

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abd El Hamid Ibn Badis de Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département d'Agronomie



Mémoire de fin d'études
Présenté par
SBAlHIA Lyes & YAHlATENE Sara Fatna
Pour l'obtention du diplôme de
Master en AGRONOMIE
Spécialité : Protection des cultures

Thème

Etude de l'activité antagoniste de quelques
Rhizobactéries vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*

Soutenu publiquement le : 15/10/2019

Devant le Jury :

Mr GHOULLAMALLAH A.	M.C.A. Univ. Mostaganem	Président
Mr MAHIOUT D.	M.C.B Univ. Mostaganem	Directeur de thème
M ^{me} SAIAH F.	M.C.B. Univ. Mostaganem	Examinatrice

Année universitaire 2018-2019

Didécace

Je dédie ce mémoire à mes chers parents

Ma chère mère

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

Mon cher père

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

A mes frères, Salah et Mouhamed Saïid

La joie de ma vie.

A mon binôme

Lyès 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 : mes aimables amis, collègues d'études et toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.

Sara

Didécace

Je dédie ce mémoire à mes chers parents

Ma chère mère

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

Mon cher père

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

A mon frère Mouhamed

A ma sœur Amira

La joie de ma vie.

A mon binôme

Sara 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 : mes aimables amis, collègues d'études et toute personne ayant contribué à la réalisation de ce travail.

Lyes

Remerciement

En préambule à ce modeste travail nous remercions ALLAH le tout puissant et miséricordieux qui nous a aidé et nous a doté de patience et de courage durant ces longues années d'étude

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur, MAHJOUT Djamel, pour l'orientation, la confiance, la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Qu'elle trouve dans ce travail un hommage vivant à sa haute personnalité.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Madame SAIAH Farida et Monsieur GHOUILLAMALLAH Amine pour l'honneur qu'ils vous avez fait d'accepter de juger et d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

nos sincères remerciements vont à Doctorant SAKKAL Ibrahim qui nous a prodigué sans parcimonie tout au long de ce travail, conseils, aide, soutien et encouragements.

Nous remercions aussi l'ensemble des travailleurs de laboratoire Microbiologie et laboratoire protection des cultures de l'université de Mostaganem à leur tête les techniciens Madame Houria et Monsieur BENBOUZIANE Djilali et n'oublie pas Nabil le technicien de laboratoire de Protection Des Cultures à l'ENES Mostaganem et aussi Monsieur SOUANE Abd Elkader qui ont aidé pendant la durée du stage.

A tous mes professeurs et enseignants du département d'agronomie de Mostaganem qui ont contribué à notre formation et plus spécialement ceux de la spécialité protection des cultures.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire. Merci à tous et à toutes.

Nous tenons également à remercier tous ceux et celles qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail et soutenus dans les moments difficiles

Sara & Iyes

Résumé

Quinze souches de rhizobactéries isolées de la rhizosphère de plants de pomme de terre au niveau de la région de Mostaganem sont évaluées pour leur activité antagoniste sur la croissance et la sporulation de deux isolats (TLM et T9) de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, agent de la fusariose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Pour cela deux méthodes de confrontation (directe et indirecte) distinctes ont été testées.

En confrontation directe, le rayon de croissance de l'isolat TLM varie entre 24 et 35 mm selon l'antagoniste auquel il est confronté, relativement au rayon du témoin non confronté à l'antagoniste (35 mm). Le rayon de croissance de l'isolat T9 varie entre 26 et 36 mm pour le traitement contre 38 mm pour l et témoin (T9 non confronté à aucune bactérie antagoniste). Une importante zone d'inhibition du pathogène a été notée.

Les antagonistes testés ont tous eu un effet sur la sporulation des deux souches parasites. En effet, la sporulation de TLM varie de 8.44×10^6 spores/ml à 52.02×10^6 spores/ml selon la bactérie à laquelle l'isolat est confronté, contre 84.33×10^6 spores/ml dans le cas du témoin (non confronté à l'antagoniste). Dans le cas de T9, le nombre de spores varie de $39,77 \times 10^6$ spores/ml à $73,2 \times 10^6$ spores/ml selon la bactérie testée, contre témoin $85,11 \times 10^6$ spores/ml pour le témoin.

En confrontation indirecte, le rayon de croissance du champignon parasite varie entre 16 et 34 mm pour l'isolat TLM et 24 mm à 36 mm pour l'isolat T9 contre 38 mm pour le rayon de croissance du témoin TLM et 35 mm pour le témoin T9.

Selon la bactérie à laquelle sa colonie est confronté, la sporulation de TLM varie entre 12×10^6 à 71.11×10^6 spores/ml, en revanche elle varie de 24×10^6 spores/ml à 73.59×10^6 spores/ml dans le cas de T9, relativement aux témoins T9 (89.84×10^6 spores/ml) et TLM (84.66×10^6 spores/ml).

Mots clés: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, flétrissement vasculaire, *Cicer arietinum* L. rhizobactéries, microorganismes antagonistes.

Abstract

Fifteen strains of rhizobacteria isolated from the rhizosphere of potato plants in the region of Mostaganem are evaluated for their antagonistic activity on the growth and sporulation of two isolates (TLM and T9) of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, agent for fusariosis of chickpea (*Cicer arietinum* L.). For this two distinct (direct and indirect) confrontation methods were tested.

In direct comparison, the growth radius of the TLM isolate varies between 24 and 35 mm depending on the antagonist with which it is confronted, relative to the radius of the control not confronted with the antagonist (35 mm). The growth radius of the T9 isolate varies between 26 and 36 mm for the treatment against 38 mm for the control (T9 not confronted with any antagonistic bacteria). An important zone of inhibition of the pathogen has been noted.

The antagonists tested all had an effect on the sporulation of the two parasitic strains. Indeed, the sporulation of TLM varies from 8.44×10^6 spores / ml to 52.02×10^6 spores / ml depending on the bacterium to which the isolate is confronted, against 84.33×10^6 spores / ml in the case of the control (not confounded with the 'antagonist'). In the case of T9, the number of spores varies from 39.77×10^6 spores / ml to 73.2×10^6 spores / ml according to the bacteria tested, against control 85.11×10^6 spores / ml for the control.

In indirect comparison, the growth radius of the parasitic fungus varies between 16 and 34 mm for the TLM isolate and 24 mm at 36 mm for the T9 isolate against 38 mm for the growth radius of the TLM control and 35 mm for the control. T9.

According to the bacterium to which its colony is confessed, the sporulation of TLM varies between 12×10^6 to 71.11×10^6 spores / ml, on the other hand it varies from 24×10^6

spores / ml to 73.59×10^6 spores / ml in the case of T9, relative to the T9 controls (89.84×10^6 spores / ml) and TLM (84.66×10^6 spores / ml).

Key words: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, vascular wilt, *Cicer arietinum* L., rhizobacteria, antagonistic microorganisms.

المخلص

تم تقييم خمسة عشر سلالة من البكتيريا الجذرية المعزولة من جذور نباتات البطاطا في منطقة مستغانم بسبب نشاطها العدائي على نمو عزلتين (T9 و TLM) من *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* ، وكيل ل fusariosis من الحمص (*Cicer arietinum* L). لهذا تم اختبار طريقتين متميزتين (مباشرة وغير مباشر). في المقارنة المباشرة، يتراوح قطر النمو لعزل TLM بين 24 و 35 مم اعتماداً على المضاد الذي تواجهه، نسبةً إلى نصف قطر عنصر التحكم غير المواجه للمضاد (35 مم). يتراوح قطر النمو لعزل T9 ما بين 26 و 36 مم للمعالجة مقابل 38 مم لعنصر التحكم (T9 لا يواجه أي بكتيريا معادية). وقد لوحظ وجود منطقة هامة لتثبيط العوامل الممرضة.

كان للمضادات التي تم اختبارها جميعاً تأثير على سُبل السلالتين الطفيلية. في الواقع، يتفاوت البقع في TLM من 8.44×10^6 جراثيم / مل إلى 52.02×10^6 جراثيم / مل اعتماداً على البكتيريا التي تواجهها العزلة ، مقابل $39,77 \times 10^6$ جراثيم / مل في حالة السيطرة (غير مرتبك مع خصم). في حالة T9، يتراوح عدد الجراثيم من $39,77 \times 10^6$ جراثيم / مل إلى $73,2 \times 10^6$ جراثيم / مل وفقاً للبكتيريا التي تم اختبارها ، مقابل التحكم $85,11 \times 10^6$ جراثيم / مل للتحكم.

في المقارنة غير المباشرة، يتراوح قطر نمو الفطريات الطفيلية بين 16 و 34 ملم لعزل TLM و 24 و 36 ملم لم لعزل T9 مقابل 38 ملم لنصف قطر نمو التحكم TLM و 35 ملم لعنصر التحكم T9. وفقاً للبكتيريا التي يتم الاعتراف بها في مستعمراتها ، يتراوح تبلور TLM بين 12×10^6 إلى 71.11×10^6 جراثيم / مل ، من ناحية أخرى فإنه يتراوح من 24×10^6 جراثيم / ml إلى 73.59×10^6 جراثيم / مل في حالة T9 ، بالنسبة لعناصر التحكم (89.84×10^6) T9 أبواغ / مل) و (84.66×10^6) TLM أبواغ / مل).

الكلمات المفتاحية: *Fusarium oxysporum* f. س. *ciceris* ، الذبول الوعائي ، *Cicer arietinum* L ، ريزوبكتيريا ، الكائنات الحية الدقيقة المعادية.

Listes des figures

Figure1 : Description de la plante du pois chiche *Cicer arietinum* L. (Singh et Diwakar, 1995)

Figure 2 : Grain de pois chiche de type Kabuli⁽¹⁾

Figure 3 : différents grains de pois chiche de type Desi⁽²⁾

Figure: Symptômes de FOC agent causal de flétrissement vasculaire du pois chiche (Original, 2019)

Figure 5 : cycle de vie de *Fusarium oxysporum* f. *sp. ciceris* (Agrios, 2005) sur pois chiche.

Figure 06 : Schéma général de la rhizosphère (anonyme 1, 2003).

Figure 07 : sols rhizosphériques prélevés de différentes régions de la Wilaya de Mostaganem

Figure 08 : résultat de l'isolement des bactéries rhizosphériques à partir de la rhizosphère de pomme de terre.

Figure 09 : l'observation microscopique de bactéries telluriques isolées à partir de la rhizosphère de pomme de terre.

Figure 10: Aspects de quelques colonies des rhizobactéries sur King B obtenues à partir des racines de la pomme de terre variété Spunta.

Figure 11 : Aspect des bactéries Gram négatives (Rz21, Rz8), après les étapes de coloration et de traitement à l'éthanol, sous microscope électronique (G×100).

Figure 12 : Aspect microscopique d'un actinomycète (Rz27) isolé à partir des racines de la pomme de terre variété Spunta.

Figure13 : Aspect fluorescent d'une colonie appartenant à *Pseudomonas* (RB5) cultivée sur milieu King B et exposée au rayonnement ultra-violet (365 nm).

Figure 14 : Deux résultats du test de catalase (positive, négative) selon les agents antagonistes sélectionnés.

Figure15 : Deux résultats du test d'oxydation (positive, négative) selon les agents antagonistes sélectionnés.

Figure 16: Résultats de test de Levane sur les bactéries rhizosphériques.

Figure 17 : plantes du pois chiche contenant les symptômes de *Fusarium oxysporum* f. *sp. ceciris*

Figure 18: culture jeune (7 jours) de FOC de la région de Tlemcen (TLM), après isolement sur milieu de culture PDA.

Figure 19: colonies de FOC issues de culture monospore.

Figure 20: Observation microscopique de l'agent pathogène FOC (isolat TLM) (X400).

Figure21: Symptômes surplantes de pois chiche (ILC 482), 13 jours d'inoculation avec les isolats de *Fusarium oxysporum* f. *sp. ciceris* (TLM et T9).

Figure 22 : Symptômes sur plantules de pois chiche (ILC 482),20 jours d'inoculation avec les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*(TLM et T9).

Figure23 : Symptômes sur plantules de pois chiche (ILC 482),32 jours d'inoculation avec les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*(TLM et T9).

Figure 24: Effet de rhizobactéries sur la croissance mycélienne de deux isolats de FOC (TLM, T9), en confrontation directe.

Figure 25: Croissance mycélienne de l'isolat TLM confronté au bactéries antagonistes Rz28 et Rb9 par rapport à la croissance du témoin (sans antagoniste).

Figure 26: Croissance de l'isolat T9 confronté à l'antagoniste Rb5 par rapport au témoin (à droite).

Figure 27: Effet de rhizobactéries sur la croissance mycélienne de deux isolats de FOC (TLM, T9), en confrontation indirecte.

Figure 28: la croissance mycélienne de l'isolat TLM confronté à l'antagonistes Rz14, Rb9, Rz25 et Rz28 par rapport au témoin sans antagoniste.

Figure 29: la croissance mycélienne de l'isolat T9 confronté aux antagonistes les plus performants (Rb9, Rz14, Rz22) et leur témoin.

Figure 30: Effet des antagonists sur la sporulation de l'isolat TLM et T9, en comparaison aux témoins, technique de confrontation directe.

Liste des tableaux

Tableau 1 : composition chimique du pois chiche Kabuli et Desi

Tableau 2: Valeur nutritive du pois chiche (Singh et Jauhar, 2005).

Tableau 2 : Principaux pays producteurs du pois chiche durant l'année 2014. Source : FAOSTAT (2017)

Tableau 4 : principales maladies fongiques de pois chiche

Tableau 5: Test d'identification des bactéries antagonistes au FOC.

Tableaux 6 : signification de confrontation directe

Tableau 07 : signification de la confrontation indirecte

Tableau 08 : signification de la sporulation des isolats

Tableau 09 : Statistiques de groupe

Tableau 10 : Test d'échantillons indépendants

- ❖ Dédicace
- ❖ Remerciement
- ❖ Résumé
- ❖ Liste des tableaux
- ❖ Liste des figures

TABLE DES MATIERES

Introduction Générale	1
-----------------------------	---

Partie 1

Chapitre I : Généralité sur pois chiche

I.1 Origine	3
I.2 Systématique et taxonomie.....	3
I.3 Caractéristiques de pois chiche.....	3
I.3.1 Caractéristiques morphologiques.....	3
I.3.2 Caractéristiques agronomiques.....	5
I.4 Types de pois chiche.....	5
I.4.1 Type Kabuli.....	6
I.4.2 Type Desi	6
I.5 Valeur nutritionnelle.....	7
I.6 Exigence de pois chiche	8
I.6.1 Exigences édaphiques.....	8
✚ Type du sol.....	8
✚ Humidité du sol	8
✚ PH du sol	8
✚ Nutrition minérale	8
I.6.2 Exigences climatiques.....	8
✚ Température.....	8
✚ Besoin hydrique	9
✚ Lumière.....	9

I.7 Conduite de la culture.....	9
I.7.1 Choix de la parcelle.....	9
I.7.2 Préparation du sol.....	9
I.7.3 Semis.....	9
I.7.4 Fumure.....	10
I.7.5 Désherbage.....	10
I.7.6 Irrigation.....	10
I.7.7 Récolte.....	10
I.8 Importance de la culture du pois chiche.....	11
I.8.1 Importance nutritionnelle.....	11
I.8.2 Importance agronomique.....	11
I.8.3 Importance économique.....	12
I.9 Situation de la culture de pois chiche.....	12
I.9.1 Dans le monde.....	12
I.9.2 En Algérie.....	13
.....	
I.11 Maladies du pois chiche.....	14

Chapitre II : Agent pathogène : *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)

II.1 Historique et taxonomie.....	17
II.2 Classification.....	17
II.3 Dégât de flétrissement vasculaire.....	17
II.4 Epidémiologie.....	17
II.4.1 L'inoculum primaire.....	17
II.4.2 Mode d'infection.....	18
II.5 Cycle de vie de FOC.....	19
II.6 Moyens de lutte contre le <i>Fusarium oxysporum</i>	20
II.6.1 Méthodes culturales.....	20
II.6.2 La lutte biologique.....	21
II.6.3 La lutte phytosanitaire chimique.....	21

Chapitre III : Les bactéries rhizosphériques

III.1 Rhizosphère.....	23
III.2 Protection contre divers phytopathogènes.....	23
III.2.1 Compétition pour l'espace et les nutriments.....	23
III.2.2 Antibiose.....	24
III.3 Les <i>Pseudomonas</i> rhizosphériques.....	24
III.3.1 Caractéristiques du genre <i>Pseudomonas</i>	24
III.3.2 Caractéristiques métaboliques.....	25

III.3.3 Classification de genre <i>Pseudomonas</i>	26
III.3.4 Distribution écologique et rôle du genre <i>Pseudomonas</i>	26
III.3.4.1 Distribution écologique.....	26
III.4 Les <i>Pseudomonas spp.</i> fluoressantes agents de biocontrôle et de croissance des plantes	26
III.5 Stimulation de la croissance des plantes	27
III.5.1 Solubilisation des phosphates par les <i>Pseudomonas f.sp. fluorescents</i>	27

Partie II : Materiel et méthodes

• Objectif du travail.....	29
I.1 Prélèvement et préparation des échantillons des sols rhizosphériques.....	29
I.2 Isolement des rhizobactéries antagonistes.....	29
I.2.1 Purification des isolats bactériens.....	30
I.3 Identification des rhizobactéries.....	30
I.3.1 Coloration de Gram.....	30
I.3.2 Tests biochimiques.....	31
I.3.2.1 Test de catalase.....	31
I.3.2.2 Test d'Oxydase.....	31
I.3.2.3 Test Levane.....	32
I.3.2.4 Test de fluorescence.....	32
I.4 Conservation des rhizobactéries.....	32

Chapitre II : Isolement de l'agent pathogène

II.1 Matériel fongique.....	33
II.1.1 Obtention de l'agent pathogène.....	33
II.1.2 Isolement et purification de <i>Fusarium oxysporum f.sp. ciceris</i>	33
II.1.3 Culture monospore.....	33
II.1.4 Identification du pathogène.....	34
II.1.4.1 Etude macroscopique et microscopique.....	34
II.1.5 Vérification du pouvoir pathogène de l'isolat.....	34
II.1.5.1 Matériel végétal.....	34
II.1.5.2 Obtention des plantules de pois chiche	34
II.1.5.3 Inoculation des plantules.....	34

Chapitre III : Etude de l'action antagoniste *in vitro* de quelques bactéries isolées de la rhizosphère

III.1 Confrontation directe	35
III.2 Confrontation indirecte.....	36
III.3 Effet sur la sporulation.....	37
Partie III : Résultat et discussion	
<hr/>	
Chapitre I : isolement des rhizobactéries antagonistes	
I.1 Identification des rhizobactéries antagonistes.....	38
I.1 Identification des rhizobactéries antagonistes.....	38
I.1.1 Aspect microscopique	38
I.1.2 Aspect macroscopique.....	38
I.2 Fluorescence des bactéries isolée.....	40
I.3 Recherche de la catalase	41
I.2.4 Recherche de l'oxydase	42
I.2.5 Test de Levane.....	42
I.2.6 Coloration de Gram	43
I.3 Discussion.....	45
<hr/>	
Chapitre II : Résultat d'isolement de l'agent pathogène	
II.1 Symptômes de la maladie au champ et obtention des isolats de FOC.....	44
I.2 Identification de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	46
I.3 Confirmation de l'identité des isolats de FOC et de leur pathogénicité	46
I.3.1 Cinétique d'apparition des symptômes chez les plantes inoculées par la technique d'inoculation artificiel :	46
III.1 Activité antagoniste des rhizobium vis-à-vis de FOC.....	49
III.2 Effet sur la sporulation	52
III.2.1 En confrontation directe	52
III.2.2 En confrontation indirecte	53
Discussion	54
Conclusion	56
Référence	57
Annexe.....	68

Introduction Générale

Le pois chiche (*cicer arietinum L.*) est considéré comme l'une des cultures fondatrices de l'agriculture moderne (Zohary et Hopf ; 2000). Cette plante fait partie de la sous-famille papilionoides de légumineuses qui provient de son ancêtre sauvage *C. reticulatus* dans une région relativement petite du Kurdistan Turk au Crescent fertile il y a environ 8000 à 9000 ans (Lev-Yadun et al ; 2000). *Cicer arietinum L.* est l'une des légumineuses à graines les plus importantes au monde, elle est très riche en protéines nécessaires pour l'alimentation des populations (Shahid et al ; 2008). En outre, la culture du pois chiche contribue à la durabilité de la production et réduit le besoin de fertilisation à l'azote atmosphérique. Ces caractéristiques font de la culture du pois chiche une importance particulière pour la sécurité alimentaire dans les pays en voie de développement (Jiménez Diaz, 2015).

En Algérie, Le pois chiche est la seconde légumineuse alimentaire produite après la fève. Sa culture est concentrée à l'Ouest du pays, particulièrement, dans les régions de Tlemcen et Ain-Timouchent caractérisées par un climat humide à sub-humide (MADR, 2014). Le pois chiche présente une sensibilité à la concurrence des mauvaises herbes, à la sécheresse, à l'écart élevé des températures ainsi qu'aux maladies d'origine fongique.

Le flétrissement vasculaire causé par *Fusarium oxysporum sp. ciseris* est l'un des principaux facteurs limitant le rendement du pois chiche ; la maladie provoque des pertes de rendement de 10 à 90 % (Sharma et Muehlbauer, 2007). Elle est initialement rapportée en Inde et par la suite dans de nombreux pays dont l'Algérie où elle est dévastatrice (Haware, 1990; Labdi, 1990 ; Jalali et Chand, 1992).

La lutte contre cette maladie par le moyen des fongicides présente des retombées néfaste sur le consommateur et l'environnement. La lutte génétique utilisant des cultivars résistants est un moyen sûr de contrer les dégâts du parasite quand les variétés résistances existent; toutefois cette méthode est limitée par la grande variabilité pathogénique du pathogène. Des exemples de réussite de la lutte biologique contre les pathogènes des plantes sont nombreux, ce qui est encourageant pour la recherche de microorganismes contre certaines maladies difficiles à combattre tels que les maladies telluriques (Hanson

Introduction Générale

et Howell, 2002). En effet, la possibilité de rendre un sol suppressif à une maladie en y introduisant des microorganismes s'avère très prometteuse, surtout à une époque où les traitements phytosanitaires à base de produits chimiques de synthèse suscitent une méfiance de plus en plus grande (Lugtenberget *al.*, 1991).

Dans ce cadre, l'objectif de notre étude consiste à tester l'effet antagoniste de rhizobactéries isolées d'un sol de pomme de terre vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*.

Chapitre I : Généralité sur pois chiche

I.1 Origine

Le pois chiche est probablement originaire du Moyen-Orient, plus précisément du Sud-Est de la Turquie et de la Syrie (Saxena, 1984 ; Singh, 1997). Des restes carbonisés découverts au Proche-Orient indiquent que cette espèce était cultivée au VII^{ème} millénaire avant notre ère avec les céréales, le petit pois et la lentille (Vanier, 2005 ; Redden et Berger, 2007). L'expansion de cette culture a été rapide dans les régions méditerranéennes (Ladizinsky, 1987). Labdi (1995) mentionne que Davis (1969) et Ladizinsky (1976) ont découvert deux espèces sauvages au Sud-Est de la Turquie et ils les ont dénommées respectivement *Cicerechinosperrnum* Davis et *Cicerreticulatum* Ladiz. Ces deux espèces ne diffèrent pas beaucoup de l'espèce cultivée *Cicer arietinum* L. Ladizinsky (1989) a indiqué que *Cicer reticulatum* Ladiz. a 2n chromosomes (2n = 16) qu'il a identifié par des analyses protéiques et enzymatiques comme étant l'ancêtre spontané du pois chiche. En Algérie, le pois-chiche a été cultivé avant la colonisation, sauf qu'il a été difficile de le maîtriser (Laumont et Chevassus, 1956 ; Labdi, 1990).

I.2 Systématique et taxonomie

Le genre *Cicer* comprend un grand nombre d'espèces. Van Der-Maessen (1979) les a réparties en trois groupes : Espèces annuelles sauvages, espèces pérennes sauvages et une espèce annuelle cultivée (*Cicer arietinum* L.). Le pois chiche *Cicer arietinum* L. descendrait de l'espèce sauvage *Cicer reticulatum* découverte par Ladizinsky au Sud-Est de la Turquie en 1975 (Ladizinsky et Alder, 1976). Cette hypothèse est supportée par des études cytogénétiques (Ahmad et al., 1988), enzymatiques (Ahmad et al., 1992) et les résultats des croisements interspécifiques (Singh et Ocampo, 1993).

Selon Guignard (1980), le pois chiche, *Cicer arietinum* L. appartient à la tribu des Vicias de la sous famille des *Papilionacées* qui représente la plus grande partie de la famille des *Fabacées*.

I.3 Caractéristiques de pois chiche

I.3.1 Caractéristiques morphologiques

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une espèce herbacée, annuelle, diploïde (2n = 16 chromosomes), autogame, présentant moins de 1% d'hybridation naturelle (Singh et Reddy, 1991).

Le système racinaire mixte, dont la croissance s'arrête au démarrage de la floraison, permet à la plante d'explorer un grand volume de sol et lui confère une tolérance à la sécheresse (Slama, 1998). Il est composé d'une racine principale pivotante qui peut atteindre 1m de profondeur (Allali et al., 2007 ; Jaiswal et Singh, 2001) et des racines secondaires traçantes. (Jaiswal et Singh, 2001). Dans les zones humides, les sols salins, lourds, stagnants et à réchauffement lent au printemps, les racines ont un développement limité et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique est réduite (Jaiswal et Singh, 2001).

Les nodules, développés sur les racines, permettent la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique pour satisfaire 80% des besoins de la plante en azote assimilable (Bouzerzour, 1998). Cette fixation symbiotique est à son optimum à la floraison et chute très rapidement par la suite (Slama, 1998).

Les feuilles ont la forme imparipennée et sont composées de 7 à 15 folioles ovales et dentelées, sans vrilles, en position alternée sur un rachis (Saxena, 1984). Les faces inférieures des feuilles sont couvertes par un duvet formé de poils unis ou pluricellulaires, Ces poils renferment des glandes qui synthétisent des acides organiques tels que l'acide oxalique (Slama, 1998).

La tige, herbacée, se ramifie en deux ou trois branches pour donner des ramifications secondaires et par la suite des ramifications tertiaires (Braune et al., 1988).

Les fleurs sont zygomorphes, articulées, solitaires ou en grappe de deux fleurs. Elles s'insèrent sur des pédoncules axillaires à l'aisselle des feuilles. L'apparition des premières fleurs dépend de plusieurs facteurs tels que la précocité de la variété, la date et la densité du semis et des techniques culturales. Toutefois, comme le pois chiche est une espèce à croissance indéterminée, sous des conditions hydriques favorables et des températures clémentes, les branches continuent à se développer, à fleurir et à produire des gousses et des grains (Leport, 2006). Les premières fleurs, dites pseudo-fleurs ou fausses fleurs, sont imparfaites et ne donnent pas de gousses (Roberts et al., 1980).

Le fruit est une gousse de forme globuleuse, renflée, ovale, velue, pendante et portant un bec (Ladizinsky, 1987). Elle peut comporter 1 à 3 grains qui peuvent être lisses ou ridés, arrondis ou irréguliers.

La germination est hypogée (Sassene, 1989) ; la partie aérienne sécrète une solution composée de 94.2% d'acide malique, 5.6% d'acide oxalique et 0.2% d'acide acétique (Van Der-Maesen, 1972). La longueur du cycle du pois chiche dépend de la chaleur et de l'humidité disponible dans le sol. La récolte peut avoir lieu si l'humidité des grains est de l'ordre de 18% (Jaiswal et Singh, 2001).

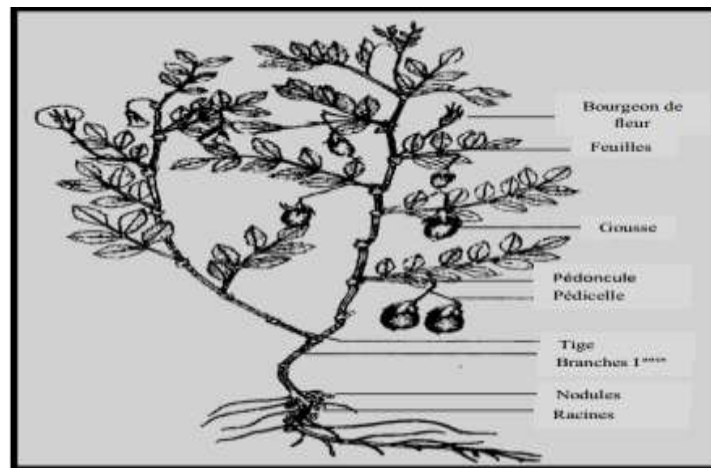


Figure1 : Description de la plante du pois chiche *Cicer arietinum* L. (Singh et Diwakar, 1995)

I.3.2 Caractéristiques agronomiques

Le pois chiche est capable de fixer l'azote atmosphérique grâce à une relation symbiotique avec une bactérie appelée *Rhizobium ciceris*. Il participe ainsi à fertiliser les sols pauvres, particulièrement dans les zones arides et les terres marginales en Afrique et en Asie (Saxena, 1990). Le pois chiche ne nécessite pas un grand taux de phosphate, il permet en conséquence de réduire l'utilisation des engrais chimiques onéreux et néfastes pour l'environnement (David et Khan, 2001). La culture du pois chiche est pratiquée en rotation avec le maïs ou le blé surtout dans les zones arides et semi-arides et les terres sablonneuses non irriguées (Winch, 2006).

I.4 Types de pois chiche

Durant sa dispersion à partir de la Turquie, le pois chiche a divergé dans deux directions pour donner deux races : l'une à l'Ouest, constituant le groupe de macrosperma ou type Kabuli, l'autre au Sud-Est, produisant le groupe de microsperma ou type Desi (Harlan et Wet, 1971 ; Moreno et Cubro, 1978).

I.4.1 Type Kabuli

Il est appelé aussi Garbanzoet est caractérisé par un feuillage dont la couleur varie du vert clair au vert foncé et une floraison blanchâtre. Il a un port érigé ou semi-érigé qui permet la mécanisation de la récolte. Généralement, la hauteur de la plante varie de 30 à 90 cm. En cas d'un sol fertile et profond et d'une alimentation hydrique suffisante, elle peut dépasser 1m.

Les grains sont de couleur crème, couverts d'un tégument mince. Le type Kabuli se subdivise en deux sous-groupes ; le gros Kabuli dont les grains ont un diamètre de 8 à 9 mm et un poids de mille grains variant de 410 à 490 g et le petit Kabuli dont les grains sont caractérisés par une forme plus régulière, un diamètre de l'ordre de 7 mm et un poids de mille grains de 265 g environ (AAC, 2004).



Figure 2 : Grain de pois chiche de type Kabuli⁽¹⁾

I.4.2 Type Desi

Il est caractérisé par la couleur du feuillage qui tend du vert violacé au glauque et une floraison violacée. Il a un port retombant et un aspect touffu. Les grains sont de plus petite taille, de forme irrégulière et à surface ridée couverte d'un tégument épais de couleur foncée qui varie du marron au noir. Le poids de 1000 grains varie de 100 à 130 g (AAC, 2004).

Il existe un troisième type intermédiaire appelé Gulabi, il a été identifié par ses grains lisses de couleur claire, ressemblent à celle du pois avec un bec (Wery, 1986).



Figure 3 : différents grains de pois chiche de type Desi⁽²⁾

:

I.5 Valeur nutritionnelle

Les différences dans la composition et la quantité de protéines trouvés dans les pois chiche et autres légumineuses peuvent être due à la variété, aux conditions environnementales, à la localisation géographique, à la saison de croissance des plantes et à la méthode d'analyse utilisée par les auteurs (Alajaji et El-Adawy, 2006 ; Zia-Ul-Haq et *al.*, 2007)(tab 1).

Tableau 1 : composition chimique du pois chiche Kabuli et Desi

composition	variete de pois chiche	
	Kabuli	Desi
matiereseche	92.08 g/100g	91.17 g/100g
proteine brute	24.63 g/100g	22.76 g/100g
fibre brute	6.49 g/100g	9.94 g/100g
tannin total	0.09 g/100g	0.12 g/100g
composephenolic total	0.27 g/100g	0.26 g/100g
Nonfibreuse carbohydrate	49.13 g/100g	46.41 g/100g
amidon	39.12 g/100g	38.48 g/100g
sucre soluble	8.43 g/100g	7.53 g/100g

Source : Maheri-Sis et *al.* (2008)

I.6 Exigence de pois chiche

I.6.1 Exigences édaphiques

✚ 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 le 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 est comme les autres légumineuses fixe l'azote atmosphérique (Allali et al., 2007).

I.6.2 Exigences climatiques

✚ Température

Le pois chiche souffre dans les environnements chauds (35°C-18°C jour/nuit) (Lopez-Bellido et al., 2004). Selon Nielson, (2001), des températures de plus 32°C limitent le rendement en grains du pois chiche en accélérant sa maturité. De même, les températures élevées de la floraison à la maturité des variétés à semi retardées conduit à la réduction de la taille des graines et du rendement (Lopez-Bellido et al., 2004).

Besoin hydrique

Grace à son système racinaire profond, le pois chiche est doté d'une certaine rusticité et d'une tolérance à la sécheresse (Verghis et al., 1999), il peut extraire l'eau à partir des couches profondes allant jusqu'à 1.50 m (Keating et Cooper, 1983).

Lumière

Le pois chiche est une plante de jour long, mais fleurit dans toutes les photopériodes (Smith-son et al., 1985). L'intensité de la lumière et de la durée d'éclairement sont des facteurs importants pour la nodulation, la fixation d'azote et la floraison (Beddar, 1990).

I.7 Conduite de la culture

I.7.1 Choix de la parcelle

Choisir de préférence des parcelles propres avec un sol sain et non asphyxiant. Choisir des parcelles où la présence de mauvaises herbes (liserons, morelles, chénopodes) est limitée.

En effet ces espèces sont très difficiles à contrôler en culture et elles peuvent tacher les grains au moment de la récolte.

La présence de graminées vivaces (chiendent) n'est pas un facteur limitant, mais la lutte chimique doit se faire avant la végétation.

I.7.2 Préparation du sol

La culture de pois chiche est très sensible à une mauvaise préparation du sol, ce qui engendre des problèmes d'asphyxie racinaire et par conséquent des pertes à la levée. La préparation du sol pour l'installation du pois chiche vise essentiellement l'obtention d'un lit de semences qui permet un bon contact entre la graine et le sol, ainsi que l'absence d'obstacles mécaniques qui sont la première cause de manque à la levée. Le choix du matériel doit être raisonné en fonction du type de sol et de l'importance de son humidité (ITGC, 2013).

I.7.3 Semis

Sous nos latitudes les dates de semis optimum se situent du 15 février au 15 mars.

Avant la mi-février les levées sont très irrégulières et échelonnées. Au-delà de la fin mars, les réserves en eau du sol sont déjà entamées et le rendement grainier est bien plus faible.

Les semences doivent être disposées à une profondeur régulière d'environ 4 à 6 cm et à la densité de 200 kg par ha soit 50-60 graines / m². L'écartement entre les rangs peut être variable : au semoir à céréales de 15 à 35 cm, au semoir mono graine ne pas dépasser 40 cm.

I.7.4 Fumure

En sol normalement pourvu, 60 à 80 unités de phosphore et 80 à 100 unités de potasse suffisent pour couvrir les besoins de la culture.

Le pois chiche étant une légumineuse, il n'a pas besoin de fumure azotée.

I.7.5 Désherbage

Pour le semis de printemps, deux binages sont recommandés, le premier, dès que la plante a 8 à 10 cm d'hauteur, le deuxième avant la floraison. Pour le semis d'hiver, le désherbage chimique en pré-semis ou en prélevée est nécessaire parce que la flore adventice est plus importante. Cependant, un désherbage manuel est indispensable pour éliminer la flore printanière (ITGC, 2013).

I.7.6 Irrigation

Au cours du développement végétatif et jusqu'à la floraison, le pois chiche sait tirer parti des réserves en eau du sol.

En situation de stress, deux apports de 40 à 50mm d'eau au début de la floraison puis à la formation des gousses permettent d'assurer une récolte de qualité (calibre plus gros).

I.7.7 Récolte

La culture de pois chiche atteint la maturité, lorsque les tiges et les gousses sont de couleur brune et que le grain est dur. A ce stade, l'humidité du grain atteint 13%, la vitesse de déplacement de la moissonneuse-batteuse doit être lente, afin de réduire les pertes de grains. Lorsque la récolte est manuelle, il est recommandé de récolter avant la maturité totale (20 à 25% d'humidité), de laisser sécher pendant 4 à 5 jours, puis faire le battage ou de passages répétés d'un tracteur sur l'aire de battage (ITGC, 2013).

Avec TDM : le taux de la matière sèche totale dans les feuilles, les tiges et les graines. Les racines sont rarement mesurées. IR : l'indice de récolte (Clavel et al.,2005).

I.8 Importance de la culture du pois chiche

I.8.1 Importance nutritionnelle

Le pois chiche constitue une source très importante de protéines végétales qui peuvent corriger le déficit en protéines animales chez l'homme (Ben Mbarek et al., 2009 ; Rekha et Thiruvengadam, 2009 ; Chérif et al., 2007 ; Hassan, 2006). Il fait partie du nombre très réduit d'aliments qui apportent à la fois des protéines et un grand nombre de sels minéraux (calcium, fer, potassium et phosphore) jouant un rôle important dans l'alimentation. Les pois chiches sont riches en protéines de bonne qualité, comme la lysine, l'arginine et acides aminés di carboxyliques, utilisée en pharmacologie (Cortés-Giraldo et al, 2016) (Tableau 2). Il a été aussi indiqué que la consommation de pois chiches donne une réponse glycémique plus faible chez les personnes qui souffrent de diabète (Zul et Macarulla, 1999, Nestel et al, 2004).

Tableau 2 : Valeur nutritive du pois chiche (Singh et Jauhar, 2005).

Eléments	Valeur nutritive mg/100g
Protéine digestible (mg)	23000
Carbohydate (mg)	64000
Amidon (mg)	47000
Lipide (Ac. Linoléique et oléique) (mg)	5000
Fibre bruts (mg)	6000
Sucre soluble (mg)	6000
Cendre (mg)	3000
Phosphore (mg)	343
Calcium (mg)	186
Magnésium (mg)	141
Fer (mg)	7
Zinc (mg)	3

I.8.2 Importance agronomique

Le pois chiche peut fixer, par voie symbiotique, plus de 140 kg/ha d'azote atmosphérique et satisfaire plus de 80% de ses besoins en azote (Gaur et al., 2008) ce qui le rend comme culture préférable dans l'agriculture durable (Babar et al 2009 ; Hassan, 2006).

I.8.3 Importance économique

Les légumineuses alimentaires constituent un composant important du régime alimentaire, spécialement dans les pays sous-développés où elles représentent environ 90% de la consommation globale (Hassan, 2006).

La consommation moyenne annuelle des algériens en pois chiche est estimée à 7 kg par personne soit un besoin de 250 000 tonnes par ans, alors que la production ne dépasse pas les 50 000 tonnes induisant un déficit de 200 000 tonnes (Benabdeli et al., 2010).

Le pois chiche en Algérie, vient en seconde place après le haricot avec une superficie de 14.6 % et occupe la troisième place en production environ 15.6 %. Cependant, les productions n'ont pas évalué au contraire ils sont régressés pour atteindre les niveaux les plus faibles dans le monde (Mahrez et al., 2010).

L'Inde représentait entre 60 à 70 % de la production mondiale. Les pays du sous-continent indien, ainsi que l'Australie, produisent surtout du pois « Desi », alors que le Canada produit à la fois du « Desi » et du « Kabuli ».

Les autres pays produisent surtout du « Kabuli ». En moyenne, la production mondiale est constituée de 75 % de « Desi » et 25 % de « Kabuli ». La production de « Kabuli » est plus dispersée (Anonyme 1, 2006).

I.9 Situation de la culture de pois chiche

I.9.1 Dans le monde

Le pois chiche est cultivé dans 49 pays (Chakraborti et al., 2006) et dans les cinq continents ce qui le rend le 2ème légume sec dans le monde (17.1% du total) après le petit pois (*Pisumsativum L.*) (Berger et al 2003). Il se cultive dans les régions semi-aride et tropicales (Staginnus et al., 1999).

Tableau 3 : Principaux pays producteurs du pois chiche durant l'année 2014. Source : FAOSTAT (2017)

Classement des pays	Production de pois chiche (tonnes)
Inde	9880000
Australie	629400
Myanmar	562163
Ethiopie	458682
Turquie	450000
Pakistan	399030
Iran	261616
Mexique	171665
USA	127363
Canada	123000

L'Asie est le continent le plus important de la production du pois chiche avec plus 90% de la surface totale et de la production mondiale (Babar et al., 2009). L'Inde représente le plus grand pays producteur avec une production estimée à 6 millions de tonnes par an et recouvre plus de la moitié de la production mondiale (Muehlbauer et Rajesh, 2008).

I.9.2 En Algérie

Le pois chiche occupe la deuxième position après la fève durant la période 2014-2016 (FAOSTAT 2017). En Algérie, les zones favorables à la culture du pois chiche se situent essentiellement à l'Ouest au niveau des plaines de Maghnia, Ain Témouchent, Sidi Bel Abbès, la plaine de Ghris, et le bas Chélif, ainsi qu'au niveau des Hauts Plateaux de Saida et de Tiaret. A l'Est, au niveau des Hauts Plateaux de Bordj Bou Arreridj, d'Oum El Bouaghi (Plateaux de Ain M'Lila, Ain Fekroun, Oum El Bouaghi et Ain El Beida), ainsi que le Nord de Tébessa. Le pois chiche de printemps est cultivé dans le Nord-Ouest, le Centre et le Nord-Est du pays, alors que le pois chiche d'hiver est cultivé dans les Hauts Plateaux de l'Est, Centre et Ouest (ITGC., 2018).

I.10 Maladies du pois chiche

Le pois chiche est une culture vivrière importante. Elle subit plusieurs maladies graves qui l'attaquent à tous les stades de son développement. Cette culture est limitée par l'action de plusieurs facteurs de stress dont les plus importants restent les maladies causées par une large gamme d'organismes phytopathogènes comprenant des champignons, des bactéries, des virus, des phytoplasmes et des nématodes (Tableau 3).

Tableau 4 : principales maladies fongiques de pois chiche

Maladies	Agent causal	Symptômes
Flétrissement vasculaire	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emend Snyder: Fr. f. sp. <i>ciceris</i> (Padwick) Matuo & K. Sato Maitlo et al. (2016).	Racines : décoloration de tissus vasculaires. - Plantes : jaunissement foliaire progressif avec décoloration vasculaire, suivi par la mort de la plante après 40 jours (pathotype de jaunissement). Chlorose sévère et flaccidité, décoloration vasculaire et la mort de la plante dans 20 jours après inoculation (pathotype de flétrissement).
Verticilliose	<i>Phoma medicaginis</i> Malbr. & Roum Nene et al. (2012)	-les symptômes de cette maladie apparaissent sous forme d'un jaunissement finissant par un flétrissement totale de la plante. Les tissus de xylème prennent une coloration marron clair.
Anthracnose	<i>Ascochyta rabiei</i> (Pass.) Labr.	-Toutes les parties aériennes de la plante peuvent être attaquées, sur les tiges et les pétioles, des taches brunes, ovoïdes ou allongées sur les folioles, les macules d'abord brunâtres puis grisâtres, sont arrondies ou oblongues et bordées d'une marge plus foncée. Les folioles atteintes jaunissent par la suite et tombent sur le sol, sur les gousses, les taches pressentent

		une légère dépression avec également une bordure rougeâtre.
Pourriture molle des racines	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn Nene et al. (2012).	- Plantes : jaunissement et flétrissement à tout stade phénologique de la plante. - -- - Racines : pourriture avec décoloration brun sombre qui étend au-dessus du niveau de la terre, les tissus de la racine sont mous et humides.

Pourriture sèche des racines	<i>Rhizoctonia bataticola</i> Taub. (Butler)	La maladie qui se généralement austade floraison, s'accompagne d'un dessèchement et de l'écorce des racines (Nene et al. 1991).
Pourriture des racines et des graines	<i>Pythium ultimum</i> Trow	-plantes: flétrissement progressif. -Racine: nécrotique et décolorées (Nene et al. 1991).
Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. Ex Fr.	-La maladie est très importante pour la culture, les symptômes sont caractérisés par des taches grises et marrons au niveau de la partie aérienne de la plante (Nene et al. 1991) (Pande et al. 2001)
Pourriture racinaire	<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	-Les plantes infectées manifestent un flétrissement partiel ou total accompagné de lésions radiculaire et d'un jaunissement foliaire sans coloration vasculaire, d'une réduction de la croissance suivie de la mort de la plante (Nene et al. 1991)

Flétrissement vasculaire du pois chiche

Chapitre II : Agent pathogène : *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)

II.1 Historique et taxonomie

Fusarium oxysporum a été décrit pour la première fois par Matuao et Ishigami en (1958) à partir d'une plante souffrant de flétrissement vasculaire *Solanum melongena* (*solanaceae*). Tel que cité par plusieurs auteurs, l'agent causal responsable de flétrissement du pois chiche est *Fusarium oxysporum* f.sp *ciceris* (Nene et al, 1978).

Les premières recherches sur cette maladie ont débuté en Inde et Myanmar dans les années 1920 puis en Mexique, des confusions dans l'identification du flétrissement du pois chiche ont été très réponde, jusqu'à que (Nene et al, 1981) ont clarifié l'identification de FOC (Singh, 1987).

II.2 Classification

Seule la reproduction asexuée est connue pour la *Fusarium oxysporum* se qui la place dans le groupe Deutéromycètes. En fait, *Fusarium oxysporum* est un *Deutéromycète* tellurique appartenant à la sous classe des *Hyphomycètes* et à la famille des *Tuberculariacea* il fait partie de la section *Elegans* (Nelson et al ; 1983).

II.3 Dégât de flétrissement vasculaire

Le flétrissement vasculaire, causé par le *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. f.sp. *ciceris* (Padwick) matuo et Sato, cause des pertes annuelles de rendement estimées entre 10 à 90% (Navas-Cortés et al, 1998) et peut aller jusqu'à 100% de perte quand les conditions sont favorables (Sharma et Muehlbauer, 2007). Les pertes annuelles du pois chiche dû au flétrissement vasculaire ont été estimées à 10% (Singh et Dahiya 1973), 50% au Pakistan (Ikramul et Farhat, 1992) et en Espagne (Trapero-Casas et Jiménez-Dias, 1985) et à 40% en Tunisie (Bousslama, 1980). La maladie peut apparaître durant tous les stades de la croissance du pois chiche (Navas-Cortés et al, 1998).

II.4 Épidémiologie

II.4.1 L'inoculum primaire

Le *Fusarium oxysporum* est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique où il croît sur des débris de plantes ou survit en forme de chlamydospores, il est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables (Haware et al., 1978). Le pathogène peut être transmis par les graines (Richardson ; 1990). La dissémination de ce champignon peut se produire par les résidus de la plante infectés (feuille,

tige, racines), le sol et les graines infectées. Les spores peuvent être disséminés par le vent et la pluies (Booth, 1971).

II.4.2 Mode d'infection

Le champignon peut survivre dans le sol, en absence de son hôte, sous forme de mycélium ou de spores appelées chlamydospores (Agrios ; 2005). L'infection se fait au moyen des chlamydospores (Haware et al., 1986) qui restent dormantes jusqu'à la stimulation de la germination par des substrats organiques ou des exsudats racinaires. Le tube germinatif des spores ou de mycélium pénètre dans les racines de plantes saines cultivés. Dans la plante, les microconidies sont transportées de façon passive par le flux du xylème et peuvent infecter ainsi les parties aériennes. La présence de mycélium et de ces conidies ainsi que les réponses locales de la plante (formation des tyloses, gommages) vont provoquer un blocage du transport d'eau et d'éléments nutritifs dans les vaisseaux suivis de l'apparition des symptômes de flétrissement (Klein et Correll, 2001).

II.4.3 Symptomatologie

L'infection s'accompagne d'une réduction de la chlorophylle et parallèlement d'une augmentation des acides organiques, des polyphénols et des hydrates de carbone. Les symptômes peuvent se manifester à deux stades de développement de la culture (Trapero-Casas et Jimenez-Diaz, 1985). Stade plantule, 3 semaines après le semis (Shah et al ; 1978) et stade tardif de remplissage de gousses. Les jeunes plantes affectées montrent une flaccidité suivie d'une coloration vert-terne, s'aplaties et s'allongent sur terre et perdent leur couleur (Pande et al ; 2007) et d'un dessèchement conduisant à la mort précoce de la plante. Il s'agit d'un flétrissement typique. Les symptômes peuvent se manifester aussi chez les plantes adultes sous forme d'un jaunissement progressif de bas en haut avec une nécrose des folioles. Il s'agit d'un flétrissement tardif appelé aussi jaunissement vasculaire. Dans les deux cas, les racines des plantes affectées gardent une apparence saine et leurs tiges montrent une coloration brune des tissus internes quand elles sont sectionnées verticalement (Zaim ; 2016).

Il existe deux pathotypes de la maladie causée par *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersis* : jaunissement et flétrissement. Le premier produit un jaunissement des feuilles et une décoloration vasculaire et la plante meurt en 40 jours après l'inoculation de pathogène. Alors que dans le second, flétrissement, chlorose sévère, flaccidité et décoloration vasculaire se produisent et la plante meurt en 20 jours après l'inoculation (Jimenez-Gasco et al., 2004).



Figure 4 : symptômes de FOC agent causal de flétrissement vasculaire du pois chiche (Original., 2019)

II.5 Cycle de vie de FOC

Le *Fusarium. oxysporum* est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique. Par ses organes de résistance, les chlamydospores sont capables de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables, en absence de plante hôte. Pouvant même coloniser des zones profondes du sol cultivé (Haware *et al.*, 1982). Le cycle de *F. oxysporum* peut être constitué d'une période unique correspondant à une reproduction asexuée qui se renouvelle et se perpétue sous la forme de conidies (Walker, 1971). *F. oxysporum* produit trois types de spores asexuées : microconidies, macroconidies et chlamydospores (Nelson *et al.*, 1983 ; Agrios, 2005).

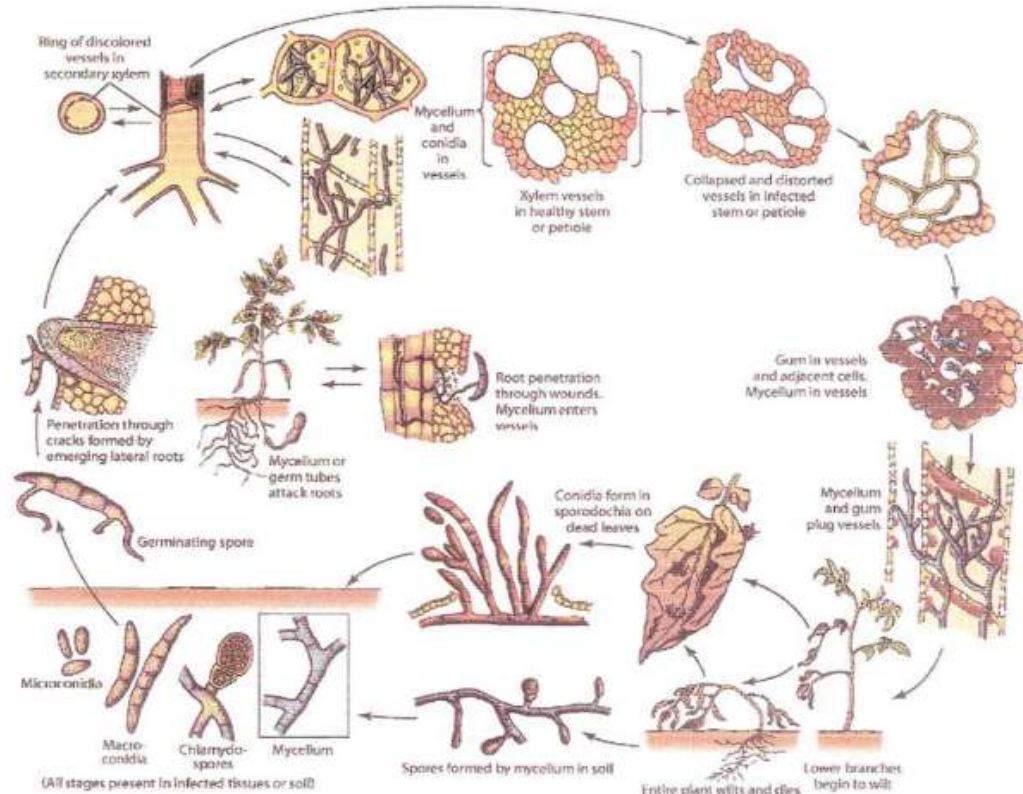


Figure 5 : cycle de vie de *Fusarium oxysporum* f.sp *ciceris* (Agris, 2005) sur pois chiche.

II.6 Moyens de lutte contre le *Fusarium oxysporum*

II.6.1 Méthodes culturales

Les méthodes culturales sont efficaces pour réduire l'inoculum dans le sol. La production de spores infectieuses à partir des déchets végétaux présents dans les champs est la première étape du cycle infectieux de la fusariose, il convient donc de ne pas réutiliser les déchets végétaux en cultures (Chérif *et al.*, 2007 ; Gupta., 1991 ; Haware et Nene., 1982). La pratique de la rotation culturale apporte des effets bénéfiques car elle induit une variation naturelle de la flore favorable à la résistance aux pathogènes (Chérif *et al.*, 2007 ; Gupta, 1991 ; Haware et Nene., 1982). De même pour l'utilisation des semences non infectées ou traitées pour prévenir l'infection du pois chiche durant la saison de croissance (Chérif *et al.*, 2007). L'éradication des champignons par ces techniques ne paraît pas très efficace, car le *Fusarium oxysporum*, même en absence de plante hôte, peut survivre à l'état aphytique dans les débris végétaux et la rhizosphère des plantes non hôtes (Booth., 1971). Le contrôle du flétrissement vasculaire du pois chiche peut être atteint par l'ajustement des dates de semis, ainsi l'avancement de la date de semis de pois chiche du début de printemps vers la fin d'hiver empêche le développement épidémique du flétrissement et minimise la sévérité de la maladie (Chérif *et al.*, 2007 ; Landa *et al.*, 2004)

II.6.2 La lutte biologique

Les avancées actuelles des recherches sur la mise au point de moyens de lutte biologique sont encourageantes. En effet, il existe dans le sol des microorganismes antagonistes naturels des agents pathogènes telluriques. Huit espèces demicroorganismes sont enregistrées par l'agence Américaine de protection de l'environnement pour l'usage commercial contre les phytopathogènes du sol aux Etats-Unis (Cook et al 1996). Ceux-ci incluent deux mycètes (*Gliocladiumvirnes*G-21 et *Trichodermaharzianum*KRL-AG2), trois bactéries à Gram négative (*Agrobacteriumradiobacter*K84, *Pseudomonasfluorescens*EG1053, et *Berholderacepaciatype* Wixonsin) et trois bactéries à Gram positive(*Bacillus subtilis* GB03, *B. subtilis* MBI 600, et *Streptomyces griseoviridis*K61, Kim (1997)rapporte que l'application de l'agent antagoniste *Trichodermaharzianum*avec des fongicides ont pu réduire la fréquence de 63.3% alors que les fongicides seuls ne l'ont réduite que de 29.9% (Kaur, 1992). Le traitement des graines par les espèces non pathogènes de *Fusarium oxysporum* et les formes commerciales de *Trichodermaharzianum* et *Bacillus subtilis* ont permis la réduction notable de l'incidence de la maladie. D'autres bactéries rhizosphériques du pois chiche telle que *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*; *Paenibacillus sp*. Inhibent la croissance du FOC et permettent une diminution de l'incidence de la maladie (Blanca et al., 1997 ; Blanca et al., 2002). D'autre part les travaux sur l'induction de défense chez l'hôte ont révélés l'efficacité des *Rhizobium spp.* et la diminution de l'incidence de la fusariose vasculaire sur le pois chiche (Blanca et al., 1997 ; Blanca et al., 2002).

II.6.3 La lutte phytosanitaire chimique

De nombreux fongicides sont disponibles pour lutter contre les champignons transmis par la semence tel que le FOC. L'enrobage, dans une certaine mesure, peut réduire la contamination des semences, par conséquent la graine bénéficie d'une protection lors de la germination ainsi que lors du début de la croissance de la plantule. (Rocher., 2004). Le test de neuf fongicide sur le FOC (Antracol, Benlate, Capton, Cobox, Dikhane M-45, Nitropentachlorobenzene (PCNB), Ridomil, Sancozeb et le Trimiltox, à différentes concentrations, a montré des efficacités variables sur l'inhibition de la croissance mycélienne du parasite (Adam, 2004).

Les bactéries rhizosphériques

Chapitre III : Les bactéries rhizosphériques

III.1 Rhizosphère

La rhizosphère est un environnement créé par des interactions entre les exsudats racinaires et les microorganismes (Bell-Perkins et Lynch, 2002). Le terme "rhizosphère" tire son origine du grec "rhizo" ou "rhiza" signifiant "racine" et "sphère", le champ d'action ou d'influence. Hiltner en 1904 a décrit la rhizosphère comme le lieu d'activités microbiennes autour des racines des légumineuses. Par la suite, cette définition a été étendue à toutes les plantes. Cette zone d'interaction s'étend de quelques micromètres à plus de 2 millimètres en dehors de la surface racinaire (Kennedy et de Luna, 2004). De même, la densité des bactéries est plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol distant des racines, il s'agit de « l'effet rhizosphère » (Lemanceau, 1992 ; Whipps, 2001 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009). La microflore rhizosphérique

La composition de la microflore rhizosphérique est contrôlée par le génome de la plante. La démonstration a été apportée par les travaux de Neal en 1973 sur les blés de printemps. Dans la rhizosphère, la quantité de microorganismes est au moins 1000 fois plus importante que dans le sol ambiant non influencé par les racines, les bactéries sont les organismes les plus variés et les plus nombreux, leur densité est de l'ordre de 10^9 par gramme de sol (Davet, 1996). La densité des champignons est estimée à 10^6 par gramme de sol. Les protozoaires et les algues sont les moins nombreux, leur densité est de l'ordre de 10^3 par gramme de sol.

III.2 Protection contre divers phytopathogènes

III.2.1 Compétition pour l'espace et les nutriments

Dans certains cas, une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques, ce qui réduit la croissance des microorganismes pathogènes (Piano et al., 1997).

Dans certains cas, les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer les pathogènes fongiques par une compétition pour le carbone et les sources d'énergie (Kamilova et al., 2005). Le PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique sur les plantes et pour être capable d'instaurer une compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et Defago, 2005). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (présence d'un flagelle), Le chimiotactisme, les lipopolysaccharides (LPS), la capacité de synthétiser des vitamines et des macromolécules et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines (Lugtenberg et Kamilova, 2009).

III.2.2 Antibiose

L'antibiose consiste en une inhibition directe de la croissance du pathogène via la production de métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques. Les souches de *Pseudomonas* produisent une variété de métabolites antifongiques puissants pouvant être impliqués dans le biocontrôle, par exemple l'acide cyanhydrique (HCN), qui est un métabolite secondaire dont la glycine est le précurseur. Les plantes hôtes ne sont généralement pas affectées par le cyanure bactérien (Zeller et al., 2007). La production de HCN est une activité très commune chez *Pseudomonas* (88,89%) et *Bacillus* (50%) dans les sols rhizosphériques (Charest et al., 2005 ; Ahmad et al., 2008). Certaines rhizobactéries synthétisent la viscosamide, la pyolutéorine, le 2,4- diacetylphloroglucinol (DAPG), la pyrrolnitrine, les phénazines, les butyrolactones, les tensines et les tropolones (Defago, 1993 ; Haas et Defago 2005). D'autres souches de PGPR ont la capacité à dégrader les parois cellulaires fongiques à travers la production d'enzymes hydrolytiques tels β -1,3-gluconase, exo- et endo-polygalacturonases, pectinolyases, cellulases et chitinases (Whippes, 2001).

III.3 Les *Pseudomonas* rhizosphériques

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires rencontrées dans différentes niches écologiques comme les sols, les racines des végétaux, sur les plantes en pot, ainsi que dans les eaux douces et marines. Cette distribution écologique est due probablement à leurs remarquable degré de diversité et d'adaptation génétique. 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 (Bossis et al., 2000).

III.3.1 Caractéristiques du genre *Pseudomonas*

Le genre *Pseudomonas* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à la sous-classe γ des protéobactéries et comprend plus d'une centaine d'espèces ubiquitaires (Bossis et al., 2000 ; Palleroni et Moore, 2004). Cependant, depuis la découverte du genre *Pseudomonas* (Migula, 1894), beaucoup de noms d'espèces lui ont été assignés. Le nombre d'espèces a subi de nombreuses variations principalement dues à la description de nouvelles espèces et à divers changements de la définition du genre

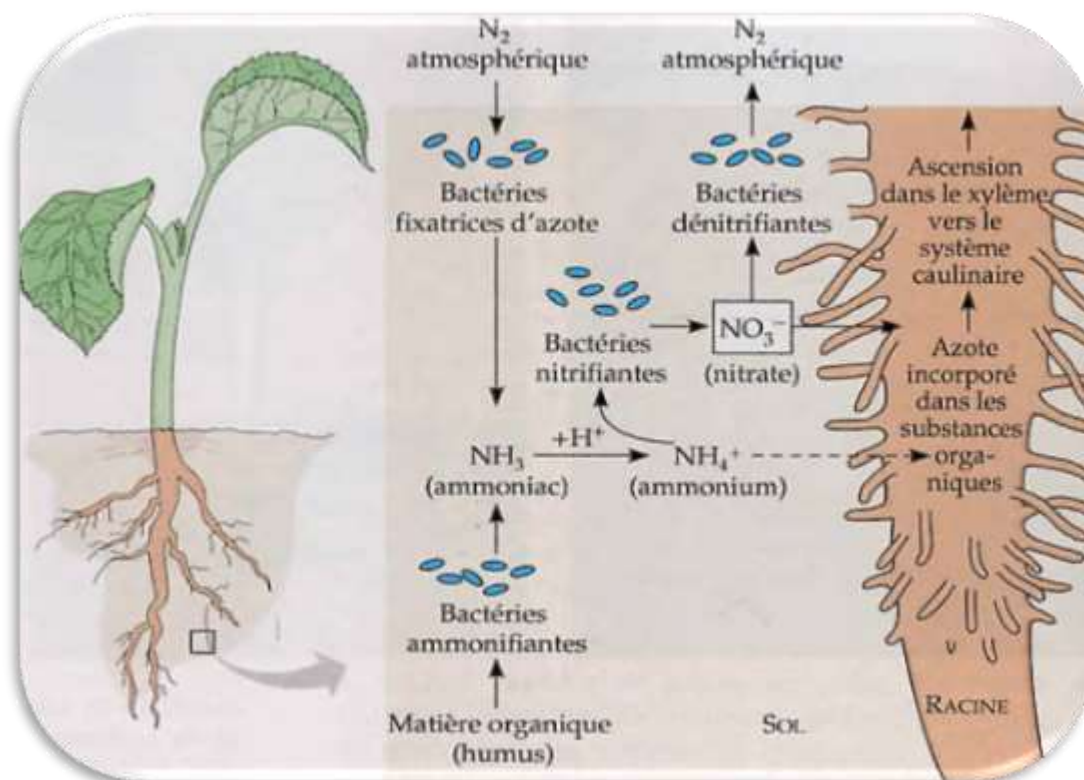


Figure 06 :Schéma général de la rhizosphère (anonyme 1, 2003).

III.3.2 Caractéristiques métaboliques

Les *Pseudomonas* ont la capacité de dégrader des composés complexes, tel que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon, la cellulose (Palleroni, 1984), certaines seulement comme *P. pseudoalcaligenes* peuvent dégrader le poly β-hydroxybutyrate (Palleroni, 1993). L'aptitude de certains isolats à dégrader des substances xénobiotiques a également retenu l'attention de différents chercheurs (Latour et Lemanceau, 1997 ; Bossis et al., 2000). De nombreux isolats de *P. fluorescens* et *P. putida* ont été cités en exemple comme souches capables de dégrader des molécules aromatiques plus ou moins complexes.

Le catabolisme des xénobiotiques par les *Pseudomonas* spp. fluorescentes se caractérise en effet par la variété et la plurifonctionnalité des enzymes dégradatives. Il présente de multiples voies périphériques permettant les premières attaques d'une gamme importante de composés (Golovleva et al., 1992).

Les espèces du genre *Pseudomonas* produisent une couche d'exopolysaccharide entourant leurs cellules, la protégeant de la phagocytose par les macrophages chez les mammifères. Cette couche d'exo-polysaccharides (E.P.S) leur permet de former des bio films, grâce auxquels elles peuvent rester collées aux surfaces, de telle manière qu'il est difficile de

les déloger (Visca et al., 2007). Les températures cardinales aux quelles les espèces se multiplient varient de 4° à 42°C, cette dernière est caractéristique de l'espèce *P. aeruginosa*, alors que la température optimale pour la croissance des espèces saprophytes est située entre 28°C et 30°C. Toutes les espèces de ce genre ne peuvent croître à pH inférieur à 4.5. ni métaboliser le lactose sur Mc Conkey, l'examen au rouge de méthyle et celui de Voges-Proskauer sont négatifs (Palleroni, 1984).

III.3.3 Classification de genre *Pseudomonas*

Par définition, les bactéries du genre *Pseudomonas* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulés, généralement mobiles grâce à une ou plusieurs flagelles polaires, aérobies à métabolisme strictement respiratoire et chimio-organotrophes. Mais cette définition ne permet pas de les différencier des autres bactéries à Gram négatifs, et doit être complétée par d'autres caractéristiques phénotypiques (Palleroni, 2008).

III.3.4 Distribution écologique et rôle du genre *Pseudomonas*

III.3.4.1 Distribution écologique

Les espèces de *Pseudomonas* montrent que c'est l'un des genres bactériens les plus ubiquistes dans le monde, et différentes espèces ont été isolées de niches écologiques diverse. En effet, il existe des bactéries associées aux racines, et ont été isolés de différentes plantes comme par exemple *P. brassicacearum* et *P. thivervalensis* isolés respectivement de plants d'ail et de riz (Achouak et al., 2000).

Quelques espèces ont été isolées d'écosystèmes marins comme c'est le cas de *P. marincola* (Romanenko et al., 2008). Et d'autres pathogènes de poissons (Nishimori et al., 2000) ; *P. salomonii* et *P. palleroniana* sont des espèces phytopathogènes (Gardan et al., 2002).

Certaines ont été isolées de la phyllosphère des plantes, c'est le cas de *P. lurida* de la phyllosphère de l'herbe (Behrendt et al., 2007).

III.4 Les *Pseudomonas* spp. Fluorescente agents de biocontrôle et de croissance des plantes

Les *Pseudomonas* spp. *Fluorescents* saprophyte sont les habitants type des sols agricoles et la rhizosphère des plantes, et sont impliqués dans de nombreuses interactions avec les plantes (Schroth et al., 1992). Ces bactéries sont considérées comme des composés biologiques du sol agricole et sont responsable de la suppression des maladies fongiques dans

les cultures (MEZAACHE ; 2012). Ces *Pseudomonas* diminuent la sévérité de la maladie et stimulent la croissance des plantes comme le riz (Sakthivel et Gnanamanickam, 1987), le blé (Weller et Cook 1983), la pomme de terre (Kloepper et al., 1980b).

Différentes espèces de *Pseudomonas spp.* fluorescentes ont été rapportées à la fois comme PGPR (plant growth promoting rhizobacteria), et comme souches de biocontrôle des champignons phytopathogènes (Salmone et al., 2001). *P. putida* (Scher et Baker, 1980), *P. aeruginosa* (Bano et Musarrat, 2003), *P. chlororaphis* (Chin-A-Woeng et al., 1998) et *P. cepacia* (Cattelan et al., 1999) et des bactéries phytopathogènes (El-Naggar MA ; 2016). Toutefois, les *Pseudomonas spp. Fluorescents* ne sont pas tous des antagonistes (MEZAACHE ; 2012).

Les bactéries appartenant au groupe des *Pseudomonas spp.* fluorescentes sont parmi les plus abondantes dans la rhizosphère. Dans certains cas, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol (Digat et Gardan, 1987). D'où leur application comme agents de contrôle biologique grâce à leurs abondances dans les sols naturels et les racines des plantes (Sands et Rovira, 1971). Ces bactéries sont d'excellents compétiteurs vis-à-vis de la microflore fongique et bactérienne du sol par leur temps de génération in situ relativement court (Garbaye, 1994), leur capacité à utiliser les exsudats de plantes comme nutriments (Lugtenberget al., 2002), et à chélater les ions ferriques (Garbaye, 1994).

Les *Pseudomonas spp.* fluorescentes sont connus pour leurs aptitudes d'adhésion aux particules du sol et au rhizoplan, mais sont aussi mobiles et prototrophes (Weger et al. 1994), produisent des antibiotiques (Garbaye, 1994 ; Natsch et al., 1994), et des enzymes hydrolytiques (Lim et al., 1991 ; Neilsen et al., 1998 ; Nielsen et Sorensen, 1999).

III.5 Stimulation de la croissance des plantes

III.5.1 Solubilisation des phosphates par les *Pseudomonas f.sp. Fluorescents*

Les bactéries solubilisant le phosphate sont communes dans la rhizosphère, cette dernière étant le siège de nombreuses interactions entre les plantes et les divers microorganismes associés. La sécrétion d'acides organiques et de phosphatases facilitent la conversion de formes insolubles de phosphore en formes disponibles pour les plantes (Kim et al., 1998 ; Richardson, 2001). Les espèces de *Pseudomonas spp. fluorescentes* comme *P. chlororaphis*, *P. putida* et *P. aeruginosa* ont été identifiées comme rhizobactéries solubilisant le phosphate (Cattelan et al., 1999 ; Bano et Musarrat, 2003).

Matériel et méthodes

Chapitre I : isolement des bactéries rizosphériques

Objectif du travail :

Ce travail a été réalisé au sein de laboratoire microbiologie et laboratoire de protection des végétaux, à l'Université Abd El Hamid Ben Badis. Dans le but de faire une lutte biologique contre le flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicerisairitinum.L*) causé par l'agent pathogène (*Fusarium oxysporiumf.sp. ciceris*) à l'aide des bactéries du genre *Pseudomonas* isolées de sols cultivés et ainsi évaluer l'effet antagonisme de 15 souches de micro-organismes isolés sur le développement de (*fusarium oxysporumf.sp.ciceris*). Pour cela deux méthodes de confrontation distinctes (directe et indirecte) ont été testées.

I.1 Prélèvement et préparation des échantillons des sols rhizosphériques

Les prélèvements des échantillons de sol sont effectués au niveau d'une parcelle portant une culture de pomme de terre variété Spunta âgée de deux mois février et Mars 2019. Ils sont réalisés à une profondeur de 15 à 25 cm en prenant soin de ne prélever que le sol adhérent aux racines des plantes .

Le sol est prélevé à partir de 10 plantes disposées selon deux diagonales de la parcelle.

Les échantillons sont homogénéisés, placés dans un sac propre et conservés au réfrigérateur à 4°C.



Figure 07 : sols rhizosphérique prélevé de différentes régions de la Wilaya de Mostaganem

I.2 Isolement des rhizobactéries antagonistes

L'isolement des rhizobactéries s'est fait selon la technique de suspension-dilution décrite par Fang (1998).

Le principe consiste à mettre le sol en suspension dans de l'eau distillée stérile, puis à préparer une dilution à 10^2 .

On incorpore 10 g de sol dans un bécher contenant 100 ml d'eau distillé stérile, ce qui consiste à la dilution 10^1 . La suspension est agitée pendant 10 min à l'aide d'un barreau magnétique. On prélève 10 ml de la suspension qu'on rajoute dans un bécher contenant 90 ml de l'eau distillée stérile pour obtenir la dilution 10^{-2} . Il est nécessaire d'utiliser des pipettes graduées stériles pour ne pas contaminer la suspension.

Un échantillon de 100 μ l de dilution de 10^2 de chaque échantillon est ensemencé en boîtes de pétri contenant le milieu King B en surfusion qui est sélectif pour les bactéries *Pseudomonas* (king et Ranney,1954). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

I.2.1 Purification des isolats bactériens

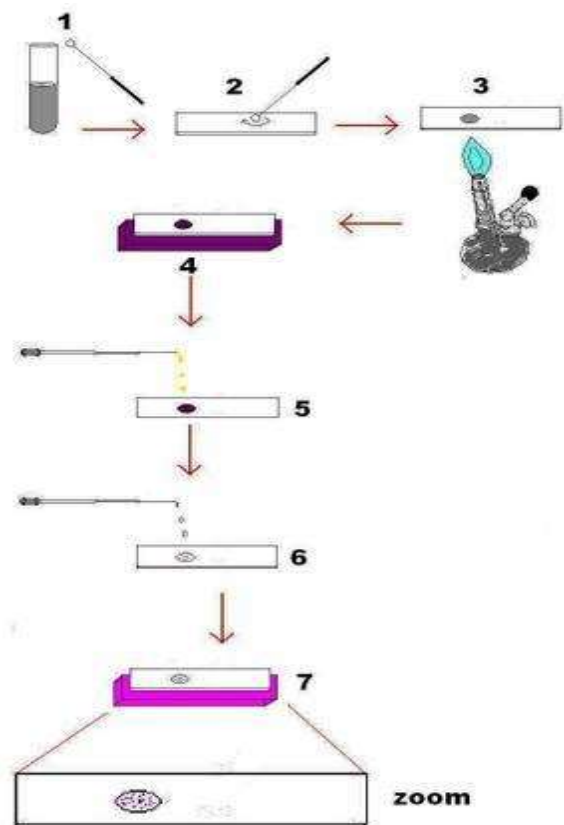
Après 24h d'incubation à 37°C, les colonies apparues sont purifiées par un ensemencement successif sur le même milieu King B jusqu'à obtention d'une colonie pure.

I.3 Identification des rhizobactéries

I.3.1 Coloration de Gram

La coloration de Gram (Danois chridtian 1884) laboratoire de bactériologie 2004) se fait par 7 étapes suivantes:

1. On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne.
2. On dépose ensuite ce prélèvement au milieu de la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.
3. La coloration au violet de Gentiane (colorant basique) : la lame est plongée pendant 2 à 3 minutes (en fonction de la concentration).
4. Mordançage au lugol (solution iodo-iodurée) : étaler le lugol et laisser agir 20 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. Cette étape permet de stabiliser la coloration violette.



5. Décoloration à l'alcool: verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement. Surveiller la décoloration (5 à 10 secondes).
6. Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine: laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée.
7. Observation microscopique : Par le microscope optique et avec l'utilisation de zoom X40 et X100, on peut observer la forme et la taille et la couleur des bactéries.

I.3.2 Test biochimique

I.3.2.1 Test de catalase

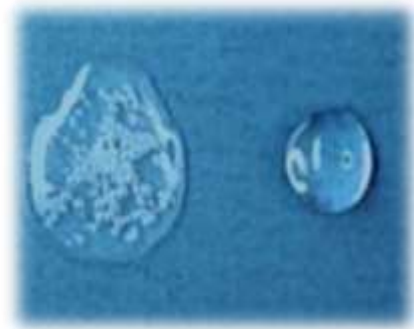
Le test se fait par 3 étapes suivantes:

1. Dans un couvercle d'une boîte de pétri ou sur une lame, déposer une goutte de peroxyde d'hydrogène 3%.
2. À l'aide d'un cure-dent prendre la bactérie à identifier (culture de 18- 24 heures) et la déposer dans la solution de peroxyde d'hydrogène.
3. Attendre environ 2 minutes et lire la réaction obtenue:

-Réaction positive:

Présence de bulles révélant le dégagement d'oxygène.

-Réaction négative : absence de bulle.



I.3.2.2 Test d'Oxydase

Le test d'oxydase (Kovac's 1956 ; Hildebrand et Schroth, 1972) se fait par 4 étapes suivantes

1. Sur un papier filtre stéril stérile, déposer un disque d'oxydase imprégné de diméthyl-paraphénylène diamine.
2. Humidifier le disque avec quelques gouttes d'eau distillée stérile. Un excès d'eau peut nuire à la lecture.
3. À l'aide d'un cure-dent prendre la bactérie à identifier (culture de 18-24 heures) et la déposer sur le disque.



4. Lire la réaction dans les 30 secondes.

Réaction négative: absence de coloration

Réaction positive : présence d'une

Coloration rose pâle à violet.

I.3.2.3 Test Levane

Se fait par 3 étapes :

1. À l'aide d'une anse à inoculer stérile, incuber le milieu de culture levane par stries avec la bactérie à identifier (culture de 18-25 heures).

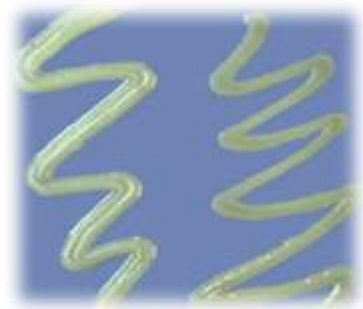
2. Incuber à 26°C pour 48 heures.

3. À la suite de l'incubation, lire la réaction obtenue.

Réaction positive: strie partiellement saillante et luisante (vue du dessus).

Présence d'une zone opaque et luisante en marge de la strie (vue de dessous).

Réaction négative : strie prostrée.



I.3.2.4 Test de fluorescence

La fluorescence (King et al. 1954) Concernant la fluorescence, les bactéries sont cultivées sur le milieu KingB pendant 24 à 48 h avant d'être passées sous des radiations ultraviolettes fournies par des lampes à UV. Pour les *Pseudomonas* une pigmentation jaune est produite.

I.4 Conservation des rhizobactéries

Les rhizobactéries isolées sont conservées en tube eppendorf contenant à volume égal un mélange de milieu YDC et de glycérol (30 %, v/v) utilisé comme cryo-protecteur pour une plus longue conservation. Les boîtes contenant les cultures pures seront conservées à 4°C tout le temps nécessaire avant d'entamer les tests.

Chapitre II : Isolement de l'agent pathogène

II.1 Matériel fongique

II.1.1 Obtention de l'agent pathogène

Les wilayas du nord-ouest algérien (Tlemcen et Ain Temouchent) ont été choisies pour l'obtention de l'agent *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (FOC) en raison de la forte disponibilité des foyers de flétrissement de pois chiche.

Les plantes infectées se caractérisent par un jaunissement des feuilles, un flétrissement de leur parties aériennes et une taille réduite.

II.1.2 Isolement et purification de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*

Des fragments de 1 cm de longueur prélevés à partir des tiges présentant une nécrose à l'intérieur du xylème. Ils sont désinfectés à l'eau de javel diluée à 2% pendant 3 min, rincés 3 fois à l'eau distillée stérile puis séchés sur un papier filtre stérile. Les explants sont ensuite placés sur des boîtes de pétries contenant le milieu PDA (Annexe 1). Les boîtes sont incubées à l'obscurité et à température de 25° C (Gupta et al., 1986) pendant une semaine.

II.1.3 Culture monospore

La culture monospore permet d'obtenir une culture pure à partir des spores fongiques de l'isolat à préparer pour des études ultérieures.

Un explant mycélien est prélevé à partir d'une culture jeune de 07 jours. Il est mis dans un tube eppendorf contenant 1 ml d'eau distillée stérile. Le tube est agité pendant 2 minutes au vortex afin de libérer les conidies dans la suspension. Une série de dilutions sont effectuées.

On prélève 100 µl de la suspension sporale que l'on introduit dans un nouveau tube eppendorf contenant 900 µl d'eau distillée stérile, on obtient la dilution 10^{-1} , puis à partir de cette dernière on prélève encore 100 µl de la suspension que l'on transfère dans 900 µl d'eau, c'est 10^{-2} , on continue les dilutions jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-4} .

A partir de la dilution 10^{-4} on prélève un volume de 100 µl de la suspension sporale de l'isolat que l'on étale en boîte de Pétri contenant un milieu PDA. La boîte est incubée à 26°C pendant une période de 36 à 48 heures au bout de laquelle de petites colonies apparaissent, signe que les conidies ont germé. Chaque colonie individualisée est prélevée délicatement et est transférée dans une nouvelle boîte de pétri contenant le même milieu de culture. Une seule colonie représentative de la région d'étude sera sélectionnée pour les études ultérieures. Elle est nommée isolat.

II.1.4 Identification du pathogène

II.1.4.1 Etude macroscopique et microscopique

L'identification repose dans un premier temps, sur une étude macroscopique des caractères culturaux sur milieu solide (aspect avers et revers des colonies) et dans une seconde étape, une étude microscopique des caractères morphologique des organes de reproduction asexuée et du mycélium. L'examen direct au microscope optique d'un petit fragment de culture de champignon âgé de 5 à 7 jours entre lame et lamelle, dans une goutte d'eau permet d'observer la forme, la taille des macroconidies, la présence ou l'absence de microconidies et des chlamydospores.

L'identification des espèces fongiques isolées est effectuée en utilisant les clés de classification du genre *Fusarium* (Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1971 ; Nelson et al. 1983 ; Leslie et Summerell, 2006).

II.1.5 Vérification du pouvoir pathogène de l'isolat

II.1.5.1 Matériel végétal

Pour confirmer que nous sommes en présence de la forme spécialisée *F. oxysporum* sp. *ciceris*, nous avons inoculé chaque isolat à des plantules de pois chiche.

Le cultivar ILC 482 est choisi sur la base de sa sensibilité à *Fusarium oxysporum* sp. *ciceris*.

II.1.5.2 Obtention des plantules de pois chiche

Des pots de 15 cm sont lavés et désinfectés à l'eau de javel dilué à 2%, ils sont ensuite remplis de tourbe. Les graines de cultivar ILC 482 sont désinfectés par immersion dans une solution d'hypochlorite de sodium à 2% pendant 3 min puis rincées 3 fois à l'eau distillée stérile et séchées sur du papier filtre stérile (Belad et al., 2004). Elles sont ensuite mises à prégermer sur un coton imbibé d'eau pendant 48 h à 72 h avant leur repiquage. Après germination, elles sont semées à raison d'une graine par pot. Les plantules sont arrosées selon leurs besoins, généralement à raison d'un jour sur deux.

Aux bouts de 8 jours, des plantules arrivées à deux feuilles étalées sont alors inoculées avec le pathogène.

II.1.5.3 Inoculation des plantules

Après 8 jours de semis, lorsque les plantules présentent deux feuilles bien étalées, l'inoculation est réalisée par trempage des racines des jeunes plantules dans la suspension conidienne (10^6 conidies/ml).

Les racines sont retirées délicatement du pot, lavées à l'eau de robinet puis trempées 30 min dans un récipient contenant l'inoculum du parasite. Les témoins sont trempés dans de l'eau distillée stérile (El Aoufir, 2001). Pour chaque isolat FOC trois plantules sont inoculées avec le pathogène, trois autres plantules, inoculées à l'eau distillée stérile représentent les témoins.

Chapitre III : Etude de l'action antagoniste *in vitro* de quelques bactéries isolées de la rhizosphère

L'activité antagoniste des bactéries rhizosphériques isolés de rhizosphère de pomme de terre est étudiée selon deux techniques, la technique de confrontation directe et la technique de confrontation indirecte. Deux isolats de FOC sont utilisés dans cette étude, un isolat issu de la région de Tlemcen dénommé TLM et un autre de la région de Ain Temouchent (T9).

III.1 Confrontation directe

Un disque de papier wattman (6 mm de diamètre) est déposé en boîte de pétri à la surface d'un milieu PDA. On prélève alors 20 µl d'une suspension de la bactérienne (10^8 CFU/ml) à tester. Un exlant mycélien (8 mm de diamètre) de FOC est déposé en surface du milieu de culture à 4 cm du disque imbibé par la bactérie.

Dans le cas du témoin, le disque en papier est imbibé d'eau distillée stérile, sans la bactérie.

Les boîtes sont incubées à 26°C pendant 7 jours.

La lecture des résultats consiste à mesurer le rayon de croissance du champignon en direction de l'antagoniste bactérien (Maslouhy et al., 1989).

R témoin : distance radiale max de la croissance du FOC.

R test : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

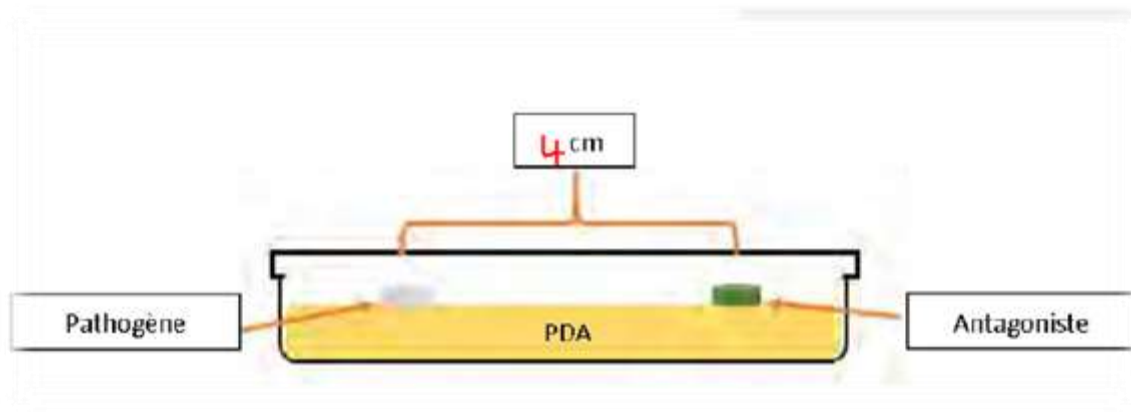


Figure 08 : Technique de confrontation directe

III.2 Confrontation indirecte

Cette technique consiste à déposer un disque de FOC de 6 mm de diamètre au centre d'une boîte de Pétri contenant un milieu PDA. Une autre boîte de Pétri contenant le milieu PDA estensemencée avec 150 μ l de la bactérie antagoniste (10^8 CFU/ml). Les couvercles des deux boîtes sont retirés. Le fond de la boîte contenant le parasite est mis au-dessus du fond contenant le disque de la bactérie. Les boîtes sont scellées avec du parafilm pour éviter toute déperdition de substances volatiles. Elles sont incubées pendant 7 jours à 26 °C (Gargouri-Kamoun et al., 2016).

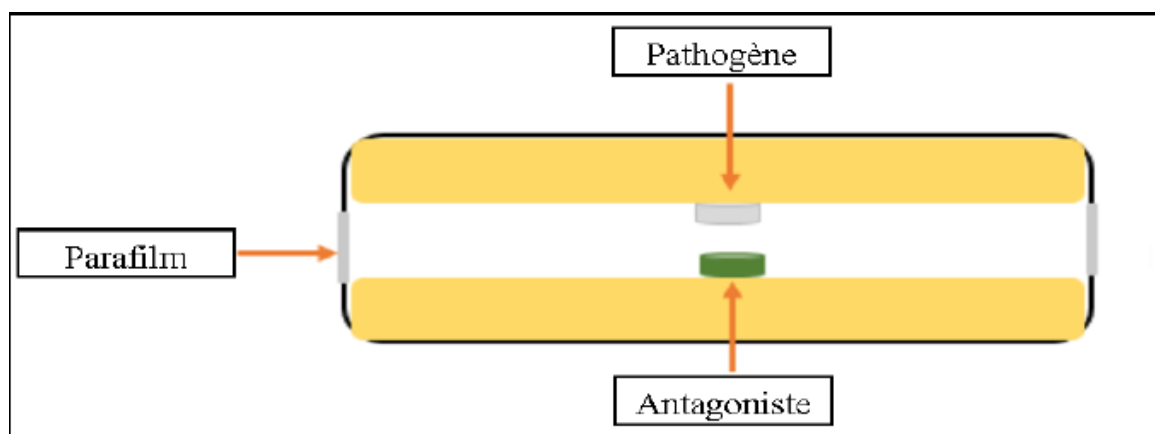


Figure 09: Technique de confrontation indirecte.

III.3 Effet sur la sporulation

Pour évaluer la sporulation de l'agent phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* sous l'effet des antagonistes (les bactéries rhizosphères), nous avons utilisé une méthode qui est basée sur le comptage des spores (macroconidies et microconidies). Cette méthode consiste à compter la concentration des conidies par ml. Le comptage se fait diagonalement au microscope à l'aide de la cellule Malassez, et se fait par le comptage des spores par carreau, on compte 9 carreaux par méthode de l'orientation de lettre X.

III.3.1 Comptage des spores après la confrontation directe

Après 10 jours d'incubations des boîtes Pétri, on prend chaque boîte dans une zone aseptique, au bord de la zone d'inhibition, on met 10 disques par pipette pasteur stérile et puis avec une pince à disséquer on prélève les disques et en mettant dans un bécher qui contient 10 ml de l'eau distillée stérile, on va agiter la solution par le vortex pendant 5 min après l'agitation on prélève 100 µl de solution et en mettant dans la cellule Malassez, enfin la cellule se met au niveau de microscope optique afin de compter les spores qui étaient obtenus et ce méthode sera répétée 3 fois pour compter le moyen des spores de chaque boîte qui porte une bactérie antagoniste différente.

III.3.2 Comptage des spores après la confrontation indirecte

La méthode de comptage des spores est différente par rapport à la première.

Après 10 d'incubation, et dans un milieu aseptique, on prend chaque côté de boîte de Pétri qui porte l'agent pathogène FOC, et en mettant 20 ml de l'eau distillée stérile en milieu de la boîte et avec une anse de platine stérile en frottant le champignon après 2 minutes, on se met dans un bécher pour l'agitation sur le vortex pendant 5 min, après l'agitation on prélève 100 µl dans la cellule de Malassez, et compter les spores sous le microscope la méthode sera répétée 3 fois pour chaque antagoniste et obtenir le moyen générale des spores.

Résultats et interprétation

L'objectif de cette étude porte sur l'étude de l'activité antagoniste de quelques rhizobactéries vis-à-vis de deux isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, agent du flétrissement vasculaire du pois chiche.

L'isolement sur milieu King B a permis l'obtention de colonies de formes variées mais généralement de couleur crème à blanchâtre (Figure 10).

Les colonies purifiées présentent des caractéristiques macroscopiques différentes, la plupart des colonies sont sèches et irrégulières, certaines sont nacrées avec un contour dentelé et une pigmentation jaune-vert.

I.1 Identification des rhizobactéries

I.1.1 Aspect macroscopique

L'étude macroscopique nous a permis d'observer la forme, la couleur et la fluorescence des colonies sur le milieu King B.

Cette étude nous montre que la majorité des colonies sont petites nacrées avec une pigmentation vert fluorescente.

I.1.2 Aspect microscopique

L'observation microscopique montre que la plupart des bactéries sont Gram négative avec une forme en bâtonnet, ou en forme de chaînette, un actinomycète (Figure 12).

Parmi les 15 bactéries sélectionnées pour la confrontation avec le FOC, seules deux sont des Gram positives (RB26 et RB 27), les autres sont Gram négatives (Figure 11).

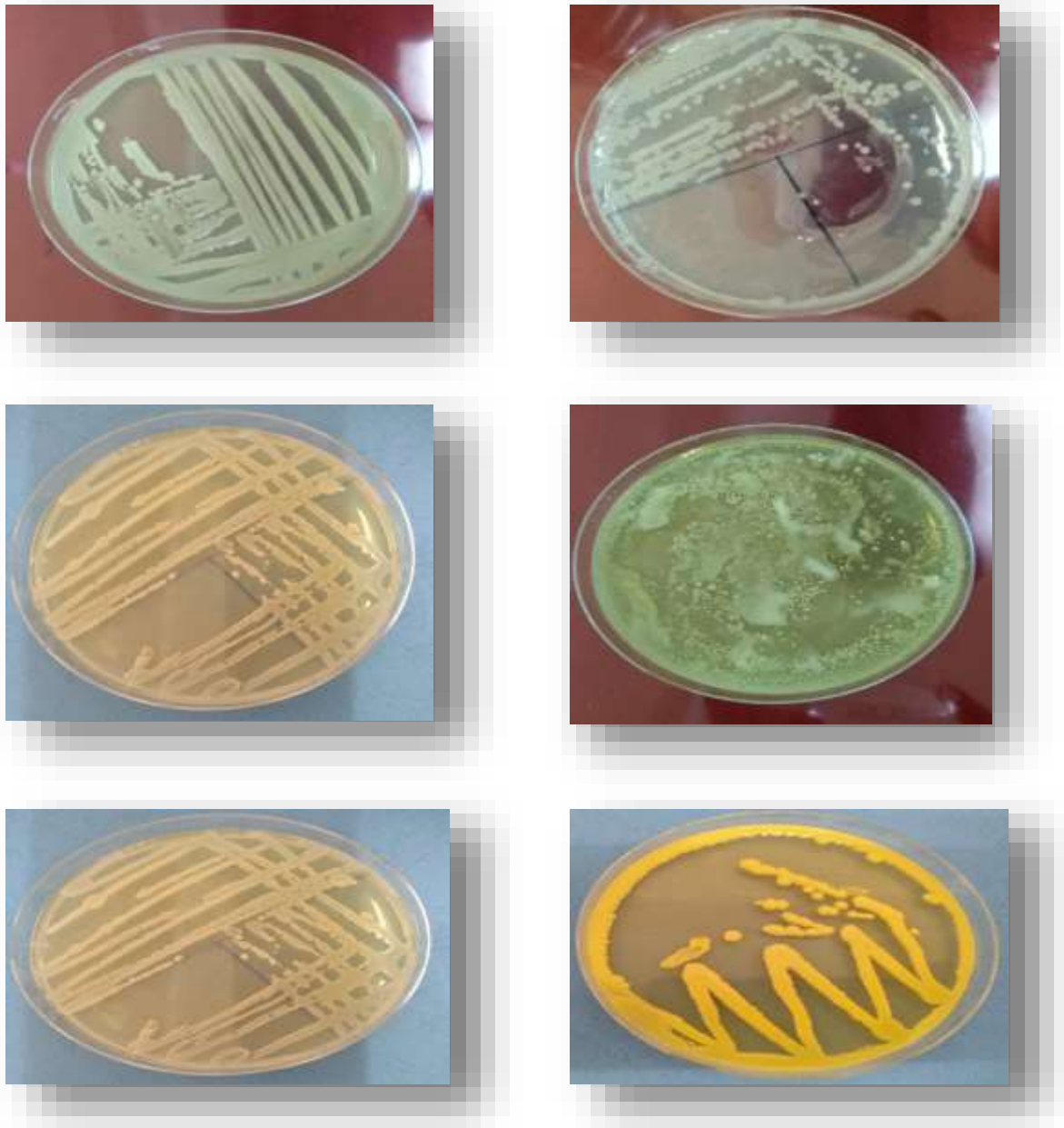


Figure 10 : Aspects de quelques colonies des rhizobactéries sur King B obtenues à partir des racines de la pomme de terre variété Spunta.

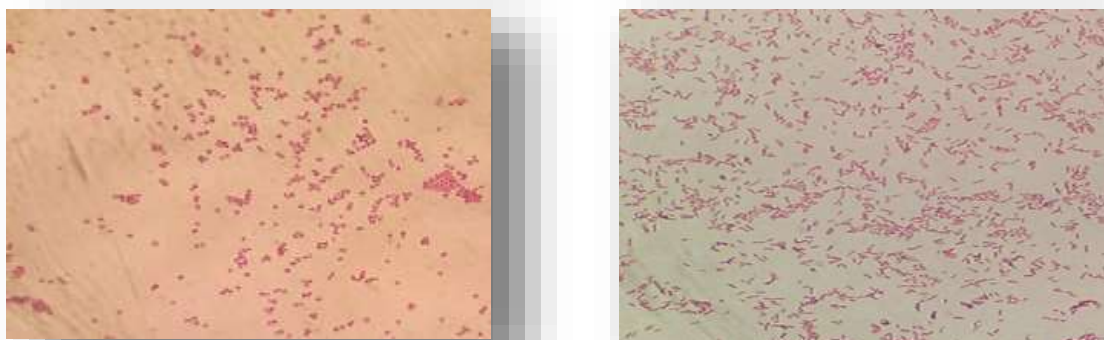


Figure 11 : Aspect des bactéries Gram négatives (Rz21, Rz8), après les étapes de coloration et de traitement à l'éthanol, sous microscope électronique (G×100).



Figure 12 : Aspect microscopique d'unactinomycete(Rz27) isolé à partir des racines de la pomme de terre variété Spunta

.2 Fluorescences des bactéries isolées

Les bactéries rhizobactériennes sont cultivées sur le milieu King B pendant 24 à 48 h. Les boîtes sont exposées à des radiations ultra-violettes à 365 nm.

La plupart des bactéries montrent une pigmentation fluorescente intense ou faible (Figure 13).



Figure 13 : Aspect fluorescent d'une colonie appartenant à *Pseudomonas* (RB5) cultivée sur milieu King B et exposée au rayonnement ultra-violet (365 n.m).

I.3 Recherche de la catalase

La catalase dégrade l'eau oxygénée issue de la voie respiratoire oxydative directe en eau et en oxygène libre qui se dégrade sous forme gazeuse (**Maslouhy et al ; 1989**). Les résultats de ce test diffèrent, certaines bactéries donnent une catalase négative d'autres sont catalase positive (Fig14, tableau 5).

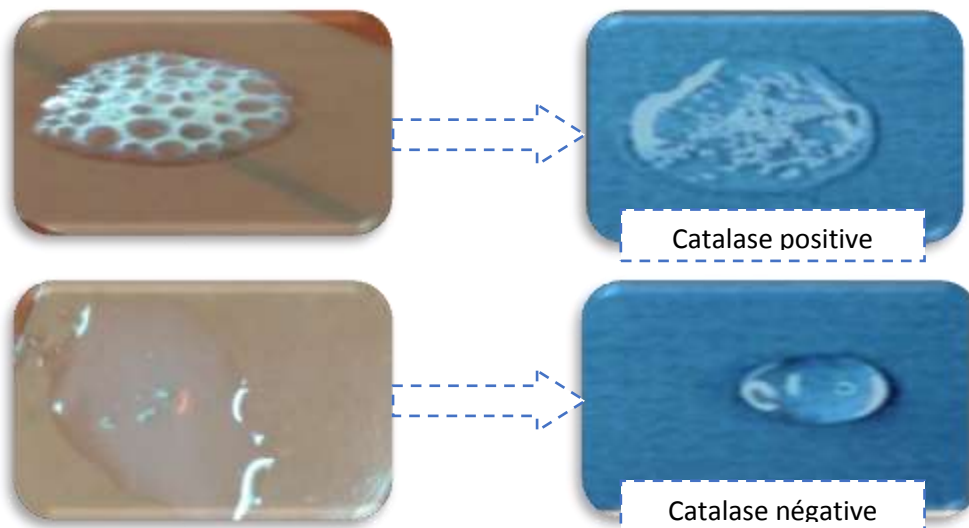


Figure 14 : Deux résultats du test de catalase (positive, négative) selon les agents antagonistes sélectionnés.

I.4 Recherche de l'oxydase

Le cytochrome oxydase agissant sur un substrat incolore entraîne la formation d'un semi quinone rouge. Cette dernière très instable s'oxyde en donnant un composé noirâtre (Maslouhy et *al* ; 1989). Ici encore les résultats diffèrent selon la bactérie considérée (Figure15, tableau 5).

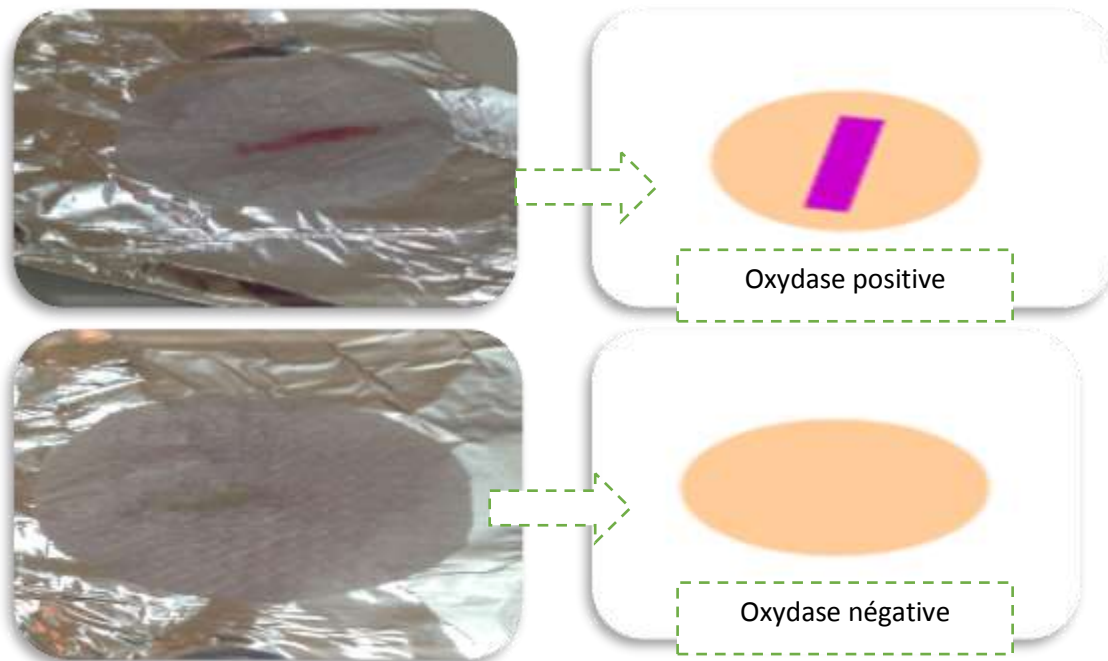


Figure 15 : Deux résultats du test d'oxydation (positive, négative) selon les agents antagonistes sélectionnés.

I.5 Test de Levane

Une boîte de Pétri contenant un milieu Levane est ensemencé par chaque souche bactérienne. L'incubation des boîtes dans un étuve à température 26°C pendant 48 heures

montre que certaines souches donnent une réaction négative et présentent une strie prostrée par rapport à d'autres bactéries qui ont fait une réaction positive et qui présentent une zone opaque et luisante en marge de la strie (Figure16).

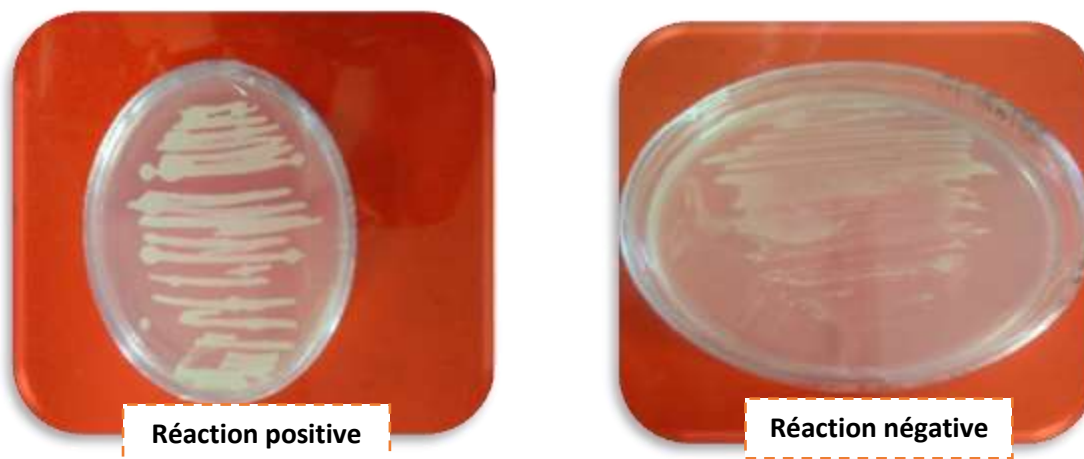


Figure 16 : Résultats de test de Levane sur les bactéries rhizosphères.

Tableau X: Tests d'identification des bactéries antagonistes vis-à-vis de FOC.

Bactéries Antagonistes	Test d'identification						Remarques
	Gram	Forme	Catalase	Oxydase	Levane	Fluorescence	
RZ 28	(-)	B**	(+)	(-)	(+)	Intense	<i>Pseudomonas spp</i>
RB 5	(-)	B**	(+)	(+)	(+)	Intense	<i>Pseudomonas spp</i>
RZ 25	(-)	B**	(+)	(+)	(+)	Intense	<i>Pseudomonas spp</i>
RZ8	(-)	C*	(+)	(-)	(+)	Faible	Cocci (non identifié)
RZ 7	(-)	B**	(+)	(-)	(+)	Faible	<i>Pseudomonas spp</i>
RB 17	(-)	B**	(+)	(-)	(+)	Faible	<i>Pseudomonas spp</i>
RZ 22	(-)	B**	(+)	(-)	(+)	Faible	<i>Pseudomonas spp</i>
RZ 21	(-)	B**	(+)	(-)	(-)	Intense	<i>Pseudomonas spp</i>
RB 9	(-)	B**	(+)	(+)	(+)	Faible	<i>Pseudomonas spp</i>
RB 14	(-)	B**	(-)	(-)	(+)	Faible	<i>Pseudomonas spp</i>
RB 4	(-)	B**	(-)	(-)	(-)	Intense	<i>Pseudomonas spp</i>
RZ 24	(-)	B**	(-)	(+)	(+)	Faible	<i>Pseudomonas spp</i>

RZ 27	(+)	B**	(+)	(-)	(+)	Intense	Actinomycete (non identifié).
--------------	-----	-----	-----	-----	-----	---------	-------------------------------------

B** : batonnet/ C* : Cocci.

II.1 Symptômes de la maladie au champ et obtention des isolats de FOC

Les isolats (TLM et T9) sont obtenus dans deux régions de nord-ouest d'Algérie, Tlemcen et Ain Timouchent, l'observation est basée sur les symptômes atteints sur les plantes, flétrissement et jaunissement des feuilles et tiges de plante de pois chiche dans les parcelles cultivées (figure cc). De plus une coupe longitudinale à l'intérieur des tissus du xylème montre une nécrose noirâtre.



Figure 17: plantes du pois chiche contiennent les symptômes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ceciris*

L'isolement à partir de tiges infectées a permis l'obtention de colonies de couleur blanches, légèrement rosâtres après 7 jours d'incubation à 25 C° (Figure 17).



Figure 17 : culture jeune (7 jours) de FOC de la région de Tlemcen (TLM), après isolement sur milieu de culture PDA.

Les cultures monospores permettent d'obtenir à partir de chaque conidie une culture pure, ou isolat, au bout de 36 heures (Figure pp). Elles sont repiquées chacune individuellement. Une seule colonie, dénommée isolat est représentative de la région d'étude.



Figure 18 : colonies de FOC issues de culture monospore.

I.2 Identification de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

Certains caractères microscopiques permettant d'identifier FOC ce sont les variations considérables des micro and macro conidia (Figure 19). Les microconidies sont 0-1 septa, par contre les macroconidies sont entre 1-5 septa. En plus de la taille des conidies (Kaur et al. 2015).

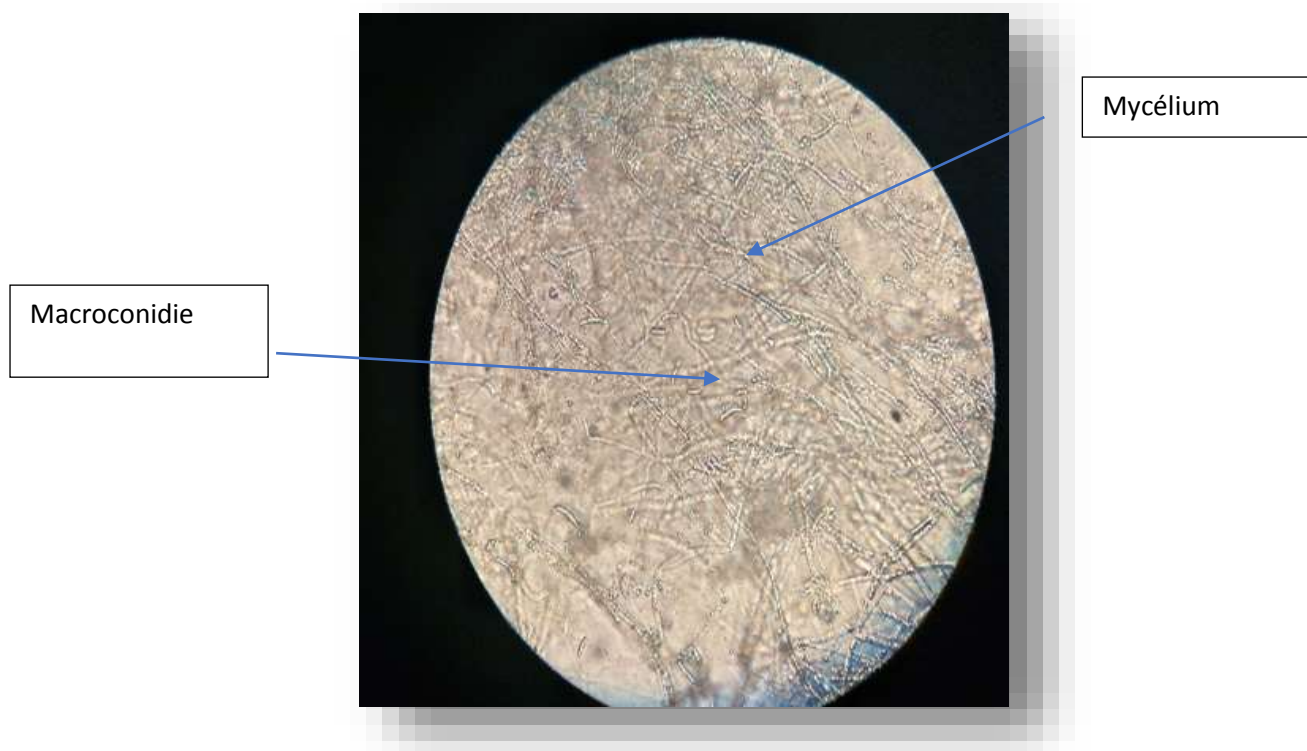


Figure 19 : Observation microscopique de l'agent pathogène FOC (isolat TLM) (X400).

I.3 Confirmation de l'identité des isolats de FOC et de leur pathogénicité

I.3.1 Cinétique d'apparition des symptômes chez les plantes inoculées par la technique d'inoculation artificiel :

Nous avons observé l'évolution des symptômes jusqu'à 32 jours après l'inoculation.

- Au 13^{ème} jour : les premiers symptômes apparaissent sur les plantules inoculées par l'isolat T9 ; un jaunissement est visible sur les feuilles inférieures, en revanche aucun symptôme n'est observé sur les plantules inoculées avec l'isolat TLM (Figure 20).
- Au 20^{ème} jour : Les plantules inoculées avec l'isolat T9 et l'isolat TLM flétrissent. Les plantules inoculées avec T9 montrent maintenant un jaunissement. Le flétrissement concerne les feuilles de la partie inférieure de la

plantule. Dans le cas des plantules inoculées par l'isolat TLM le flétrissement s'observe au niveau des feuilles situées au sommet (Figure 21).

- Après 32 jours d'inoculation : les plantes de pois chiche inoculés avec les deux isolats de FOC (TLM, T9) sont toutes mortes. Les témoins ne montrent aucun symptôme de la maladie (Figure 22).



Figure 20 : Symptômes sur plantules de pois chiche (ILC 482), 13 jours d'inoculation avec les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (TLM et T9).

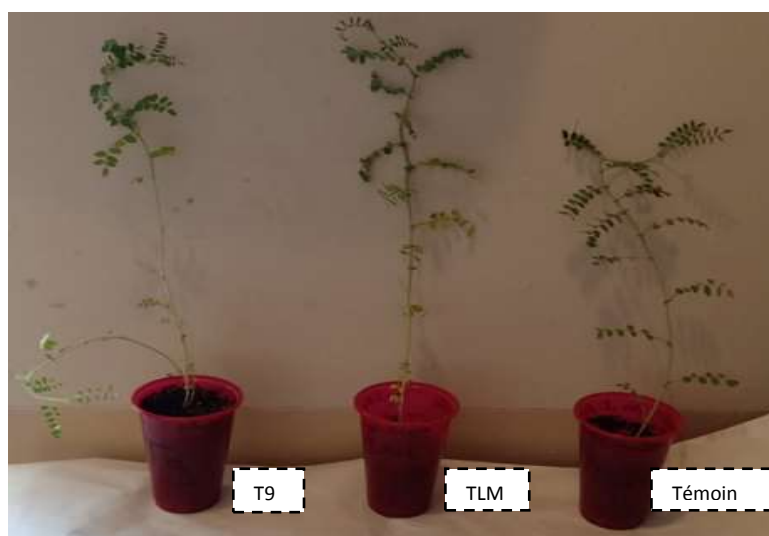


Figure 21 : Symptômes sur plantules de pois chiche (ILC 482), 20 jours d'inoculation avec les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (TLM et T9).



Figure 22 : Symptômes sur plantules de pois chiche (ILC 482) ,32 jours d’inoculation avec les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceris (TLM et T9).

III.1 Activité antagoniste des rhizobium vis-à-vis de FOC

La croissance des isolats de F.O.C (TLM, T9) est ralentie à distance par la présence des antagonistes quel que soit par la confrontation directe (Figure 23) ou indirecte (Figure 26)..

En effet, au 7 èmejourde confrontation, le rayon de croissance des deux isolats

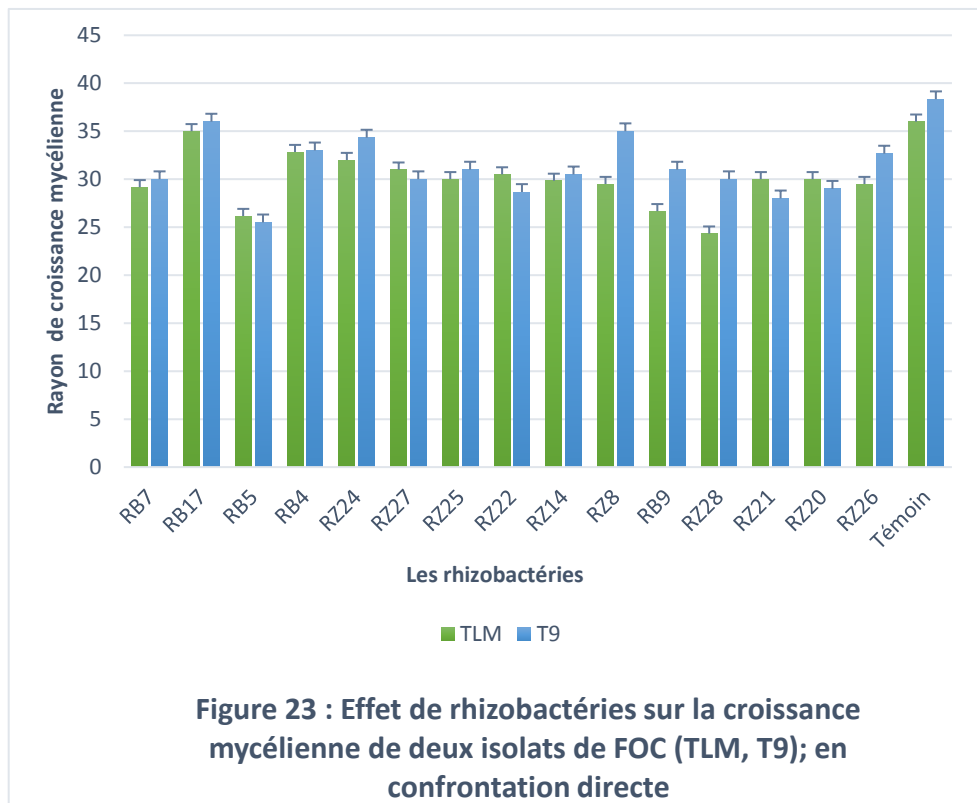


Figure 23 : Effet de rhizobactéries sur la croissance mycélienne de deux isolats de FOC (TLM, T9); en confrontation directe

confrontés aux antagonistes est significativement inférieur à celui des témoins (TLM, T9) (Annexe 1, 2).

Le rayon de croissance de l'isolat TLM est varié entre 24 mm et 35 mm pour le traitement avec un rayon de 35 mm dans le cas de témoin (isolat TLM seul). Par contre, le rayon de l'isolat T9 est varié entre 26 mm et 36 mm pour le traitement et contre 38 mm pour le témoin (T9 non confronté à la bactérie).

Dans le cas de l'isolat TLM, sa croissance est fortement inhibée sous l'action des bactéries Rb9 (26 mm) suivi par Rz28 (24 mm) contre 38 mm pour le témoin.

(Figure 24). Une importante zone d'inhibition apparaît entre les microorganismes confrontés.

Pour l'isolat T9 l'action la plus forte revient à la bactérie Rb5 (25 mm) (Figure 25). Comme pour TLM, on observe aussi une zone d'inhibition.

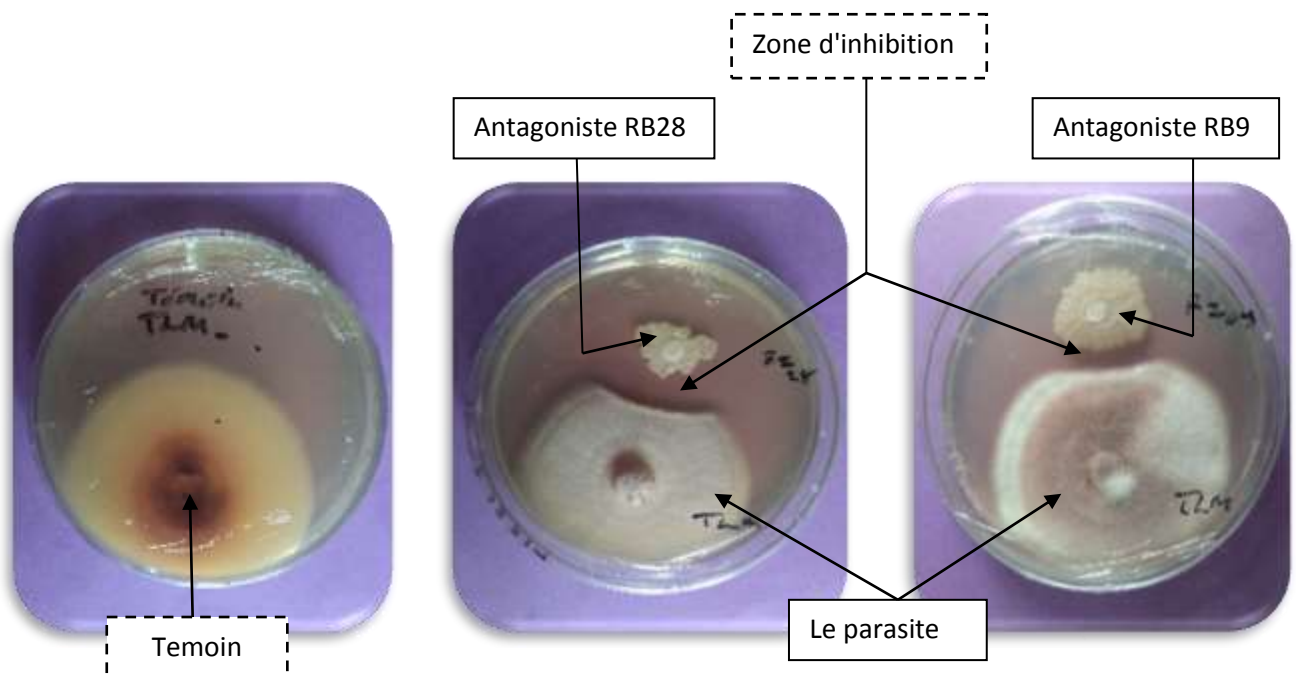


Figure 24 : Croissance mycélienne de l'isolat TLM confronté aux bactéries antagonistes Rz28 et Rb9 par rapport à la croissance du témoin (sans antagoniste).



Figure 25 : Croissance de l'isolat T9 confronté à l'antagoniste Rb5 par rapport au témoin (à droite).

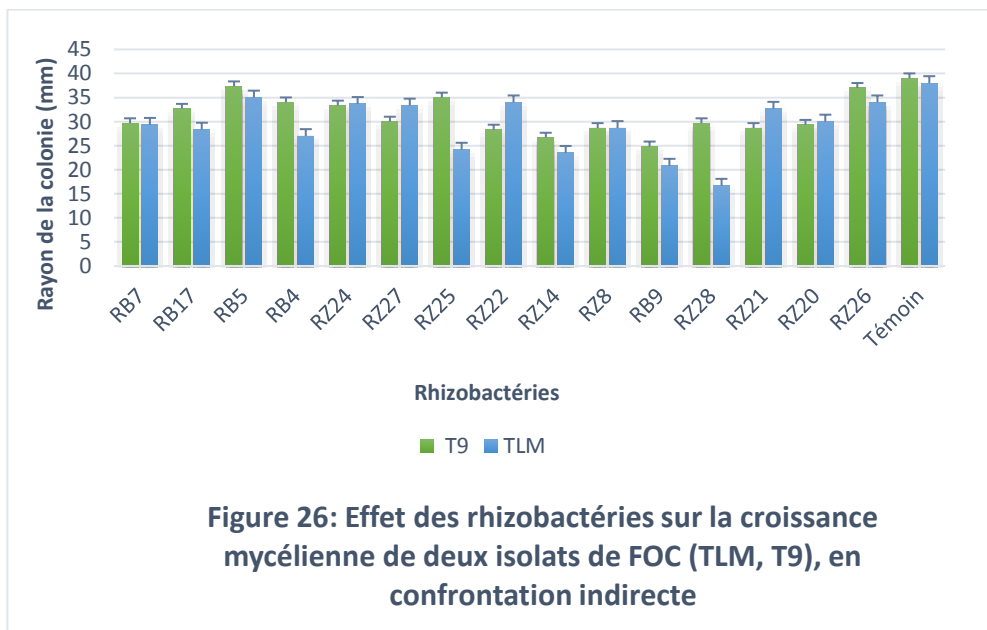


Figure 26: Effet des rhizobactéries sur la croissance mycélienne de deux isolats de FOC (TLM, T9), en confrontation indirecte

L'histogramme en dessus montre le ralentissement de la croissance mycélienne des deux isolats de F.O.C par rapport aux témoins causé par les substances volatiles excrétés par les antagonistes. Le rayon de croissance est varié entre 16 mm et 34 mm pour l'isolat de TLM et de 24 mm à 36 mm pour l'isolat T9.

L'action la plus forte est obtenue avec l'antagoniste RZ28 avec un rayon de croissance du pathogène de 16 mm, suivie par l'antagoniste Rb9 (20 mm), la bactérie RZ14 (23 mm) et RZ25 (24 mm) pour l'isolat TLM.

Par contre, l'action sur l'isolat T9 est plus forte avec la bactérie Rb9 avec un rayon de croissance du pathogène de 24 mm, suivie de l'antagoniste Rz14 (26 mm) et la bactérie Rz22 (28 mm).

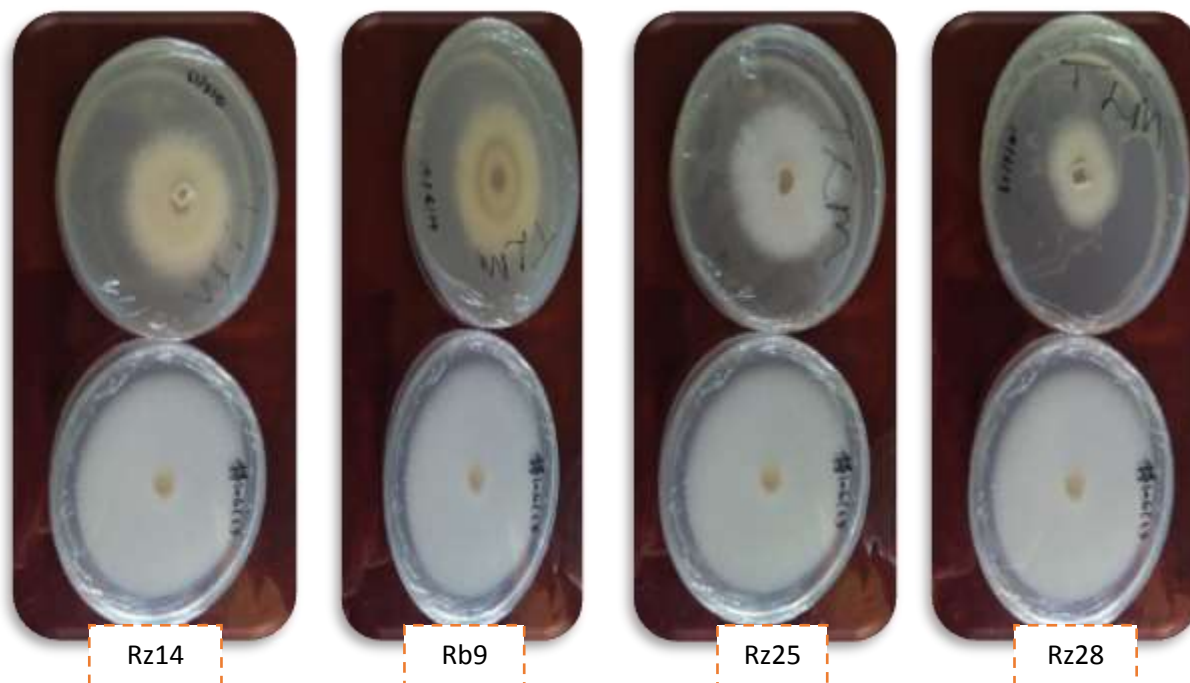


Figure 27 : la croissance mycélienne de l'isolat TLM confronté à l'antagonistes Rz14, Rb9, Rz25 et Rz28 par rapport au témoin sans antagoniste.



Figure 28 : la croissance mycélienne de l'isolat T9 confronté aux antagonistes les plus performants (Rb9, Rz14, Rz22) et leur témoin.

Les 15 bactéries sélectionnées ont toutes montré une action inhibitrice sur les isolats de F.O.C que ce soit par voie directe ou par les substances volatiles, cette action antifongique

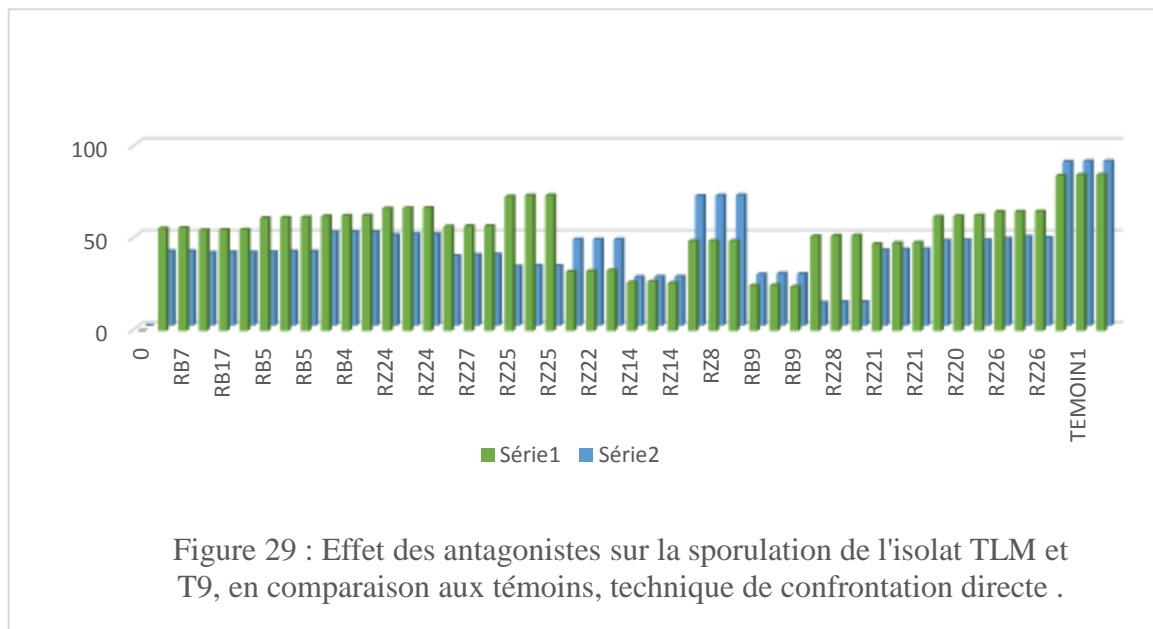
ests'est exprimée par le ralentissement de la croissance de mycélium de l'isolat TLM et de l'isolat T9.

III.2 Effet sur la sporulation

III.2.1 En confrontation directe

L'étude de la sporulation des isolats de F.O.C (TLM, T9) montre une réduction importante de la sporulation par rapport au témoin (TLM, T9 seul).

L'analyse statistique des résultats montre que la sporulation des isolats de F.O.C en présence des antagonistes est significativement inférieure à celle des témoins (Annexe 3, 4). La figure 29 montre que le taux de sporulation du pathogène confronté aux bactéries est relativement faible par rapport au témoin non confronté.



Le nombre des spores pour TLM varie de 8.44×10^6 spores/ml (Bactérie RZ28) à 52.02×10^6 spores/ml (Rb17) dans le cas de la confrontation avec les bactéries antagonistes alors que dans le témoin il est de l'ordre de 84.33×10^6 ; Pour l'isolat T9 le nombre varie de $39,77 \times 10^6$ spores/ml (Bactérie Rb5) à $73,2 \times 10^6$ spores/ml (Bactérie RZ25), en comparaison au témoin ($85,11 \times 10^6$).

III.2.2 En confrontation indirecte

Les analyses statistiques dans le cas de la technique des substances volatiles montrent que la sporulation de l'isolat TLM et l'isolat T9 est significativement inférieure par rapport aux témoins (annexe 3).

Le nombre de spores chez l'isolat TLM varie entre 12×10^6 spores/ml (Bactérie Rz28) et 71.11×10^6 spores/ml (Bactérie Rz8), en revanche il varie de 24×10^6 spores/ml (Rb9) et 73.59×10^6 (Rz8) spores/ml pour l'isolat T9, dans le témoin T9 la sporulation est de 89.84×10^6 spores/ml.

Ces résultats montrent l'importante action exercée par les substances volatiles sur la sporulation des isolats de F.O.C du parasite.

Discussion

Les tests d'identification et les observations effectuées montrent une légère prédominance des *Pseudomonas*, ceci rejoint l'observation faite par Di Battista-Leboeuf et al. (2003) qui a noté que *Pseudomonas* spp avaient une densité plus élevée dans la rhizosphère que dans le sol nu, plus précisément au niveau de la zone d'élongation des racines et des poils absorbants.

La gélose King B favorise la production de pyoverdine qui inhibe la production de pyocyanine. La fluorescéine produite par les *Pseudomonas* est un pigment jaune vert fluorescent qui est facilement détecté sur ce milieu (Biokar.D., 2016).

L'inoculation du pathogène aux plantules du pois chiche (ILC 482) a montré deux types de symptômes selon l'isolat utilisé, un flétrissement ou un jaunissement. Nous sommes en présence de pathotypes différents. Selon Trapero-Casas et al. (1985) deux pathotypes sont distingués chez le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* en se basant sur les syndromes de jaunissement ou de flétrissement.

Selon Kamel Dev Sharma (2007), il existe huit races physiologiques de l'agent pathogène (0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4,5 et 6).

Les tests d'antagonismes *in vitro* révèle qu'il y a une influence sur la croissance mycélienne et sur la sporulation de F.O.C, selon Maslouhy 1989, l'action inhibitrice de la sporulation due à une lyse du mycélium et des spores du parasites, il confirme qu'il existe un aplatissement des colonies du parasites du côté de l'antagoniste et le mycélium devient plus rasant et moins épais, donc il s'agit d'un phénomène d'antibiose lié à la production par les antagonistes de substance inhibitrices qui agissent sur la croissance, la sporulation et la germination du parasite.

En effet, les *pseudomonas ssp.fluorescents* possèdent une multitude de mécanisme d'action qui peut être attribuer à la synthèse d'antibiotique et d'autres types de métabolites à effet d'antibiose exercés directement ou indirectement. Les métabolites intervenant dans les processus d'antagonisme sont nombreux et de spectres d'action variables, à l'exemple de chélateurs des ions ferriques, les composés antibiotiques et des substances volatiles (Messaoud BENCHABANE et al; 2006). Elles peuvent aussi la protéger contre les microorganismes pathogènes en stimulant les mécanismes de résistance intrinsèque de la

plante, en sécrétant des composés antibactériens et antifongiques et/ou par la compétition vis-à-vis de certains nutriments (Mezaache, 2010).

Le pouvoir antagoniste des *Pseudomonas* fluorescents est lié essentiellement à leur capacité de synthétiser abondamment des pigments fluorescents selon Misaghi et al ; (1982) qui étudiant l'action antagoniste des *Pseudomonas* fluorescents sur *Pythium aphanidermatum* et a 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. Ce résultat semble confirmer celui obtenu par les bactéries Rz28, Rz25, Rb5. Toutefois, selon Digat (1983) il existe des *Pseudomonas* fluorescents qui produisent une très faible fluorescence sur le milieu King B mais exerce une action antagoniste très forte sur *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani*, ceci est confirmé par les bactéries Rb9 et Rz14 qui possède une faible fluorescence sur ce milieu.

Les *Pseudomonas* fluorescents constituent le groupe le plus important des rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et impliqués dans le biocontrôle des maladies des plantes grâce à différentes propriétés, incluant, la colonisation efficace des racines, des tubercules, etc. et à la capacité d'utiliser un grand nombre de substrats organiques. Les *Pseudomonas* sont généralement rencontrés au niveau des racines et sèment des exsudats ; relativement faciles à cultiver dans les conditions de laboratoire, la production de variété de métabolites secondaires qui empoisonnent les bactéries et les champignons pathogènes et la compatibilité des plantes avec les pesticides généralement utilisés comme agents de biocontrôle. Suryakala et al. (2004) ont rapporté que *Pseudomonas fluorescens* isolé de la rhizosphère était antagoniste à *Fusarium oxysporum*.

Conclusion

Les travaux présentés dans ce thème 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 microorganismes isolés de sols portant des cultures de pomme de terre de la région Mostaganem s'est révélée intéressante.

Une activité antagoniste, de nature antibiotique ou via des composés volatils, a été notée chez toutes les bactéries lorsqu'elles sont confrontées par la méthode directe ou indirecte au *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.

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 de la pomme de terre et du pois chiche 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.

1. **AAC, 2004. Pois chiche: Situation et perspectives.** Le bulletin bimensuel, 17(15) ; 4 p.
2. **AAC (Agriculture et Agroalimentaire Canada). (2006).** Le Bulletin bimensuel ; Vol 17;15; 4 pages. Pois chiche: Situation et perspectives
3. **ABED Hanane;** Dépistage et utilisation des rhizobactéries antagonistes (*Pseudomonas* et *Bacillus*) dans la lutte biologique contre la fusarium du pois chiche induite par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Laboratoire de Microbiologie Appliquée- UFAS Sétif-1. 35; 36)
4. **Ahmad F., Slinkard A.E. and Scoles G.J., 1988 .** Investigations into the barrier to interspecific hybridization between *Cicer arietinum* L. and eight other annual *Cicer* species. *Plant Breeding*, 100 : 193–198.
5. **Ahmad F., Gaur P.M. and Slinkard A.E., 1992 .** Isoenzym polymorphism and phylogenetic interpretations in the genus *Cicer* L. *Theoretical Applied Genetics* . 83 : 620- 627.
6. **Allali H, Boussouar K (2007)** Etude des besoins en eau de la culture de pois chiche (*Cicer arietinum*) dans la région de Sidi Bel Abbès mémoire de fin d'étude de DES biologie et physiologie végétale.
7. **Anonyme 1, 2006. Pois chiche.** Bulletin bimensuel. 19(13), pp: 2-4. <<manualzz.com/doc/18249441/le-bulletin-bimensuel-pois-chiches-situation-et-perspec>>.
8. **Anonyme (2005)., Profil du pois chiche au Canada, (2005).** Préparé par : Programme de réduction des risques liés aux pesticides, Centre pour la lutte antiparasitaire, Agriculture et Agroalimentaire Canada Pulse Canada, Chickpeas Market Information.
9. **Anonyme, (2003).** Bactériologie DCEM1, *Service de Bactériologie*. Université Paris-VI, Pierre et M. Curie, 77p.
10. **Anonyme, (2008).** LNPV, Laboratoire National de la Protection des Végétaux, Directive générale mycologie (2008). Toutes céréales, détection et identification des espèces de *Fusarium* spp. Et *Microdochium nivale* sur grains de céréales par isolement mycologique semi-sélectif et étude microbiologique. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche de France.P11.
11. **Anonyme, (2009).** Introduction au travail dans le labo de microbiologie. *Microbiologie*,
12. 77p.http://mysite.science.uottawa.ca/jbasso/microlabo_09/exercices_09/Manuel_micro_2009.
13. **Anonymous (2004b).** Characteristics of powdery mildew. Cooperative research centre
14. forviticulture.<http://www.dtfwid.qld.gov.au/>
15. **Anonymous (2004c).** Running towards resistance. CSIRO publications, Australia.

16. <http://www.csiro.au/files/files/p2jb.pdf>
17. **Anonymous (2005)**. Canada's bulletin on ecological pest management, biocontrol files.
18. **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 p**El**
- Aoufir A. (2001)**. Étude du Flétrissement Vasculaire du Pois Chiche (*Cicer arietinum*) Causé par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Evaluation de la Fiabilité de L'analyse Isoenzymatique et de la Compatibilité Végétative pour la Caractérisation des Races Physiologiques. Thèse de doctorat, Université Laval, Canada, 161 pp.
19. **El Aoufir A. , (2001)**. Etude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum*) cause par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, Evaluation de la fiabilité de l'analyse isoenzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des races physiologiques. Thèse de Doctorat Université Laval, P161.
20. **El Aoufri A.,(2001)**. Etude du flétrissement Vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum*) cause par le *Fusarium oxysporum* f ;sp. *Ciceri*. Evaluation de la fiabilité de l'analyse isoenzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des races physiologiques, thèse de Doctorat, Université Laval,P 161.
21. **El Aoufir A. 2001**. Etudie du flétrissement vasculaire du pois chiiche (*cicer arietinum*) causé par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. Evaluation de la fiabilité de l'analyse isoenzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des Races physiologique. Thèse de doctorat, université Laval, Canada, 161pp.
22. **Boudmagh, 2007**.
23. **Bunyamin T., 2015**. Pois chiche. Historica Canada.
24. **(Belabid et al; 2004)**.
25. **Booth C., (1971)**. The genus *Fusarium*. Common wealth Mycological Institue. Kew. Surrey, england.237P.
26. **Braun Ph., Planquaert Ph. et Wery J., 1988**. Le pois chiche : Utilisation. Ed. ITCF, Montpellier, France ; 11 p.
27. **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.

28. **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.
29. **Beddar N., 1990.** Influence de l'effet inoculation par différentes souches de rhizobium sur l'élaboration du rendement chez le pois chiche (*Cicer arietinum L.*), Variété ILC 3279. Mémoire d'ingénieur agronome, Sétif ; 81 p.
30. **Ben Mechlia, N. 1998.** Manuel de Formation: Application des Données Climatiques à la Planification et à la Gestion Efficace de l'Irrigation. Projet INAT - CGRE. Mise au point d'un système d'irrigation; 193 pages.
31. **Benabdeli K., Louissi M. et Belhadi A., 2010.** Impact de la gestion négative des ressources naturelles (sol et eau) sur les potentialités alimentaires dans le monde arabe : cas de l'Algérie. Séminaire international sur la sécurité alimentaire et le libre-échange. AMAECO Rabat (Maroc) 25-26 juin 2009.
32. **Belhassen, E., D. This, et P. Monneveux, 1995.** L'adaptation génétique face aux contraintes de sécheresse. *Cahiers Agriculture*; 4, 251-261.
33. **Bo Guang Zhao, Kazuyoshi Futal, Jack R. Sutherland et Yuko Takeuchi,** Pine Wilt Disease, Tokyo, Springer, 2008.
34. **Bouzerzour ,H., A. Djekoune, A. Benmhammed et L. Hassous, 1998.** Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité au rendement en grain de l'orge (*H. vulgare L.*) en zone semi-aride d'altitude. *Cahiers Agricultures*;7, 307 -317.
35. **Brayford D (1998)** *Fusarium oxysporm f.sp. ciceris*. IMI Descriptions of fungi and bacteria No. 1113.
36. **Camporta P., 1985.** Antagonisme in vitro de *Trichoderma spp.* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani Kuhn*. *Agronomie*. 5(7), pp: 613-620.
37. **Chakraborti D., Sarkar A., Gupta S. and Das S., 2006.** Small and large scale genomic DNA isolation protocol for chickpea (*Cicer arietinum L.*), suitable for molecular marker and transgenic analyses. *African Journal of biotechnology.*, 8: 585-589.
38. **Clavel, D., N.K. Drame, N.D. Diop et Y.Zuily-Fodil, 2005.** Adaptation à la sécheresse et création variétale : le cas de l'arachide en zone sahélienne (Première partie : revue bibliographique). *OCL Vol. 12 (3) Mai-juin ; pages 248-260.*

39. **Chérif M., Arfaoui A.** et Rhaim A., 2007. Phenolic compound and their rol in Biocontrol and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. *Tunisian Journal of Plant protection*. 2(1), pp: 7-21
40. **Coutum poeaudier, Y. and C. Alabouvette, 1990** Survival and inoculum potential of conidia and clamydospores of *Fusarium oxysporum* f.sp. lini in soll. *Can. J. Microbiol.* 36: 551 -556.
41. **Dennis et Webster 1980**
42. **Di Battista-Leboeuf, C., Benizri, E., Corbel, G., Piutti, S., Guckert, A. 2003.** Distribution of *Pseudomonas* sp. Population in relation to maize root location and growth stage. *Agronomie*, 23, pp. 441-446
43. **Delarras C ,2007.** *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire: Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques.* Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.
44. **Dennis C. et Webster J., 1980.** Antagonistic Properties of Species-Groups of *Trichoderma*. I. Production of Non-Volatile Antibiotics. *Trans. Br.Mycol. Soc.* 84, pp: 25-39.
45. **David J. et Khan K. S., 2001.**Effect of nitrogen application on nodulation in inoculated chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Online Journal of Biological Sciences*. 1(3), pp: 87-89.
46. Ellis, R.H., R.J. Lawn, R.J. Summerfield, A. Qi, E.H. Roberts, P.M. Chays, J.B. Brouwer, J.L. Rose, S.J. Yeates et S. Sandover 1994. Towards the reliable prediction of time to flowering in **Fiddaman et Rossall 1995**
47. **Fang Z.D.1998. Plant Pathology Technology.** 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press; 243pp. (in Chinese)
48. **Fraval, 2005**
49. **FAO (2015).** Food and agriculture organization of the united nations database. FAOSTAT agriculture.
50. **FAO, (2007).** Food and agriculture organization of the united nations database. FAOSTAT agriculture. six annual crops: V. Chickpea (*Cicer arietinum* L). *ExpAgric* 30: 271–282.
51. **FAOSTAT, 2016:** base de données de l'organisation mondiale de l'agriculture et de l'alimentation [www. faostatoru 'chickpea-statical.](http://www.fao.org/faostat)

52. **Gillet, M., 1980.** Les graminées fourragères. Description, fonctionnement, application à la culture de l'herbe. Gauthier - Villars, éditeur, 306 pages.
53. **Guignard J.L., 1980.** Abrégé de botanique. 4ème ed. Masson, Paris. 259 p.
54. **Handelsman JO, Raffel S, Mester EH, Wunderlich L, Grau CR, (1990).** Biological control of damping-off of Alfalfa seedlings with *Bacillus cereus* UW85. *App. Environ. Microbiol.*, **56**: 713–718.
55. **Harlan J.R. and Wet J.M.J., 1971.** To warda rational classification of cultivated plants. *Taxonomy*, 20: 509- 517.
56. **Heller, R., R. Esnault, et C. Lance, 1996.** Physiologie végétale ; Nutrition ; 5ème édition (Eds Masson) Paris; 294 pages.
57. **Haware MP, Nene YL & Mathur SB (1986)** Seed-borne diseases of chichpea. Danish Government institute of Seed Pathology for Developing Countries, Technical Bulletin No, 1
58. **IOOS R., (2001).** Comparaison de deux techniques de détection des *Fusarium* spp. sur grains de céréales et premières descriptions d'infections multiples par *Fusarium* spp. Et *Microdochium* sp. au niveau du grain. Annales du 5e congrès de la S.F.P., Angers, mars
59. **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.).
60. **ITGC, AlgérieGate, P. 1995.** Ecophysiologie du blé. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier Paris, 429 pages.
61. **Jimenez-Gasco, M.M., J.A. Navas-Cortes and R.M. Jimenez-Diaz, 2004.** The *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*/Cicer arietinum pathosystem: a case study of the evolution of plant-pathogenic fungi into races and pathotypes. *Int. Microbiol.*, 7: 95-104.
62. **Kaur R. Singh R. S. and C. Alabouvette, (2007).** Anagonistic activity of selected isolates of fluorescent *Pseudomonas* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri*. *Asian Journal of Plant Sciences* **6** (3) : 446-454.
63. **Kashiwagi, J., L. Krishnamurthy, P.M. Gaur, S. Chandra, et H.D. Upadhyaya, 2008.** Estimation of gene effects of the drought avoidance root characteristics in chickpea (*C. arietinum* L.). *Field Crop Res.* 105, 64-69.

65. **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.
66. **KING, E.O.; M.K. WARD and D.E. RANEY. 1954.** Two simple media for demonstration of pyocyanin and fluorescein. Journal of Laboratory and Clinical Medicine 44n 301-7.
67. **Krishnamurthy, L., C. Johansen, et S.C. Sethi, 1999.** Investigation of factors determining genotypic differences in seed yield of non-irrigated and irrigated chickpeas using a physiological model of yield determination. J. Agron. Crop Sci. 183, 9–17.
68. **Landa. B.B., Navas-cortes J.A. and Jimenez-Diaz R.M., (2004).** Integreated management of Fusarium Wilt of chickpea Wilt sowing date, hot resistance, and biological control. Phytopathology., **94** :946- 960.
69. **Landa BB, Navas-Cortés JA, Hervás A, Jiménez-Díaz RM, (2001).** Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on suppression of Fusarium wilt of chickpea by rhizosphere bacteria. *Phytopathology* **91** : 807–16.
70. **Ladizinsky G., 1987.** Pulse domestication before cultivation. Econ. Bot ., 41: 60-65.
71. **Labdi M., 1995.** Etude de la résistance à l’anthracnose (*Ascochyta blight* (Pass.) Lab.) chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Thèse Doctorat, ENSA, Montpellier, France ; 155 p.
72. **Ladizinsky G. and Alder A., 1976.** Genetic relationships among annual species of *Cicer arietinum* L. Theoretical Applied Genetics, 48: 197-204.
73. **Ladizinsky G., 1989.** Pulse domestication: Fact and Fiction. Econ. Bot . 43: 131-133.
74. **Laumont P., et Chevassus A., 1956.** Note sur l'amélioration du pois chiche en Algérie. Institut Agricole d'Algérie. Maison-carrée, Alger ; 24 p.
75. **Labdi M., 1990.** Chickpea in Algeria. In : Saxena N.P., Saxena M.C., Jouhansen C., Virmani S.M. et Harris H. Adaptation of chickpea in West Asia and North Africa region. ICARDA-ICRISAT: 137-140.
76. **Leport L., Turner N.C., Davies S.L. and Siddique K.H.M., 2006.** Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. Europ. J. Agronomy, 24: 236-246.
77. **Le figaro.fr avec AFP, 2016.** La production de pois chiches en Australie. <<<http://www.lefigaro.fr/flash-eco/2016/12/09/97002-20161209FILWWW00132-la-production-de-pois-chiches-explose-en-australie.php>>>.

78. **Lopez-Bellido L., Lopez-Bellido R.J., Castillo J.E. and Lopez-Pellido F.J., 2004.** Chickpea response to tillage and soil residual nitrogen in a continuous rotation with wheat I. Biomass and seed yield. *Field Crops research* 88: 191-200
79. **Leslie JF, Sullerell BA (2006)** The Fusarium laboratory manual. (Blackwell Publishing: Iowa, USA).
80. **Leslie JF, Summerell BA (2006)** The Fusarium Laboratory manual. (Blackwell Publishing: Iowa, USA).
81. **MAHIOUT.J.2017**, Contribution à la caractérisation de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr, agent causal de l'antracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) et étude de son interaction avec *Medicago truncatula* Gaertn. Thèse de doctorat, Abd El Hamid Ben Badis, Mostaganem,
82. **Messiaen et Cassini, 1968 ; Booth, 1971 ; Nelson et al ; 1983 ; Leslie et Summerell; 2006).**
83. **MacFaddin, J. F. 2000.** Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.
84. **Mahon, C. R., D. C. Lehman, and G. Manuselis. 2011.** Textbook of diagnostic microbiology, 4th ed. W. B Saunders Co., Philadelphia, PA.
85. **Melhotra, R.S. et B. Ocompo, 1996.** Germplasm Program Legumes, Annual Report for 1996, International Center Agricultural Research Dry Areas, Aleppo, Syria; 229 pages.
86. **Moreno M.T. and Cubro J.L., 1978.** Variation in *Cicer arietinum* L. *Euphytica* ., 27 : 465–485.
87. **Muehlbauer F.J. and Rajesh P.N., (2008).** Chickpea, a common source of protein and starch in the semi- arid tropics. PH. Moore, R Ming (eds) genomics of tropical crop plants.
88. Pages 57-60)
89. **Muehlbauer F. J. and Rajesh P. N., 2008.** Chickpea, a common source of protein and starch in the semi-arid tropics. PH. Moore, R Ming (eds.) Genomics of tropical crop plants.
90. **Nene et Reddy, 1987; El Aoufir, 2001, Ravikumar et al; 2007; Ansar Ahmad, 2010)**
91. **Nelson, P. E.; Toussoun, T. A. et Marasas, W. F. O., (1983).** *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. London, PA: *Pennsylvania State Univ. Press*, 193p.
92. **Nestel P, Cehun M, Chronopoulos A. 2004.** Effects of long-term consumption and single meals of chickpeas on plasma glucose, insulin, and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr.* March; 79 (3):390-5.

93. **Nielson D.C., 2001.** Production functions for chickpea, field pea and lentil in the central Great Plains. *Agronomic Journal*, 93: 563-569.
94. **Nene YL, Haware MP & Reddy MV (1978)** Diagnosis of some wilt-like disorders of chickpea (*Cicer arietinum* L.). International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. Information Bulletin No. 3.
95. **Philippe Prior, Caitilyn Allen et John Elphinstone,** Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects, Berlin, Springer, 1998, relié p.6.
96. Poitier G.A., 1981 . Flore de la Tunisie ; 2 tomes ; 1190 p.
97. **Prescott L. M., Harley J. P. et Klein D. A., 2003.** Microbiologie, de Boeck 2e édition protéique chez *Bacillus subtilis* par une approche intégrée. Thèse de doctorat, 332p.
98. **Rapilly F., (1968).** Les techniques de mycologie en Pathologie végétale. *Annales des Epiphytes*, Vol. 19. Institut National de la recherche Agronomique, Paris, 102pp.
99. **Rao, C. V. S., Sachan, I. P. and Johri, B. N., (1999).** Influence of fluorescent Pseudomonads on growth and nodulation of lentil (*Lens esculentus*) in *Fusarium* infested soil. *Indian J. Microbiol.*, 39 : 23-29.
100. **Redden R.J. and Berger J.D., 2007.** History and origin of chickpea. Chickpea breeding and management. *Pathol .*, 42 : 172–180.
101. **Roberts E.H., Summerfield R.J., Minchin F.R. et Haley P., 1980.** Phenology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in contrasting aerial environments. *Experimental Agriculture*, 16: 343-360.
102. **Roberts, E.H., P. Hadley, et R.J. Summerfield, 1985.** Effects of temperature and photoperiod on flowering in chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Ann Bot.* 55, 881–892.
103. **Roberts, E.H., P. Hadley, et R.J. Summerfield, 1985.** Effects of temperature and photoperiod on flowering in chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Ann Bot.* 55, 881–892
104. **Jaiswal R. and Singh N.P., 2001.** Plant Regeneration from NaCl Tolerant Callus/Cell Lines of Chickpea, International Chickpea and Pigeonpea, Newsletter 8; ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics); 73 p.
105. **Saxena N.P., 1984.** Chickpea. In : Goldsworthy P.R., Fisher N.M. *The Physiology of Tropical Field Crops*: 419-452.
106. **Sassene A., 1989.** Etude de la fertilisation et de l'inoculation du pois chiche. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, INA, Algérie ; 77p.

- 107.Saxena M. C., 1990.** Status of chickpea in Mediterranean basin. CIHEAM, Options Méditerranéennes. 9, pp: 17-24.
- 108.Slama F., 1998.** Cultures industrielles et légumineuses à graines. Ed. Centre de diffusion Universitaire Tunisie, en Arabe ; 300 p.
- 109.Singh K.B., 1997.** Chickpea (*Cicer arietinum L.*). Field Crops Research, 53 : 161-170.
- 110.Singh K.B. and Ocampo B., 1993.** Interspecific hybridization in annual Cicer species . J. Gent. Breeding, 47: 199- 204.
- 111.Singh K.B. and Reddy M.V., 1991.** Advances in disease-resistance breeding in chickpea. Advances in agronomy, 45: 191-222.
- 112.Singh N P, 2001.** Plant Regeneration from NaCl Tolerant Callus/Cell Lines of Chickpea, International Chickpea and pigeonpea Newsletter, №8; ICRISAT International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics; Patancheru 502 324, Andhra Pradesh; 73 pages.
- 113.Singh, K.B., R.S. Malhotra, M.H. Halila, E.J. Knights et M.M. Verma, 1994.** Current status and future strategy in breeding chickpea for resistance to biotic and abiotic stresses. Euphytica 73, 137-149.
- 114.Singh, K.B., R.S. Malhotra, et M.C. Saxena, 1990.** Sources for tolerance to cold in Cicer species. Crop Sci. 30, 1136-1138.
- 115.SHAAD, N.M.; 1980.** Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.p;3.
- 116.Swain MR, Ray RC, 2007** Biocontrol and other beneficial activities of bacillus subtilis isolated from cow dung microflora Microbiol. Res 164 (2); 121-130)
- 117.Summerbell R. C et Schroers H. J., (2002).** Analysis of phylogenetic relationship of cylindrocarpon Lichenicola and Acremonium falciforme to the Fusarium solani species complex and a review of similarities in the spectrum of opportunistic infection caused by these fungi. Journal of Clinical Microbiology. 40:2866-2875.
- 118.Soltner, D. 1981.** Les bases de la production végétales : Le sol - Le climat-La plante; Phytotechnie Générale; Tome I: Le sol ; 10ème Eds; 456p.
- 119.Tawaha A. R. M., Turk M. A. et Kyung Dong Lee, 2005.** Adaptation of chickpea to Cultural Practices in a Mediterranean Type Environment. Research Journal of Agriculture and

- Biological Sciences. 1(2), pp: 152-157. Thèse de Master, Université de Saskatchewan, Saskatoon, Canada. 161p.
- 120.Terry A. Tattar**, Diseases of shade trees, New York, Academic Press, 1978, 167 p.
- 121.Trapero-Casas A, Jiménez-Díaz RM** (1985) Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology* 75:1146–1151.
- 122.Toussons T. A. and Nelson P.E.,** (1976). Apictorial guide to the identification of *Fusarium* species. Pennsylvania state University Park, 51pp.
- 123.Udupa S., Weigand F., Saxena M., Kahl G., 1998.** Genotyping with RAPD and microsatellite markers resolves pathotype diversity in the ascochyta blight pathogen. *Theor Applied Genet* 97: 299-307.
- 124.Vanier P., 2005.** Le pois chiche au fil du temps : Usages culinaires, Conservation, Jardinage biologique et écologique et environnement. Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels (INAF), Université Laval ; 11p.
- 125.Vander-Maessen L.J.G., 1979.** Genetic resources at ICRISAT. *Int. Chickpea Newsletter* 1; 2p.
- 126.Vander-Maessen L.J.G., 1972.** Origin, history and taxonomy of chickpea. In : Saxena M.C. et Singh K.B. *The chickpea*. Ed. ICARDA, Aleppo, Syria: 11- 17.
- 127.Verghis T.I., McKenzie B.A Et Hill G.D.1999.** Phenological development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of crop; and Horticultural Science* 27, 249 – 256
- 128.Wang, J., Y.T. Gan, F. Clarke, et C.L. McDonald, 2006.** Response of Chickpea Yield to High Temperature Stress during Reproductive Development. *CropSci* 46, 2171-2178.
- 129.Westerland J, Compelle R_N and Kimble K.A; 1974.** Fungal root rots and wilt of chickpea in California. *Phytopathologie*, 64: 432-436.
- 130.Wery J., 1986.** Un pois pas si chiche que cela ! *Bulletin FNAMS; Semences*, 97: 32-35.
- 131.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.
- 132.Wery, J. 1990. Adaptation to frost and drought stress in chickpea and implications in plant breeding.** In: Saxena M.C; Cubero J.I. et Wery (Eds), *Present status and future*

prospects of chickpea crop production and improvement in the Mediterranean countries, Options Méditerranéennes - Série Séminaires - n° 9 - CIHEAM, Paris. pages: 77-85.

133. **Wheelis, M. 2008. Principles of modern microbiology.** Jones & Downloaded from www.asmscience.org by IP: 66.208.62.130 On: Wed, 29 Aug 2018 13:22:48 American Society for Microbiology © 2016 8 Bartlett Publishers, Inc., Sudbury, MA.
134. **Winch T., 2006. Growing Food.** A Guide to Food Production. Eds. Springer. 333p.
135. **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.
136. **Zaim Souad ,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; Thèse de doctorat en sciences agronomique, Abd El Hamid Ben Badis Mostaganem, page 43- 54)

Référence de site web

- 137.⁽¹⁾https://www.google.com/search?biw=1366&bih=608&tbm=isch&sa=1&ei=28puXf7qCYGDjLsPheqzkAM&q=pois+chichetype+kabuli&oq=pois+chichetype+kabuli&gs_l=img.3...376.3435..3960...0.0..0.185.1438.0j11.....0....1..gws-wiz-img.W7uDnez4EVY&ved=0ahUKEwi-xNr2vLXkAhWBAWMBHQX1DDIQ4dUDCAY&uact=5#imgcr=WRWMUrjaWzw3oM:
- 138.⁽²⁾https://www.google.com/search?biw=1366&bih=608&tbm=isch&sa=1&ei=X81uXeb-OMmmabvqvtAC&q=pois+chiche+type+Desi&oq=pois+chiche+type+Desi&gs_l=img.3...52.5905.531359..533545...0.0..0.300.1567.2-5j1.....0....1..gws-wiz-img.S7VZx50GIQM&ved=0ahUKEwimqpSqv7XkAhVJUxoKHTu1DyoQ4dUDCAY&uact=5#imgcr=xclpr4H9wbntIM:
139. www.pulsecanada.com
140. <http://www.biocontrol.ca/pdf/bio4.pdf>
141. http://web.aces.uiuc.edu/vista/pdf_pubs/1104.pdf.
142. www.biokar-diagnostics.fr, 2016
143. <http://faostat.fao.org/>
144. <http://faostat.fao.org/>

Annexe 01**Milieu king B**

	g/l
Protéase peptone #3 (Difco)	20.000
Phosphate de K dibasique (K ₂ HPO ₄)	1.145
Sulfate de Mg (MgSO ₄ .7H ₂ O)	1.500
Agar (Bacto)	15.000
Glycérol	15.0 ml

- Dissoudre les produits un à un dans 800 ml H₂O distillée.
- Compléter à 1 litre avec H₂O distillée.
- Stériliser 15 minutes à 121°C à 15 psi.
- Couler 18 à 20 ml de milieu par boîte de Pétri lorsqu'il a atteint 50°C.
- Ce milieu a été autoclavé à 121°C pendant 20 minutes. PH : 7,0-7,2

MILIEU LEVANE

	g/l
Nutrient agar	23.000
D-glucose	2.500
Sucre de table	50.000

- Dissoudre les produits un à un dans 800 ml H₂O distillée.
- Compléter à 1 litre avec H₂O distillée.
- Stériliser 15 minutes à 121°C à 15 psi.
- Couler 18 à 20 ml de milieu par boîte de Pétri lorsqu'il a atteint 50°C.
- Ce milieu a été autoclavé à 121°C pendant 20 minutes. PH : 7,0-7,2

Bouillon nutritif

Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2.5g
Peptone	5g
NaCl	5g

- Dissoudre les produits un à un dans 800 ml H₂O distillée.
- Compléter à 1 litre avec H₂O distillée.
- Stériliser 15 minutes à 121°C à 15 psi.
- Couler 18 à 20 ml de milieu par boîte de Pétri lorsqu'il a atteint 50°C.
- Ce milieu a été autoclavé à 121°C pendant 20 minutes. PH : 7,0-7,2

MILIEU YDC

YDC (Yest Dextrose Calcium Carbonate agar) à savoir :

1)

Yest extract	10,0 g
Calcium Carbonate (CaCO ₃)	20,0 g
Eau distillée	950 ml

2)

Dextrose (L-glucose)	20,0 g
Eau distillée	50,0 ml

3) On autoclave les 2 milieux séparément et on les mélange bien à la température de 40 à 50 °C.

MILIEU PDA (POTATO DEXTROSE AGAR) (RAPILLY, 1968)

Pomme de terre	200 g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	1 000 ml

- Dissoudre les produits un à un dans 800 ml H₂O distillée.
- Compléter à 1 litre avec H₂O distillée.
- Stériliser 15 minutes à 121°C à 15 psi.
- Couler 18 à 20 ml de milieu par boîte de Pétri lorsqu'il a atteint 50°C.
- Ce milieu a été autoclavé à 121°C pendant 20 minutes. PH : 7,0-7,2

Annexe 02**Tableaux6 : signification de confrontation directe****ANALYSE DE
VARIANCE**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Échantillon	1217	1	1217,3444	292	0	3,9546
Colonnes	28,27	2	14,136111	3,4	0	3,1052
Interaction	2,606	2	1,3027778	0,31	0,7	3,1052
A l'intérieur du groupe	349,6	84	4,1619048			
Total	1598	89				

Confrontation direct T9

Significatif

**ANALYSE DE
VARIANCE**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Échantillon	874,225	1	874,225	215,3095	6,7726E-25	3,954568
Colonnes	14,1166667	2	7,058333	1,73837	0,18207123	3,105157
Interaction	19,1166667	2	9,558333	2,354085	0,10121803	3,105157
A l'intérieur du groupe	341,066667	84	4,060317			
Total	1248,525	89				

Confrontation direct TLM

Significative

Tableau 07 : signification de la confrontation indirecte

ANALYSE DE VARIANCE						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Échantillon	1436	1	1436,0028	203	0	3,9546
Colonnes	78,37	2	39,186111	5,53	0	3,1052
Interaction A l'intérieur du groupe	1,372	2	0,6861111	0,1	0,9	3,1052
Total	2111	89	7,0892857			
ANALYSE DE VARIANCE						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Échantillon	1604	1	1604,4444	145	0	3,954568408
Colonnes	86,42	2	43,211111	3,91	0	3,105156608
Interaction A l'intérieur du groupe	2,422	2	1,2111111	0,11	0,9	3,105156608
Total	2622	89	11,050794			

Confrontation indirect T9
Significatif

Confrontation indirect TLM
Significatif

Annexe 3**Tableau 08 : signification de la sporulation des isolats****Statistiques descriptives**

	traitment	Moyenne	Ecart-type	N
TLM	RB17	55.0267	.14503	3
	RB4	62.7167	.25106	3
	RB5	61.6667	.22502	3
	RB7	55.7933	.26160	3
	RB9	24.5567	.47721	3
	RZ14	26.4867	.46177	3
	RZ20	62.5267	.32655	3
	RZ21	47.7100	.33645	3
	RZ22	32.5733	.35501	3
	RZ24	66.7967	.12662	3
	RZ25	73.5967	.34646	3
	RZ26	64.9700	.10817	3
	RZ27	57.0267	.12858	3
	RZ28	51.7767	.21197	3
	RZ8	48.9567	.07095	3
	TEMOIN1	84.8400	.35341	3
Total	54.8138	15.94542	48	
T9	RB17	39.8567	.08083	3
	RB4	50.9433	.05508	3

ANNEXE

RB5	40.2867	.24906	3
RB7	40.3333	.28885	3
RB9	28.1800	.17521	3
RZ14	26.5933	.13279	3
RZ20	46.4300	.18193	3
RZ21	41.3900	.24576	3
RZ22	46.9433	.05508	3
RZ24	49.6000	.23388	3
RZ25	32.4500	.19925	3
RZ26	47.9067	.56536	3
RZ27	38.4267	.38031	3
RZ28	12.7567	.17926	3
RZ8	70.8467	.16442	3
TEMOIN1	89.4467	.20502	3
Total	43.8994	17.21165	48

Tableau 09 : Statistiques de groupe

	RB7	N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne
RB17	bac1	3	40.3333	.28885	.16677
	bac2	3	55.7933	.26160	.15103
RB5	bac1	3	39.8567	.08083	.04667
	bac2	3	55.0267	.14503	.08373
RB4	bac1	3	40.2867	.24906	.14380
	bac2	3	61.6667	.22502	.12991
RB24	bac1	3	50.9433	.05508	.03180
	bac2	3	62.7167	.25106	.14495
RZ27	bac1	3	49.6000	.23388	.13503
	bac2	3	66.7967	.12662	.07311
RZ25	bac1	3	38.4267	.38031	.21957
	bac2	3	57.0267	.12858	.07424
RZ22	bac1	3	32.4500	.19925	.11504
	bac2	3	73.5967	.34646	.20003
RZ14	bac1	3	46.9433	.05508	.03180
	bac2	3	32.5733	.35501	.20497
RZ8	bac1	3	26.5933	.13279	.07667
	bac2	3	26.4867	.46177	.26660
RB9	bac1	3	70.8467	.16442	.09493
	bac2	3	48.9567	.07095	.04096
RZ28	bac1	3	28.1800	.17521	.10116

ANNEXE

	bac2	3	24.5567	.47721	.27552
RZ21	bac1	3	12.7567	.17926	.10349
	bac2	3	51.7767	.21197	.12238
	bac1	3	41.3900	.24576	.14189
RZ20	bac2	3	47.7100	.33645	.19425
	bac1	3	46.4300	.18193	.10504
RZ26	bac2	3	62.5267	.32655	.18853
	bac1	3	47.9067	.56536	.32641
TEMOIN1	bac2	3	64.9700	.10817	.06245