R. Cinq de ces gènes ont été découverts à ce jour (R1 à R5) (**Sharma et al., 2009**), ils déclenchent chez la plante une hypersensibilité en présence du parasite, ce qui limite l'extension du parasite aux tissus voisins. Cette voie de résistance permet un retard du début de l'épidémie jusqu'à ce que la plante se trouve en présence d'une race de fusariose possédant les gènes de virulence qui correspondent à ses propres gènes d'hypersensibilité et peut alors se retrouver rapidement détruite (**Jimenez –Casco et al., 2004; Flor, 1971**).

La résistance partielle est déterminée par un grand nombre de gènes. Ce type de résistance va agir sur la pénétration, la dissémination du champignon dans les tissus ou encore l'intensité de la sporulation. Cette complexité d'intervention rend difficile les études sur ce type de résistance, mais la faible probabilité de son contournement par le parasite en fait un support intéressant de recherche génétique (**Madrid et al., 2008**).

I.9.3. Lutte chimique

L'utilisation des fongicides peut réduire l'importance de la maladie (**Gupta et al., 1978 ; Jimenez-Diaz et al., 1985**). En effet, l'inoculum porté par la semence peut être éradiqué par l'utilisation de Benlate mélangé de 30% de Benomyl et 30% de Thiram (**Haware et al., 1978, 1981**). En outre, le traitement de graines du pois chiche par cinq types de fongicides peut réduire l'incidence de la maladie avec un taux de 27.3% (**Shukla et al., 1981**). Le test de neuf fongicides à savoir; Antracol, Benlate, Captan, Cobox, Dithane M-45, Benzène du Nitrate du Pentachloro (PCNB), Ridomil, Mancozeb et Trimitox sur le Foc avec des doses de 50, 100 et 150 ppm montre l'efficacité complète de Benlate suivi de Dithane M- 45, Sancozeb, Ridomil. Cependant, l'Antracol inhibe la croissance mycélienne (**Akram et al., 2004**).

L'analyse de l'effet de trois fongicides carbendazim, carboxin+thiramet propineb a montré l'efficacité des deux derniers dont la valeur de la gravité de la maladie enregistrée est très faible. Par contre, une valeur moyenne d'efficacité a été notée pour le carbendazim (**Chandar et al., 2013**).

L'intégration de la biotechnologie dans la lutte contre les agents pathogènes est un élément très important pour le déclenchement et l'accélération des réactions des défenses des plantes. Aussi, **Saikia et al. (2006)** ont examiné l'effet des protéines des parois cellulaires du FOC dans le déclenchement de la résistance du pois chiche. Les résultats obtenus indiquent que les deux types de protéines entraînent une activité électrique dans la plante, déclenchant par la suite les mécanismes de défenses et réduisent l'incidence de flétrissement vasculaire du pois

chiche. Par ailleurs, le traitement des cultivars du pois chiche avec des composants issus des variétés résistantes, tel que le cicerfuran et judaïcin semble être une méthode de lutte efficace contre la fusariose vasculaire du pois chiche (**Stevenson et Veitch 1997**). Ces composés inhibent la germination des spores fongiques dans les conditions naturelles.

1.9.4. La lutte biologique :

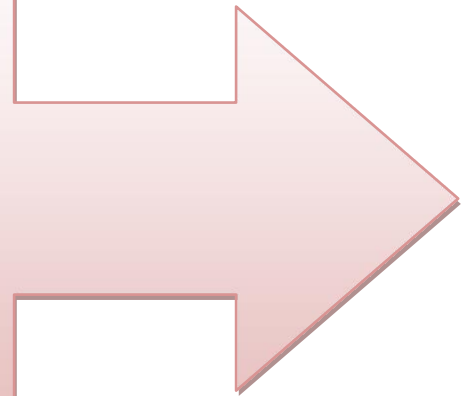
La lutte biologique se définit comme l'utilisation de microorganisme (principalement des bactéries et des mycètes), d'insectes ou de composés dérivés de ceux-ci pour contrer un ou plusieurs agents pathogènes ou ravageurs des plantes (**Xu et al., 2016**). Les agents de lutte biologique affectent l'organisme nuisible selon différents modes d'action. (**Elad et al., 2016**). Cette partie a fait l'objet de notre étude dans ce mémoire, un chapitre lui est consacré dans la deuxième partie de ce mémoire.

Chapitre II :

Lutte biologique

contre les

champignons



II.1. Mécanismes d'antagonisme en lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, oxygène, espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogène et l'induction de la résistance chez la plante. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (Jijkli, 2003).

II.1.1. La compétition

La compétition a été définie par Clark (1968) comme étant " l'effet nuisible direct d'un organisme sur une autre ou directement, par la suppression de certaines ressources de l'environnement"

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (Jijkli, 2003).

Certains organismes, comme la levure *Aureobasidium pullulans*, agissent contre *Botrytis cinerea* par compétition pour l'espace et les nutriments, empêchant ainsi sa prolifération sur la plante (Elad et al., 2016).

II.1.2. Le mycoparasitisme

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (Helluy et Holmes, 2005). Ou il parasite l'agent pathogène et affecte ainsi son développement; ce mécanisme est connu sous le nom d'hyperparasitisme. Plusieurs champignons des genres *Gliocladium* et *Trichoderma* ainsi que plusieurs bactéries du genre *Streptomyces* sont connus pour produire des enzymes dénaturant les parois de *B. cinerea*, qu'ils utilisent pour se nourrir (Elad et al., 2016). L'agent antagoniste le plus cité pour le mycoparasitisme est sans aucun doute le champignon du genre *Trichoderma* (Chet et Inhar, 1994 ; Campora, 1985).

II.1.3. L'antibiose

La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites vont interférer avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes. L'antibiose consiste en la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène (**Corbaz, 1990**).

L'antibiose est un autre mode d'action par lequel les agents de lutte biologique limitent le développement des agents pathogènes. Par exemple, plusieurs bactéries du genre *Pseudomonas* produiraient la pyrrolnitrine, un composé antifongique qui y préviendrait la croissance mycélienne du pathogène (**Haggag et El Soud, 2012**).

L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (**Jijakli, 2003**). Les cas les plus décrits en littérature impliquent une bactérie productrice de métabolites secondaires antagoniste à une autre bactérie ou champignon phytopathogène (**Fravel, 1988**).

Une multitude de gènes codant pour la biosynthèse de nombreux métabolites secondaires antifongiques d'origine bactérienne sont maintenant caractérisés. Chez *Pseudomonas fluorescens* on retrouve par exemple le 2,4 diacétylphloroglicinol (**Bangera et Thomashow, 1996**).

II.1.4. Emission des Composés organiques volatiles

Les champignons produisent divers mélanges de composés en phase gazeuse, appelés Composés Organiques Volatils (COVs). Ils sont capables de se diffuser dans le sol et dans l'atmosphère et d'inhiber les activités des pathogènes fongiques.

La plupart des COVs appartiennent à quatre groupes chimiques : les terpénoïdes, les phénylpropanoïdes et les dérivés d'acides gras et d'acides aminés (**Dudareva et al., 2013 ; Delory et al., 2016**).

À ce jour, plus de 500 bactéries et champignons ont été décrits comme producteurs de COVs et environ 1 000 COVs ont été compilés dans DOVE-MO (base de données des substances volatiles émises par les microorganismes) (**Lemfack et al., 2017**). Le sol présente l'un des principaux habitats des bactéries et des champignons. Ces composés bloquent la germination et/ou affectent la synthèse des protéines des champignons nuisibles (**Effmert et al., 2012 ; Morath et al., 2012**).

II.2. Les *Pseudomonas* antagonistes de champignons et de bactéries phytopathogènes

Les *Pseudomonas* spp. Fluorescents forment un groupe appartenant au genre *Pseudomonas* sensu stricto (groupe ARN I sensu Palleroni). Les membres de ce groupe se caractérisent par l'aptitude à synthétiser en situation de carence en fer des sidérophores présentant un groupe chromophore jaune-vert fluorescent sous rayonnement ultraviolet (Palleroni, 1984, 1992). Les premières études biochimiques concernant ces bactéries aérobies ont montré qu'il existe, à l'intérieur de ce groupe, des variations interspécifiques dans la structure de la chaîne respiratoire.

Au sein des *Pseudomonas* spp. Fluorescents, les espèces saprophytes à cytochrome oxydase positive *P. chlororaphis*, *P. fluorescens* et *P. putida* sont présentes à une densité élevée dans des environnements variés (Holloway, 1992 ; Schroth et al, 1992). Ces espèces font l'objet de nombreuses études compte tenu de leur intérêt potentiel en agriculture et pour l'environnement. Ainsi, certaines souches ont l'aptitude de stimuler la croissance et/ou d'améliorer l'état sanitaire des plantes (Lemanceau, 1992). De plus, la résistance naturelle de certains sols à diverses maladies d'origine tellurique a été associée à la présence de populations particulières de *Pseudomonas* spp. Fluorescents (Lucas et al, 1989 ; Lemanceau et Alabouvette, 1993).

Enfin, certaines populations de *Pseudomonas* spp. Fluorescents ont la possibilité de dissimiler l'azote (Gamble et al, 1977 ; Clays-Josserand et al, 1995). Cette dissimilation est plus ou moins complète selon le groupe taxinomique considéré (Matsubara et Zumft, 1982).

Ces bactéries contribuent donc, de façon significative, à la réduction des nitrates et des nitrites qui constituent des polluants des nappes phréatiques.

II.3. Biosynthèse des métabolites secondaires chez les *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau. Ces bactéries Gram négatives, non sporulantes, sont aérobies obligatoires, à l'exception de certaines pouvant utiliser le NO₃ comme accepteur d'électrons. Leur mobilité est assurée par plusieurs flagelles polaires, et elles ont un métabolisme mésophile et chimioorganotrophe, la plupart étant saprophytes (Bossis et al. 2000). Quelques espèces peuvent causer des infections chez l'humain. *P. aeruginosa* cause des infections pulmonaires mortelles chez les patients atteints de fibrose kystique (Mavrodi et al. 2001). Plusieurs études ont souligné le haut degré de diversité au sein de *P. fluorescens*, ce qui a mené à la subdivision de cette espèce en différents biovars (Bossis et al., 2000). Dans le sol, les *Pseudomonas* représentent une grande

fraction de la communauté microbienne partageant leur milieu avec des commensaux représentant principalement les genres *Bacillus* et *Actinomyces*. On les retrouve sous tous les horizons, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes. Les différentes espèces de *Pseudomonas* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique.

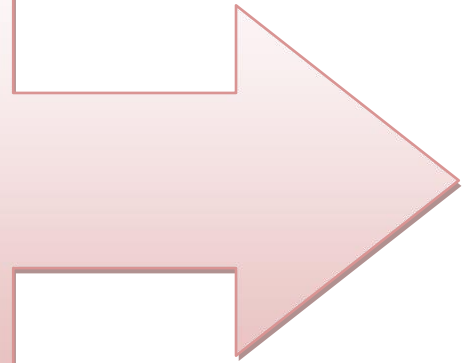
Premièrement, leur capacité à coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population est remarquable (**Haas and Keel 2003**). Cette grande rhizo-compétition vient sans doute de leur taux de croissance plus élevé que celui de la plupart des autres rhizobactéries et de leur capacité à métaboliser efficacement plusieurs composés des exsudats racinaires (**Chin-A-Woeng et al. 2002**). De plus, ces bactéries sont très faciles à isoler et à cultiver au laboratoire et se prêtent aisément aux manipulations génétiques (**Chin-A-Woeng et al. 2001, Fenton et al. 1992**).

Les *Pseudomonas*, principalement l'espèce *P. fluorescens*, ont une aptitude à réduire l'incidence des maladies racinaires dans certains champs, ainsi qu'à inhiber la croissance d'un grand nombre d'agents phytopathogènes *in vitro*. Cette capacité d'inhibition peut se faire selon plusieurs mécanismes incluant la production d'une large gamme de métabolites antagonistes et de sidérophores. Ces derniers permettent d'entrer en compétition pour l'acquisition du fer. Dans un milieu comme le sol où cet élément est présent en très faible quantité, cela peut nuire à la croissance saprophyte de plusieurs agents pathogènes et ainsi réduire la sévérité de la maladie. On note aussi chez certaines souches une capacité à induire les mécanismes de défense chez la plante (**Kim et al., 2004**). Mais dans la plupart des cas d'inhibition, le facteur déterminant est la production d'antibiotiques qui agissent directement sur l'agent pathogène.

Le premier rapport sur l'utilisation d'un *Pseudomonas* produisant un antibiotique pour le contrôle d'un agent pathogène racinaire, en l'occurrence *Rhizoctonia solani*, a été étudié par **Howell et Stipatovic (1979)**. Ces derniers identifièrent la pyrrolnitrine produite par une souche de *Pseudomonas fluorescens* comme facteur permettant d'inhiber le pathogène. En revanche, on doit à **Thomashow et Weller, neuf ans plus tard**, la première démonstration expérimentale, utilisant une approche génétique pour démontrer l'implication d'un antibiotique produit par une souche de *Pseudomonas* dans la suppression d'un agent phytopathogène. Ces derniers ont utilisé une souche de *P. fluorescens* productrice d'acide phénazine carboxilique, isolée de la rhizosphère du blé, et fortement antagoniste envers *Gaeumannomyces graminis*. Des mutants de cette souche, déficients dans leur capacité à

produire l'antibiotique, ont été comparés à la souche mère dans des tests d'inhibition *in vitro* et *in situ*. Les mutants étaient alors incapables d'inhiber le champignon en boîtes de pétris et de prévenir la fonte des semis au champ.

Chapitre III :
Matériels et
méthodes



III. Matériel et méthodes

III.1. Matériels

III.1.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)

Un isolat de FOC est utilisé tout au long de notre expérimentation. Il nous a été gracieusement offert par monsieur Sekkal Ibrahim, doctorant à l'université de Mostaganem. Selon monsieur Sekkal, l'espèce a été identifiée moléculairement en se basant sur une PCR réalisée avec des amorces spécifiques de *Fusarium oxysporum* f.sp.*ciceris*.

III.1.2. *Pseudomonas fluorescens*

Cinq souches de *Pseudomonas fluorescens* nous ont été remises par monsieur Mahiout et monsieur Sekkal qui ont procédé à leur identification moléculaire grâce au séquençage du gène ARN 16S. Elles proviennent de la rhizosphère des plants de pois chiche cultivés dans 5 zones de la commune de Mesra au niveau de la région de Mostaganem (**Tableau 01**) :

Tableau 01 : Souches de *Pseudomonas fluorescens* et codification adoptée.

Codification	Région d'origine	Année d'isolement
B1	Mostaganem (Mesra)	Février 2019
B2	Mostaganem (Mesra)	Février 2019
B3	Mostaganem (Mesra)	Février 2019
B4	Mostaganem (Mesra)	Février 2019
B5	Mostaganem (Mesra)	Février 2019

III.1.3. Milieu de culture

Tableau02 : Composition du bouillon nutritif

Composition	La dose
Peptone.	1.0 g
Extrait de bœuf.	1.0 g
Extrait de levure.	2.0 g
Chlorure de sodium.	5.0 g
Eau distillée	Qsp 1000 ML

Le milieu PDA (Potato Dextrose Agar) a été utilisé dans les essais de confrontation du parasite avec les antagonistes. Sa composition est la suivante (**Tableau 03**) :

Tableau03 : Composition du milieu PDA pour 1 L d'eau distillée.

Composition	La dose
Pomme de terre.	200g
Glucose.	20g
Agar-agar.	18g
PH= 6,5.	

III.2. Méthodes

III.2.1. Préparation des bactéries antagonistes

Deux raisons ont guidé le choix des 5 souches utilisées dans cette étude :

- Leur origine différente
- L'intensité de la fluorescence sur milieu de culture B de King.

A partir de chaque culture bactérienne conservée dans du glycérol, nous avons d'abordensemencé un tube à essai contenant du bouillon nutritif. La culture est maintenue pendant 24h à 26°C. La concentration de la bactérie est ajustée à 10^8 CFU/ml grâce à un spectrophotomètre, valeur correspondant à un intervalle de DO de 0,08 à 0,1, à une longueur d'onde de 600nm (Amekraz, 2013)

III.2.2. Test de confrontation

III.2.2.1. Test de confrontation directe

Un disque de papier wattman de 6 mm de diamètre est déposé en boîte de pétri, à la surface d'un milieu PDA, suivant un axe diamétral, à 4 cm d'un explant mycélien de FOC (8 mm de diamètre) (**Figure 09**). On prélève alors 10 µl d'une suspension de la bactérie (10^8 CFU/ml) à tester que l'on dépose sur le papier wattman. Dans le cas du témoin, le disque en papier wattman est imbibé de 10 µl bouillon nutritif, sans la bactérie. Les boîtes sont incubées à 26°C pendant 6 jours.

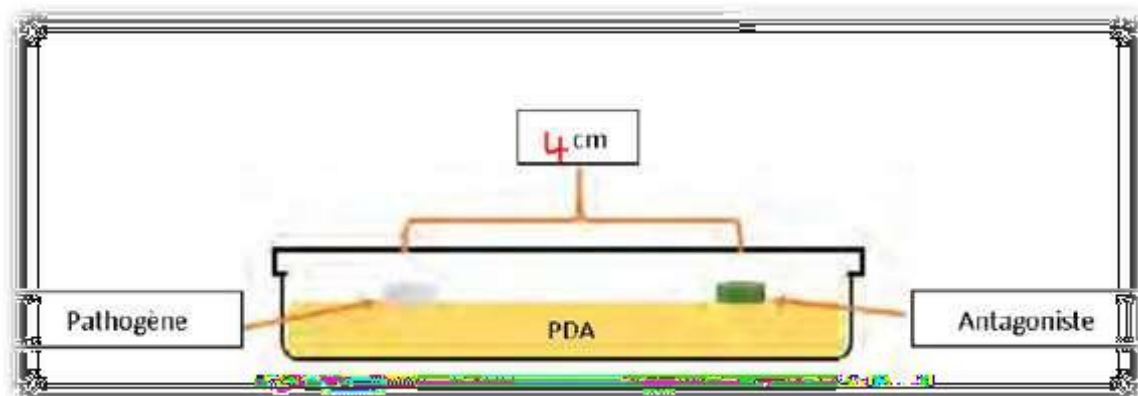


Figure 09 : Dispositif utilisé pour le test de confrontation directe (Mahiout, 2007).

III.2.2.1.1. Evaluation de la croissance mycélienne

La mesure de la croissance mycélienne consiste à mesurer tous les 3 jours le rayon de croissance du champignon en direction de l'antagoniste (bactérie) (Maslouhy et al., 1989, Bendahmane et al., 2012) (Figure 09).

III.2.2.1.2. Evaluation de la sporulation

L'évaluation de la sporulation est effectuée selon le principe de la méthode utilisée par Maslouhy (1989). La sporulation est évaluée au 10^{ème} jour de confrontation.

A l'aide d'un emporte-pièce stérile, nous avons prélevé 10 explants (6 mm de diamètre) sur la périphérie de la colonie du Foc du côté de la bactérie. Dans le cas des témoins, les explants sont prélevés à la périphérie des colonies de FOC ensemencé seul. Les explants mycéliens sont mis dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau distillé stérile, agités pendant 5 minutes à l'aide d'un vortex pour libérer les conidies. La concentration exprimée en nombre de conidies par millilitre est estimée à l'aide de la cellule de Malassez.

III.2.2.2. Test de confrontation indirecte

Au centre d'une boîte de Pétri contenant 15 ml de milieu PDA, nous avons déposé un explant de FOC de 8 mm de diamètre provenant d'une culture âgée de 6 jours. Nous avons déposé au centre d'une autre boîte un disque en papier wattman (6 mm de diamètre). A l'aide d'une micropipette, nous avons déposé sur le papier une goutte de 10 µl de la suspension de bactérienne (10⁸ CFU/ml) à tester. Dans le cas du témoin, nous avons déposé sur le disque en papier 10 µl de bouillon nutritif. Les couvercles des deux boîtes sont retirés. Nous avons alors placé en vis-à-vis les 2 fonds de boîtes de Pétri (diamètre 90 mm). Nous avons ensuite scellé les boîtes avec 2 couches de para-film afin de limiter les pertes en gaz (Figure 10). On expose ainsi la souche de FOC à l'influence des substances émises par la bactérie pendant une période de 6 jours à l'obscurité et à 26°C, l'explant de FOC se trouvant à environ 20 mm au-dessus de la culture bactérienne à tester.

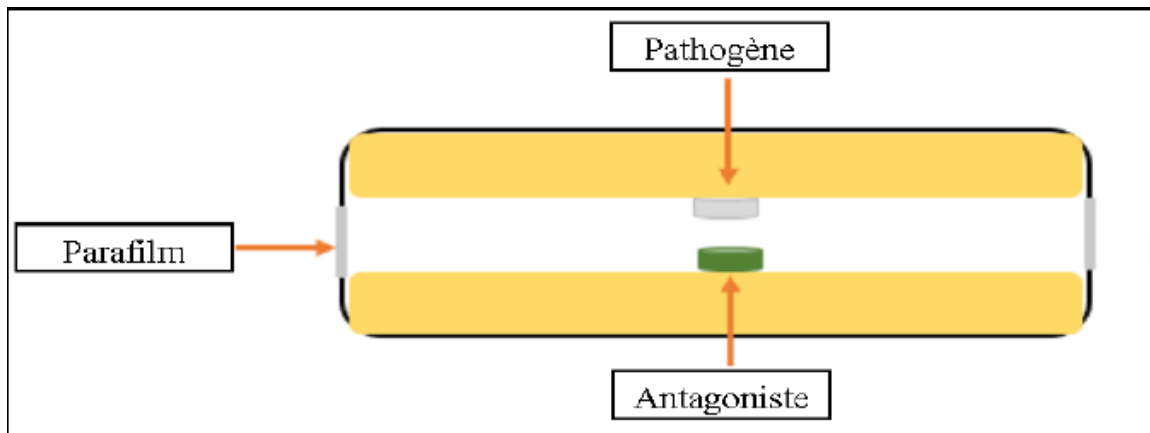


Figure 10 : Dispositif utilisé pour le test de confrontation indirecte (Mahiout, 2007).

III.2.2.2.1. Mesure de la croissance mycélienne du FOC

On mesure alors le diamètre des colonies de FOC, la croissance est calculée en mm et, par rapport à la croissance des témoins, on obtient pour chaque combinaison, un pourcentage d'inhibition ou de stimulation de la croissance de la souche du pathogène. Pour chaque souche bactérienne confrontée au parasite, nous avons réalisé 3 répétitions.

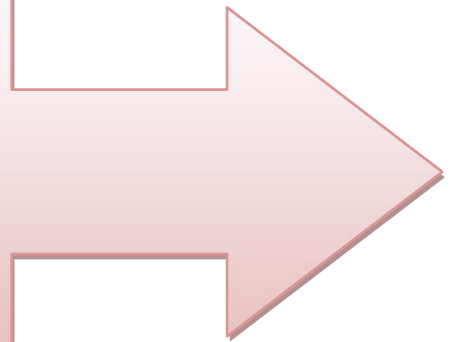
III.2.2.2.2. Evaluation de la sporulation

La sporulation du pathogène est évaluée après 10 jours d'incubation. La technique consiste à verser sur la colonie 10 ml de l'eau distillée stérile. La colonie est raclée superficiellement grâce à une lame de bistouri. Le contenu de la boîte de Pétri est ensuite filtré à travers une mousseline. On compte sous microscope, à l'aide de la cellule de Malassez, le nombre de contenu dans 1 ml d'eau. Pour chaque répétition, le comptage est répété 3 fois.

Chapitre IV :

Résultats

et Discussions



IV. Résultats

IV.1. Etude *in vitro* de l'activité des *Pseudomonas*

a) Evaluation de la croissance mycélienne

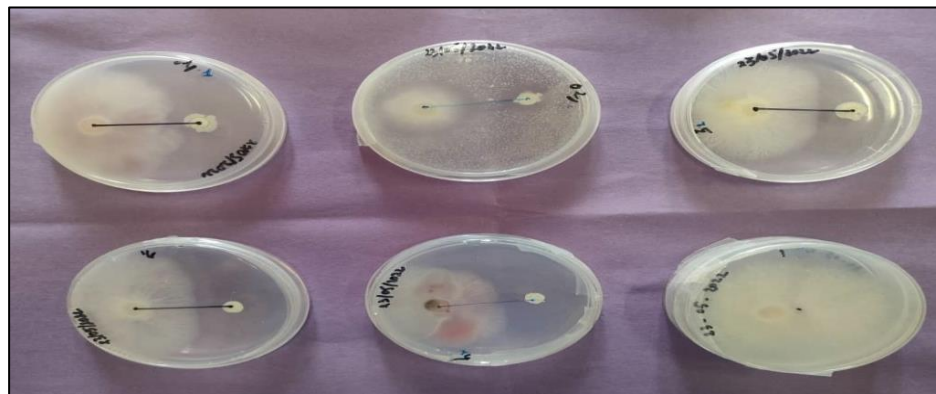


Figure 11 : Effet des souches de *P.fluorescens* sur la croissance mycélienne de FOC, après 6 jours d'incubation. Du haut, de gauche à droite (B1, B2, B3, B4, B5, Témoin) (**Originale, 2022**).

La **Figure 12** montre les valeurs du taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC obtenu pour chaque bactérie après 6 jours d'incubation.

La bactérie B1 et B5 présentent des taux d'inhibition de la croissance mycélienne les plus élevées, avec respectivement des valeurs des moyennes de 82.60% et 81.44%, par ailleurs la bactérie B2 montre le plus faible taux d'inhibition (37.97%). L'analyse de variance montre des résultats hautement significatifs (**Annexe 1**).

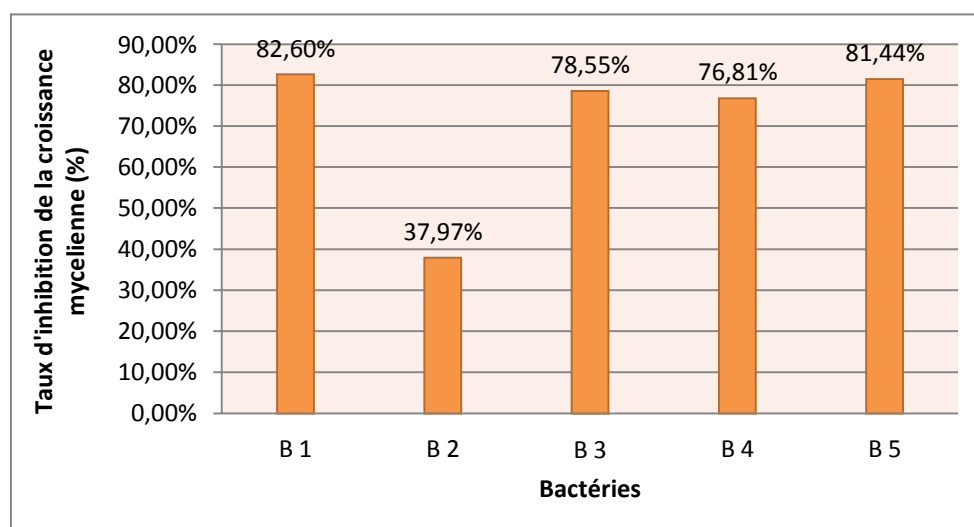


Figure 12 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC après 6 jours de confrontation directe (**Originale, 2022**).

b) Evaluation de la sporulation

La **figure 13** montre les résultats d'inhibition de la sporulation de F.O.C sur le milieu PDA, après 10 jours.

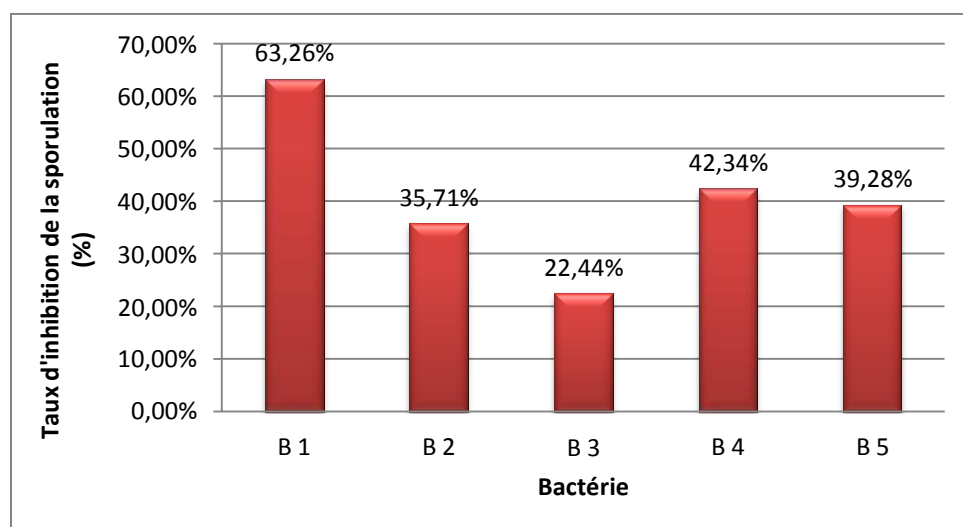


Figure 13 : Taux d'inhibition de sporulation après 10 jours de confrontation directe (**Originale, 2022**).

La bactérie B1 montre un résultat de sporulation le plus élevée, avec une valeur de moyenne de 1.24×10^6 spores/ml soit un taux d'inhibition de la sporulation de 63.26%), les bactéries B2, B4, B5 montrent respectivement des valeurs de 0.7×10^6 spores/ml, 0.83×10^6 spores/ml (42.34%), 0.77×10^6 spores/ml (39.28%).

Par ailleurs, la bactérie B3 révèle le plus faible taux d'inhibition de la sporulation, soit un taux de 22.44% avec une sporulation de 0.44×10^6 spores/ml. L'analyse de variance montre des résultats hautement significatifs (**Annexe 2**).

IV.1.1.2. Technique de Confrontation indirecte

a) Evaluation de la croissance mycélienne

La **Figure 14** montre l'effet des substances volatiles sur la croissance mycélienne du pathogène F.O.C, après 6 jours de confrontation.

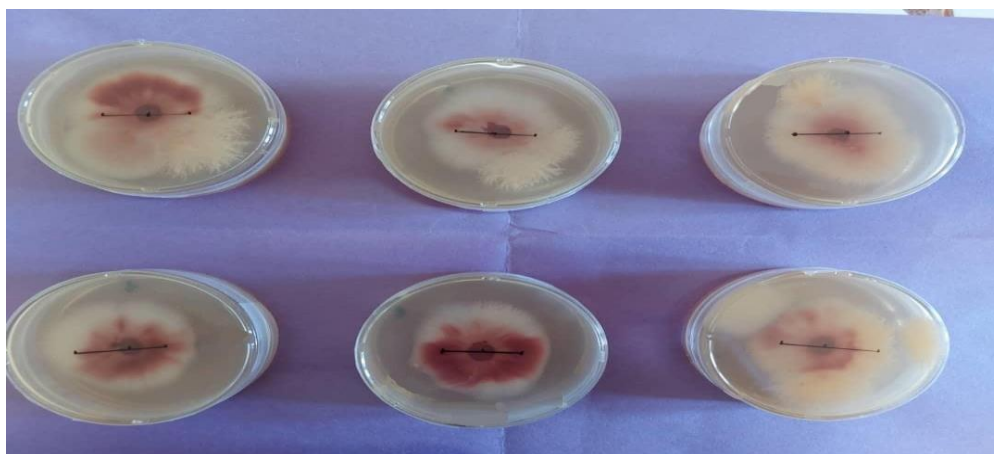


Figure 14 : Effet des substances volatiles des souches de *P.fluorescens* sur la croissance mycélienne de F.O.C, après 6 jours d'incubation. Du haut, de gauche à droite (B1, B2, B3, B4, B5, Témoin) (**Originale, 2022**).

Le calcul des taux d'inhibition de la croissance mycélienne (**Figure 15**) indique que toutes les bactéries présentent des valeurs supérieures à 80 %. Le classement des bactéries selon l'importance du taux d'inhibition, par ordre décroissant, est le suivant : B2 (17.86%), B3(17.21%), B4(15.59%), B1(13.80%), B5(11.86%). L'analyse de variance montre des résultats non significatifs (**Annexe 3**).

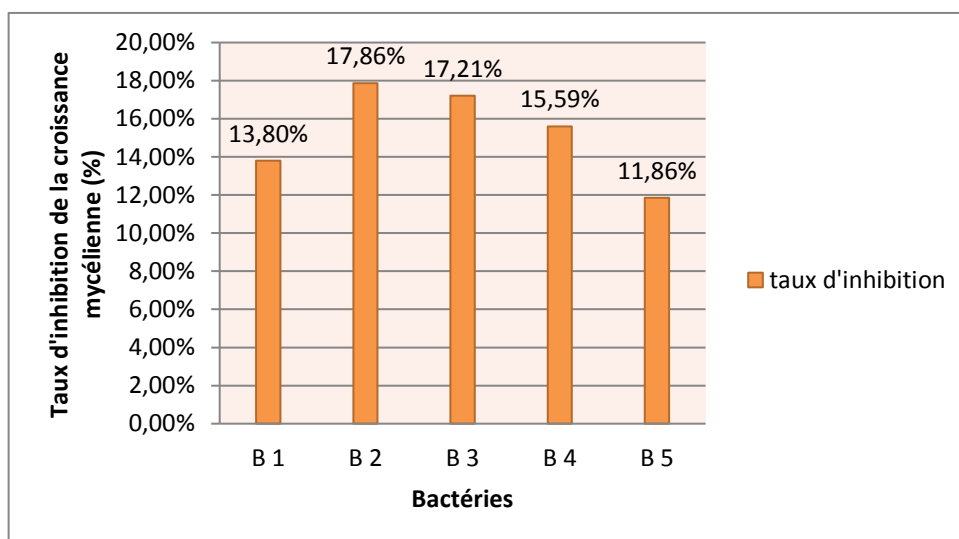


Figure 15 : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC, après 6 jours de la confrontation indirecte (**Originale, 2022**).

b) Evaluation de la sporulation

Les mesures effectuées sur la sporulation des colonies du parasite confrontées aux différentes souches de *P. fluorescens* indiquent une importante sporulation de celles-ci par rapport aux colonies non confrontées (témoins).

La bactérie B5 a induit chez le pathogène la plus forte sporulation, avec une valeur de moyenne de 23.65×10^6 spores/ml soit un taux de stimulation de la sporulation de 49.38%, puis la bactérie B3 avec une valeur de 20.7×10^6 spores/ml (42.17%), B2 avec 15.8×10^6 spores/ml (24.24%), B4 avec 13.15×10^6 spores/ml (8.97%) et B1 avec 12.9×10^6 spores/ml (7.20%) (**Figure 16**).

L'analyse statistique *Annova* montre des résultats hautement significatifs (**Annexe 4**).

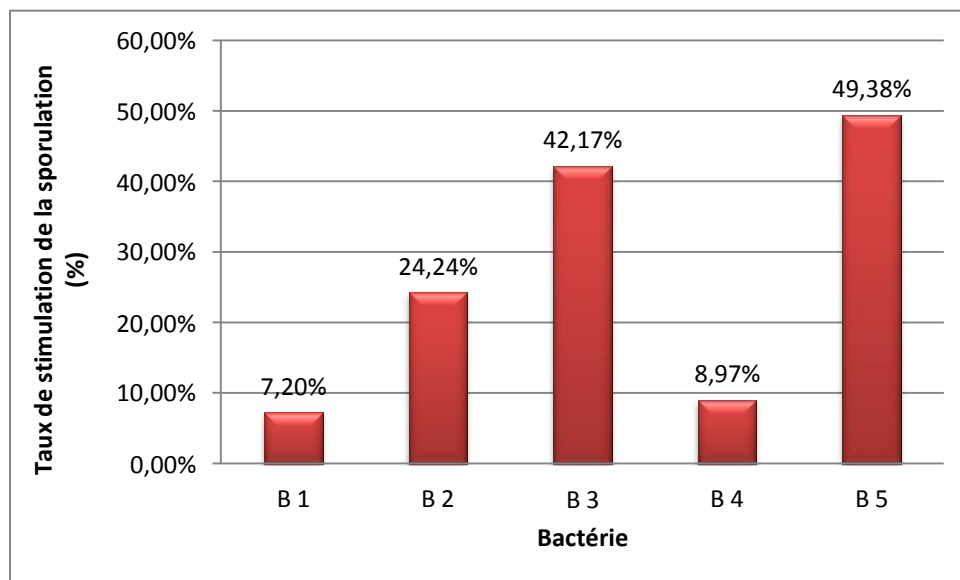


Figure 16 : Taux de stimulation de la sporulation après 10 jours de la confrontation indirecte (**Originale, 2022**)

Discussion

Abed. H et al. (2017) en étudiant l'action des rhizobactéries antagonistes (*Pseudomonas* et *Bacillus*) dans la lutte biologique contre la fusariose du pois chiche induite par FOC ont montré que l'inhibition de la croissance mycélienne de FOC en confrontation directe est le résultat de l'action combiné des composés volatiles et des produits diffusibles dans le milieu. En revanche, l'action des substances volatiles produites par les souches *Bacillus* est plus prononcée que celle obtenue avec les souches *Pseudomonas* de manière générale. La sensibilité des isolats du FOC aux substances volatiles produites est plus prononcée par rapport aux produits diffusibles dans le milieu de culture.

Les tests d'antagonismes *in vitro* révèlent qu'il y a une influence sur la croissance mycélienne et sur la sporulation de FOC. Cependant, nos résultats montrent un effet antagoniste significatif sur la croissance mycélienne en confrontation directe, mais cet effet est non significatif en confrontation indirecte). En revanche l'inhibition de la sporulation n'a été possible que dans le cas du test de confrontation directe, dans le test de confrontation indirecte (substances volatiles) nous avons noté une stimulation de la sporulation du pathogène ; en effet, dans les boîtes du témoin non confronté aux bactéries, le nombre de conidies a été plus élevé par rapport aux boîtes contenant les explants du parasite confronté aux différentes souches de *Pseudomonas fluorescens*. Nous pensons qu'il existerait chez cette espèce des substances volatiles qui agiraient sur la stimulation de la sporulation du parasite.

Nous pensons aussi les substances volatiles des bactéries testées ont induit un stress qui a provoqué une stimulation de la sporulation du parasite. Comme pour les plantes où le stress abiotique ou biotique provoque la montaison en graines. Pour s'assurer de véracité de nos résultats l'expérimentation mériterait d'être répétée au moins 3 fois. Travail impossible à réaliser dans le cadre d'un mémoire de master, à cause du manque de temps. Selon **Maslouhy (1989)**, l'action inhibitrice de la sporulation est due à une lyse du mycélium et des spores des parasites. Selon lui, il s'agit d'un phénomène d'antibiose lié à la production par les antagonistes des substances inhibitrices qui agissent sur la croissance, la sporulation et la germination du parasite.

Pseudomonas fluorescens possèdent une multitude de mécanismes d'actions qui peuvent être attribués à la synthèse d'antibiotique et d'autres types de métabolites à effet d'antibiose exercés directement ou indirectement. **Misaghi et al. (1982)** étudiant l'action antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* sur *Pythium aphanidermatum* ont montré une corrélation entre la quantité de pigment fluorescents et le pouvoir antagoniste de ce genre de bactérie, plus la

quantité de ces pigments est importante plus l'antagonisme est accentué.

Zaim (2016) En étudiant l'effet antagoniste des microorganismes de la rhizosphère de la culture du pois chiche à l'égard de FOC montre que l'activité inhibitrice de la croissance mycélienne de deux isolats pathogènes (FOC 1, FOC 2) est de 25,63% à 71,11% par confrontation directe et de 14,11% à 45,74% à distance. Ces espèces ont significativement réduit l'incidence du flétrissement vasculaire après une bactérisation des semences de cultivar sensible ILC 482 de 60 à 99% en pots et de 57,2 à 98% en plein champ. Cette étude a permis de révéler que les espèces rhizosphériques de pois chiche appartenant au genre *Bacillus* peuvent être utilisées comme agents de lutte biologique.

Benaissa(2019)en étudiant la faculté suppressive d'un sol au *Fusarium oxysporum* f.sp.*lycopersici* race l'agent causal de *Fusarium wilt* sur tomate a montré que les bactéries testées par la technique de confrontation directe possédaient une activité antagoniste vis-à-vis du *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici*, selon la méthode de confortation directe. Les résultats obtenus montrent un pourcentage d'inhibition important qui varie de 28.25% à 67.25% selon l'antagoniste. Ces résultats semblent confirmer ceux que nous avons obtenu par les bactéries (01, 02, 03, 04, 05) en confrontation directe après six jours d'incubation.

Conclusion

Les travaux présentés dans ce mémoire visaient l'élaboration d'une stratégie de lutte envers *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, par une approche exploitant l'effet bénéfique de rhizobactéries.

L'action antagoniste exercée par les *Pseudomonas fluorescens* isolés de sols de la région de Mostaganem s'est révélée plus ou moins intéressante.

L'effet sur la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, de nature antibiotique, a été important chez toutes les bactéries au niveau du test de confrontation directe. En revanche, cet effet n'était pas significatif dans le cas de la confrontation indirecte.

L'effet sur la sporulation du pathogène lors de la confrontation indirecte a donné un résultat contraire à ce qui était attendu puisque au lieu d'inhiber la sporulation de FOC, les souches de *Pseudomonas* la stimulaient.

Dans ce contexte, la lutte biologique contre le flétrissement vasculaire du pois chiche à l'aide de rhizobactéries antagonistes nous semble être une alternative prometteuse à l'emploi de fongicides dont d'ailleurs l'efficacité reste à démontrer. Notre travail apporte des données encourageantes sur l'emploi des bactéries antagonistes comme bio-fongicides.

Il est intéressant de poursuivre ces recherches pour isoler d'autres antagonistes potentiels à partir de la rhizosphère au niveau de différentes régions du pays. Les bactéries intéressantes doivent être identifiées.

Des essais seront conduits in situ pour confirmer l'effet des bactéries antagonistes afin de sélectionner les plus performantes.

La lutte biologique ne sera couronnée de succès que si l'utilisation des microorganismes antagonistes est intégrée dans un concept global de production avec une approche englobant le concept d'agriculture durable. Les travaux présentés dans ce thème visait l'élaboration d'une stratégie de lutte envers *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, par une approche exploitant l'effet bénéfique de rhizobactéries.

Annexe 1

Tableau d'analyse de variance pour le taux de croissance mycélienne (confrontation directe).

Facteur 1 : Souches de *Pseudomonas fluorescens*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	4015.025	14	286.788				
VAR.FACTEUR 1	3907.05	4	976.762	90.462	0		
VAR.RESIDUELLE 1	107.975	10	10.798			3.286	4.79%

Test de comparaison des moyennes (Nemman et Keuls, au seuil 5%).

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
B1	F1n1	79.16	A	
B5		78.233	A	
B3		75.457	A	
B4		73.61	A	
B2		36.57		B

Annexe 2 :**Tableau d'analyse de variance sporulation du pathogène (confrontation directe).**Facteur 1 : Souches de *Pseudomonas fluorescens*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	3322.157	14	237.297				
VAR.FACTEUR 1	2479.43	4	619.858	7.355	0.00521		
VAR.RESIDUELLE 1	842.727	10	84.273			9.18	22.98%

Test de comparaison des moyennes (Nemman et Keuls, au seuil 5%)

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
B1	F1n1	61.933	A	
B4		41.833		B
B5		38.5		B
B2		35.333		B
B3		22.167		B

Annexe 3 :

Tableau d'analyse de variance pour le taux de croissance mycélienne (confrontation indirecte).

Facteur 1 : Souches de *Pseudomonas fluorescens*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	128.232	14	9.159				
VAR.FACTEUR 1	74.522	4	18.63	3.469	0.05033		
VAR.RESIDUELLE 1	53.71	10	5.371			2.318	2.75%

Test de comparaison des moyennes (Nemmann et Keuls, au seuil 5%).

TEST DE NEWMAN KEULS NON SIGNIFICATIF.

Annexe 4 :

Tableau d'analyse de variance pour la sporulation du pathogène (confrontation indirecte).

Facteur 1 : Souches de *Pseudomonas fluorescens*.

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	12625.09	14	901.792				
VAR.FACTEUR 1	10657.25	4	2664.313	13.539	0.00058		
VAR.RESIDUELLE 1	1967.832	10	196.783			14.028	38.19%

Test de comparaison des moyennes (Nemmann et Keuls, au seuil 5%).

F1	LIBELLES	MOYENNES	GROUPES HOMOGENES	
B3		72.553	A	
B5		62.277	A	
B2		31.773		B
B4		9.58		B
B1	F1n1	7.493		B

Références

- Abbas H.K., Ocamo C.M., Xie W., Mirocha C.J et Shier W.T. 1995. First report of fumonisin Bi, B2, and B3 production by *Fusarium oxysporum* var. *redolens*. Plant Disease. 79: 968.
- Abed.H; 2017. Depistage et utilisation des rhéobactéries antagonistes (Pseudomonas et Bacillus) dans la lutte biologique contre fusariuse de pois chiche induite par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Thèse de doctorat, Université ferhat abbas sétif, p4.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Amsterdam, Elsevier *Academic Press*. 948p.
- Akhtar Ayyub M., 2001.Evaluation of chickpea germplasm , fangitoxicant , organic and inorganic material for the management of wilt *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. thèse de doctorat .University of agriculture ,Faisalabad, Pakistan, 132p.
- Akram, A., Muhammad Iqbal, S.H., Shahid, R.I., Abdul, C.H.R. 2004. *In vitro* evaluation of fungicides against *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris*. *Mycopath*, 2(2): 61-63.
- Allali H, Boussouar K. 2007. Etude des besoins en eau de la culture de pois chiche (*Cicer arietinum*) dans la région de Sidi Bel Abbés mémoire de fin d'étude de DES biologie et pEl Aoufir A. 2001.Étude du Flétrissement Vasculaire du Pois Chiche (*Cicer arietinum*).
- Arvayo-Ortiz, M., Esqueda, M., Acedo-Felix, E., Sanchez, A., Gutierrez, A. 2011. Morphological variability and races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* associated with chickpea (*Cicer arietinum*) crops. *Ann. J. Agric. Biol. Sci*, 6: 114-112.
- Baayen R.P et Gams W. 1988. The Elegans Fusaria causing wilt disease of carnation. Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 94: 273-288.
- Babar B. M., Shah T. M., Abbas G. et Ahsanulhaq M., 2009.Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes developed through mutation breeding. *Pakistan Journal of Botany*. 4, 1883p.

-
- Backman, P.A., Turner, J.R. 1989. Plant response and disease control following seed inoculation with *Bacillus subtilis*. In proceeding beltwide Cotton products research conference (book2) , J. M. Brown (ed). National Cotton council of American, Memphis,16-17.
 - Bangera, M.G et L.S. Thomashow.1996. Characterization of a genomic locus required for synthesis of the antibiotic 2,4-diacetylphloroglucinol by the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* Q2-87.Mol. Plant-Microbe Interact. 9: 83-90.
 - Barna et al.,1985 .Essai de lutte biologique contre le *Fusarium f.sp.ciceris*.
 - Bellemou D., Laouar M., Abdelguerfi A. 2016. Genetic erosion of Algerian chickpea. ICARDA. International conference on PULSES for Health, Nutrition and Sustainable Agriculture in Drylands- Marrakech, Morocco 18-20 April 2016.
 - Benaissa S.; 2019. Etude de la faculté suppressive d'un sol *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* race l'agent causal de *fusarium wilt* sur tomate. Université de Biskra, 102p.
 - Bendahmane B.S., Mahiout D., Benzohra I.K, M. Youcef Benkada .2012.
 - Berger J., Abbo S. and Turner N.C., 2003. Ecogeography of annual wild Cicer species: The poor state of the world collection. Plant Genetic Resources. CropSci., 43:1076-1090.
 - Booth C. 1971. The genus *Fusarium*. Kew (surrey): Commonwealth Mycological Institute, England. Pp: 137.
 - Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institut, Kew, Surey, England, 273 p.
 - Boubkeur .S et al .Antagonisme of three *Trichoderma* Species Against *Botrytis fabae* and *B .cinerea* the causal Agent of chocolate sport of faba bean (vicia faba.l)In Algeria.puplication 2012 p279.
 - Bouzanad, Z.1989.contribution à la connaissance du genre ascochyta chez légumineuse en Algérie. Etude biologique, ultrastructure et cytochimie des relations hôte-pathogène chez le couple *A.pisi/Pisum sativum*. Thèse doc.es.Sci.Nat.Univ.PierreMarie Curie. P. 190.

-
- Bouznad, Z., Maatougui, M. E. H., Labidi M 1996.Importance et distribution géographique des maladies fongiques des légumineuses alimentaires en Algérie.P : 1319.In :B.Ezzahiri,A.Lyamani, A.Farih et M.El Yamani(eds) . Proceedings du symposium Régional sue les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires, Rabat, Maroc.
 - Chandar, K., Gangopadhyay, S., Godara, S.L. 2013. Efficacy of fungicides in suppressing chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease Research*, 28(1): 71 - 73.
 - Clark, F,E, 1968.Ecological associations among soil microorganisms.Rev. Soil. Microbiol. Unesco Paris.
 - Clays-Josserand A, Lemanceau P, Philippot L, Lensi R .1995. Influence of two plant species (flax and tomato) on the distribution of nitrogen dissimilative abilities within fluorescent *Pseudomonas* spp. *Appl Environ Microbiol* 61, 1745-1749.
 - Corbaz R. 1990 .Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaire romandes (première édition). Lausanne. Suisse, 286p.
 - Delory B.M., Delaplace P., du Jardin P. & Fauconnier M.-L., 2016. Barley (*Hordeum distichon* L.) roots synthesise volatile aldehydes with a strong age-dependent pattern and release ϵ -non-2-enal and (E, Z)-nona-2, 6-dienal after mechanical injury. *Plant Physiol. Biochem.*, 104, 134-145, doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.03.028.
 - Dudareva N., Klempien A., Muhlemann J.K. & Kaplan I., 2013. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytol.*, 198, 16-32, doi.org/10.1111/nph.12145.

-
- Effmert U., Kalderás J., Warnke R. & Piechulla B., 2012. Volatile mediated interactions between bacteria and fungi in the soil. *J. Chem. Ecol.*, 38, 665-703, doi.org/10.1007/s10886-012-0135-5.
 - Elad, Y., Vivier, M., and Fillinger, S. 2016. *Botrytis*, the Good, the Bad and the Ugly. *Dans "Botrytis - the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems"* (S. Fillinger et Y. Elad), Springer International Publishing, Switzerland. Pp. 2-15.
 - Erwin, D. C. 1958. *Verticillium* wilt of *Cicer arietinum* in southern California. *Plant disease reporté*, 42p.
 - Flor H., 1971. Current status of the gene for gene concept. *Annuals Review of phytopathology.*, 9:275-296.
 - Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fao. 2019. *Crop statistics*. FAOSTAT. Consulté le 30 mars 2019, à l'adresse <http://www.fao.org/faostat/fr/>.
 - Fravel, D.R. 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of plant diseases. *Ann. Rev. Phytopathology* 26: 75-91.
 - Gamble TN, Betlach MR, Tiedje JM (1977) Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Appl Environ Microbiol* 33, 926-939.
 - Gaur P. M., Jukanti A. K., Samineni S., Gowda C. L. L. (2012). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Breeding of Field Crops*. Agrobios (India), Jodhpur, India. 165-189.
 - Gaur PM, Tripathi S, Gowda CLL, Ranga Rao GV, Sharma HC, S P., M a.S. 2010. Chickpea seed production manual. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India.
 - Gerlach W et Nirenberg H. 1982. The genus *Fusarium* A pictorial atlas. *Mitteilungen aus der biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft* (Berlin Dahlem).
 - Grewal, J. S., Pal, M., Kushrestha, D. 1974. Fungi associated with gram wilt. *Indian. J. genet. And plant breeding*, pp: 242-246.

-
- Groenewald, S. 2005. Biology, pathogenicity and diversity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense*. Magister Scientiae. Faculty of natural and agricultural science university of Pretoria.
 - Gupta O. M., Kotasthane S. R., Khare M. M. 1986. *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum*). *Agricultural Review*, 7: 87-97.
 - Gupta, O.M., Kotasthane, S.R. (1978). Efficacy of fungicidal seed treatment pretends post emergence mortality in different varieties of Bengal gram (*Cicer arietinum*). *International Chickpea Newsletter*, 6: 32.
 - Halila M. M. and Strange R. N., 1996. Identification of the causal agent of wilt of chickpea in Tunisia as *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* race 0. *Phytopathologia Mediterranean*, 35:67-74.
 - Haware M P.,1990.*Fusarium* wilt and other important diseases of chickpea in the Mediterranean area. *Options Mediterr. Ser. Semin.* 9:163–166.
 - Haware, M. P., Nene, Y. L., Rajeshawari, R. 1978. Eradication of *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceri* transmitted in chickpea seed. *Phytopathology*, 68: 1364-1367.
 - Haware, M. P., Nene, Y. L., Rao, N. 1981. Additional sources of resistance to wilt and roots of chickpea. *International Chickpea Newsletter*, 4: 18.
 - Haware, M.P. (1990). *Fusarium* wilt and other important diseases of chickpea in the Mediterranean area. *Options Mediterr. Ser. Semin.*, 9: 61-64.
 - Haware, M.P., Nene, Y.L., Mathur, S.B. (1986). Seed borne diseases of chickpea .Technical Bulletin from the Danish Government Institute of seed Pathology for developing Countries.copenhagen *Denmark*. 1:14.
 - Helluy S. and Holmes J. C. 2005. Parasitic manipulation: further considerations. *Behav. Processes*. 68, 185-99.

-
- Holloway BW (1992) *Pseudomonas* in the late twentieth century. In : *Pseudomonas, Molecular Biology and Biotechnology* (E Galli, S Silver, B Witholt, eds), Am Soc Microbiol, Washington, DC, 1-8.

 - ITGC., 2003 - "Céréaliculture" revue de l'Institut Technique des grandes Cultures N°40. Jaiswal R. et ITGC, 2013. La culture du pois chiche (*Cicer arietinum* L.).

 - Jalali B.L. and Chand H., 1992. Chickpea wilt. In: *plant Diseases of International Importance. Vol.1 Diseases of cereals and Pulses* (eds Singh, U.S et al.), Prentice Hall, N. J, 1992, pp.420-444.

 - Jijakly M.H. 2003. La lute biologique en phytopathologie, *In; Phytopathology. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles.*

 - Jiménez-Díaz, R., Jiménez-Gasco, M.M. 2011. Integrated Management of *Fusarium* Wilt Diseases. *Control of Fusarium Diseases*, 177-215.

 - Jiménez-Díaz, R.M., Trapero-Casas, A. 1985. Use of fungicide treatments and host resistance to control the wilt and root rots complex of chickpea. *Plant disease*, 69: 591-595.

 - Jiménez-Fernandez, D., Landa, B.B., Seogchan, K., Rafael, M., Jiménez-Díaz, J., Navas-Cortés S.A. 2013. Quantitative and Microscopic Assessment of Compatible and Incompatible Interactions between Chickpea Cultivars and *Fusarium oxysporum* f.sp. *Ciceris* Races. *PLOS ONE* (8) 61360.

 - Jiménez-Gasco M. D. M., Milgroom M. G. and Jiménez-Díaz R. M., 2004. Stepwise evolution of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequences. *Phytopathology.*, 94:228-235.

 - Khan H., Zeb A., Ali Z. et Shah S. M., 2009. Impact of five insecticides on chickpea (*Cicer arietinum* L.) nodulation, yield and nitrogen fixing rhizospheric bacteria. *Soil and environment*. 1, pp: 56-59.

-
- Kudapa, H., Garg, V., Chitikineni, A., & Varshney, R. K. 2018. The RNA-Seq-based high resolution gene expression atlas of chickpea (*Cicer arietinum* L.) reveals dynamic spatio-temporal changes associated with growth and development. *Plant, cell & environment* 41 : 2209-2225.
 - Labdi M. (1990). Chickpea in Algeria. *Chickpea in Algeria* 9 : 137-140.
 - Lemanceau P (1992) Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas* spp fluorescens. *agronomie* 12, 413-437.
 - Lemanceau P, Alabouvette C (1993) Suppression of fusarium wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications. *Biocontrol Sci Technol* 3, 219-234.
 - Lemfack M.C. et al., 2017. database of microbial volatiles. *NucleicAcidsRes.*, 46, D1261-D1265, doi.org/10.1093/nar/gkx1016.
 - Lucas P, Sarniguet A, Collet JM, Lucas M.1989. Réceptivité des sols au piétin-échaudage(*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) : influence de certaines techniques culturales. *Soil Biol Biochem* 21, 1073-1078.
 - Madrid E., Rubiales D., Moral A., Moreno M.T., Millan T., Gil J. and Rubio J., 2008. Mechanism and molecular markers associated with rust resistance in a chickpea interspecific cross (*Cicer arietinum* x *Cicer reticulatum*). *European Journal of Plant Pathology.*, 121:43-53.
 - Mahiout, D. 2007. Contribution à l'étude de *Botrytis* sp., agent causal de "taches chocolat" sur fèves (*Vicia faba* L.): Caractérisation morphologique, culturale et pathogénique. Lutte biologique par *Trichoderma* spp. Mémoire de magister, 104p.
 - Matsubara T, Zumft, W.G. 1982. Identification of a copper protein as part of the nitrous oxide-reducing system in nitrite-respiring (denitrifying) pseudomonads. *Arch Microbiol* 132, 322-328.
 - Morath S.U., Hung, R. & Bennett J.W., 2012. Fungal volatile organic compounds: a review with emphasis on their biotechnological potential. *Fungal Biol. Rev.*, 26, 73-83, doi.org/10.1016/j.fbr.2012.07.001.

-
- Navas C.J.A., Alcalá-Jiménez .A.R., Hau B. and Jiménez-Díaz R.M., 2000. Influence of inoculum density of races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* on development of Fusarium wilt in chickpea cultivars. *European Journal of Plant Pathology*, 106:135-146.
 - Nelson P. E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, PA.
 - Nelson P.E., Toussont A et Marasas W.F.O.1983. *Fusarium* species. Ani 1 lustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press.USA. Pp: 193.
 - Nene, Y. L., Haware, M. P., Reddy, M. V. 1979. Diagnosis of some wilt-like disorders of chickpea (*Cicer arietinum*). *ICRISAT Information Bulletin*, 3: 1-44.
 - Nene, Y.L. Reddy, M.V. 1987. Chickpea diseases and their control. In: *The Chickpea*, (M.C.Saxena, K.B. Singh, ed.), CABI Publishing, CAB Int., Wallingford, UK, 233–27.
 - Nene, Y.L. Reddy, M.V. 1987. Chickpea diseases and their control. Pages 233-370 In: *The chickpea* Saxena M. C and Singh K.B red. Walking Ford Oxfordshire, UK: CAB International.
 - Palleroni NJ .1984. Gram-negative aerobic rods and cocci: family I Pseudomonadaceae. In : *Bergey's Manual of Bacteriology* (NR Krieg, JG Holt, eds), William & Wilkins, Baltimore, 1, 141-199.
 - Palleroni NJ. 1992. Introduction to the family Pseudomonadaceae. In : *The Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, 3071-3085. *Pathology* 41, 169-176.
 - Rataj-Guranowska M et Wolko B. 1991. Comparisons of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium oxysporum* var. *redolens* by analyzing the isozyme and serological patterns. *Journal of Phytopathology* 132: 287-293.

-
- Ravi R., Bhattacharya S. 2004. Flow behaviour of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour dispersions: effect of additives. *Journal of food engineering* 65 : 619-624.
 - Saikia, R., Yadav, M., Pratap, B., Singh, D.K., Singh, G.T., Arora, D.K. 2006. Induction of resistance in chickpea by cell wall protein of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Macrophomina phaseolina*. *Current Science*, 91: 11, 10.
 - Saxena M.C., Singh K. 1987. The chickpea Commonwealth Agricultural Bureaux International.
 - Schroth MN, Hildebrand DC, Panopoulos N .1992. Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated pseudomonads,. In : *The Prokaryotes* (MP Balows, ed), Springer-Verlag, New York, 3104-3131.
 - Sharma D.K. and Muehlbauer F.J., 2007. *Fusarium* wilt of chickpea: physiological specialization, genetics of resistance and resistance gene tagging. *Euphytica*., 157:1-14.
 - Sharma M., Kumar R. V., Narayan R.J., Kannan S., Holsington D. and Pande S., 2009. Genetic diversity in Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, chickpea wilt pathogen. *African Journal of Biotechnology*., 6:1016-1023.
 - Shukla, P., Singh, R. R., Mishra, A. N. 1981. Search for best seed dressing fungicides to control chickpea wilt: *Pesticides*, 15 (7).
 - Singh K. B., Malhotra., Halila M. H., Knights E.J. and Verma M. M., 1994. Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica*., 73:137-149.
 - Singh K., Reddy M. 1991. Advances in disease-resistance breeding in chickpea, *Advances in Agronomy*. Elsevier : 191-222.
 - Singh K., Reddy M., Nene Y. 1984. International testing of chickpeas for resistance to *Ascochyta* blight. *Plant Disease* 68: 782-784.

-
- Singh P. K., Shrivastava N., Sharma B., & Bhagyawant S. S., 2015. Effect of domestic processes on chickpea seeds for antinutritional contents and their divergence. *American Journal of Food Science and Technology* 3 : 111-117.
 - Smithson, J.B., Thompson, J.A., Summerfield, R. J. 1985. Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Summerfield R. J. Robert E. H. (eds), *Grain Legume Crop. Collins, London, UK, pp.312-390*
 - Snyder W.O et Hansen H.N. 1940. The species concept in *Fusarium*. *American Journal of Botany* 27: 1-11.
Stanier RY, Palleroni NJ, Doudoroff M. 1966. The aerobic pseudomonads, a taxonomic study. *J Gen Microbiol* 43, 159-271.
 - Stevenson, P.C., Witch, N.C. 1997. A 2-Arylbenzofuran from roots of *Cicer bijugum* associated with *Fusarium* wilt resistance. *Phytochem. strv*, 48(6): 947-951.
Upadhyaya H. D., Dwivedi S. L., Gowda C. L. L. and Singh S., 2007. Identification of diverse germplasm lines for agronomic traits in a chickpea (*Cicer aritinum* L.) core collection for use in improvement. *Field Crops Research.*, 100:153-158.
 - Upadhyaya H.D., Dwivedi S.L., Sharma S. 2017. Managing and discovering agronomically beneficial traits in chickpea germplasm collections. *The chickpea genome* : 43-52. DOI: 10.1007/978-3-319-66117-9_5. 148.
 - USDA.,2008. Plant profile of *Cicer arietinum* (Chickpea). United States Department of Agriculture (USDA), Natural Resources Conservation Service (NRCS), Plant database. *alling ford, U.K.*, 1:1-13.
 - Van Der Maesen L J G., 1972 . *Cicer* L., “a monograph of the genus, with special reference to the chickpea (*Cicer arietinum* L.), its ecology and distribution”. *Mededelingen Landbouwhogeschool Wageningen (Communications Agricultural University Wageningen, The Netherlands)* 72-10 .1972. p342.

-
- Wery, J., S.N. Silim, E.J. Knights, R.S. Malhotra et E. Cousin.1994.Screening techniques and sources of tolerance to extremes of moisture and air temperature in cool season food legumes. *Euphytica*; 73, 73-83.
 - Wollenweber H.W. 1913. Studies on the Fusarium problem. *Phytopathology*. 3: 24-50.
 - Xu, S., Park, D., Kim, J.-Y., and Kim, B.-S. 2016. Biological control of gray mold and growth promotion of tomato using *Bacillus* spp. isolated from soil. *Tropical Plant*.
 - Yadav S.S., Chen W. 2007. Chickpea breeding and management CABI.
 - Yusuf A. M., Krishnamurthy L., Saxena N. P., Rupela O. P., Kumar J. et Johansen C., 2002.Scope for genetic manipulation of mineral acquisition in chickpea. *Plant and soil*. 245, pp: 123-134.
 - Zaim S. 2016. Essai de lutte biologique contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* à l'aide des microorganismes de la rhizosphère de la culture du pois chiche.These de Doctorat, Université Abdel hamid Iben badis, Mostaganem, p 23.