



République Algérienne Démocratique et Populaire
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



THÈSE

POUR L'OBTENTION DU GRADE
DE DOCTEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES
Spécialité : Protection des végétaux

Présentée par :

M. SEKKAL Ibrahim

Thème

**Etude des interactions de *Fusarium oxysporum*
f. sp. *ciceris* avec *Medicago truncatula*, plante modèle
des légumineuses et essais de lutte biologique.**

Date de soutenance : 24 Septembre 2026

Devant le Jury :

M. BOUZOUINA Mohammed	Pr. U. Mostaganem	Président
M. MAHIOUT Djamel	MCA. U. Mostaganem	Directeur de thèse
M. DJIBAOUI Rachid	Pr. U. Mostaganem	Examineur
M ^{me} ZAIM Souad	Pr. U. Mascara	Examinatrice
M. TIAIBA Ammar	MCA. U. Msila	Examineur
M. BENDAHDANE Boubekeur Seddik	Pr. U. Mostaganem	Invité du jury

Année universitaire 2026 - 2027

“Comprendre le vivant exige patience et persévérance. Chaque erreur ouvre une voie vers une compréhension plus fine et de nouveaux questionnements. La science se construit dans ce dialogue continu entre l’expérience et l’esprit critique.”

Ibrahim SEKKAL

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
Abstract	
ملخص	

INTRODUCTION GENERALE

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le pois chiche (*Cicer arietinum* L.)

1.1.	Introduction	4
1.2.	Situation de la culture du pois chiche.....	5
1.2.1.	Dans le monde.....	5
1.2.2.	En Algérie.....	7
1.2.2.1.	Zones propices à la culture du pois chiche.....	7
1.2.2.2.	Principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie.....	8
1.3.	Botanique.....	9
1.3.1.	Taxonomie de la plante.....	9
1.3.2.	Caractères morphologique.....	10
1.4.	Types de pois chiche.....	11
1.4.1.	Pois chiche Kabuli.....	12
1.4.2.	Pois chiche Desi.....	12
1.5.	Importance du pois chiche.....	12
1.5.1.	Valeur nutritionnelle.....	12
1.5.2.	Valeur médicinale.....	13
1.5.3.	Nodulation et fixation d'azote par le pois chiche	14
1.6	Exigences écologiques du pois chiche.....	14
1.6.1.	Exigences climatiques.....	14
1.6.2.	Exigences édaphiques et nutritionnelles du pois chiche	15
1.7.	Les maladies affectant la culture de pois chiche.....	16
1.7.1	Pathogènes fongiques.....	16
1.7.2	Viroses émergentes.....	17
1.7.3	Bactérioses.....	18

Chapitre II : La fusariose vasculaire du pois chiche

2.1.	Introduction	19
2.2.	Répartition géographique et importance économique de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>ciceris</i>	19
2.2.1.	Répartition géographique.....	19
2.2.2.	Importance économique.....	20

2.3.	Biologie et écologie de l'agent pathogène	20
2.4.	Taxonomie de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	21
2.5.	Morphologie de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	22
2.6.	Diagnostic de la maladie	23
2.7.	Diversité génétique et pathogénicité des populations du pathogène	25
2.8.	Identification des races pathogènes de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	26
2.9.	Cycle de Reproduction de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	26
2.10.	Épidémiologie du pathogène.....	28
2.11	Méthodes de lutte	29

Chapitre III : La plante modèle des légumineuses, *Medicago truncatula*

3.1.	Introduction	31
3.2.	Classification botanique et caractéristiques morphologiques	32
3.3.	Intérêt de <i>Medicago truncatula</i> en tant qu'une plante modèle	34
3.4.	Intérêt économique et scientifique de <i>Medicago truncatula</i>	35
3.4.1.	Intérêt agronomique.....	35
3.4.2.	Intérêt génétique.....	35
3.4.3.	Génomique comparative des légumineuses.....	35
3.5.	Ressources génétiques de <i>M. truncatula</i>	35
3.6.	Interactions de <i>M. truncatula</i> avec les insectes et les microorganismes.....	37
3.6.1.	Interactions avec les insectes.....	37
3.6.2.	Interactions symbiotiques avec les microorganismes	37
3.6.3.	Interactions avec les champignons pathogènes	38
3.7.	Utilisation de <i>M. truncatula</i> comme source de résistance aux parasites des légumineuses cultivées.....	39

Chapitre IV : Potentiel antagoniste des champignons du genre *Trichoderma*

4.1.	Introduction	41
4.2.	Concept de la lutte biologique	41
4.3.	Intérêt de la lutte biologique dans la gestion des maladies phytopathogènes.....	42
4.4.	Le genre <i>Trichoderma</i>	43
4.4.1.	Historique.....	43
4.4.2.	Caractéristiques morphologiques et écologiques	43
4.4.3.	Taxonomie et identification moléculaire.....	44
4.4.4.	Diversité et habitat des espèces	44
4.4.5.	Modes d'action des <i>Trichoderma</i>	45
4.4.5.1.	Mycoparasitisme	45
4.4.5.2.	Antibiose	47
4.4.5.3.	Compétition pour les nutriments et l'espace	47
4.4.5.4.	Induction de la résistance des plantes	49
4.4.5.5.	Atténuation du stress abiotique	50
4.4.5.6.	Amélioration des paramètres physiologiques de la plante	51
4.4.5.6.1.	Production de chlorophylle	51
4.4.5.6.2.	Production d'hormones végétale	51

PARTIE II : Partie Expérimentale

Chapitre I : Isolement, identification et caractérisation de l'agent pathogène responsable du flétrissement vasculaire

1.1. Matériels et méthodes

1.1.1.	Prospection des plantes malades	52
1.1.2.	Isolement, purification et conservation de l'agent pathogène.....	54
1.1.2.1.	Isolement.....	54
1.1.2.2.	Purification des isolats et obtention des cultures monospores	54
1.1.2.3.	Conservation des isolats de l'agent pathogène	55
1.1.3.	Identification morphologique de l'agent pathogène	55
1.1.4.	Test du postulat de Koch	55
1.1.4.1.	Matériels.....	56
1.1.4.1.1.	Matériel fongique	56
1.1.4.1.2.	Matériel végétal	56
1.1.4.1.3.	Substrat	56
1.1.4.2.	Méthodes.....	56
1.1.4.2.1.	Prégermination des graines.....	56
1.1.4.2.2.	Condition de culture.....	56
1.1.4.2.3.	Dispositif expérimental.....	56
1.1.4.2.4.	Inoculation des plantules et notation des symptômes	57
1.1.4.2.5.	Réisolement du pathogène.....	57
1.1.5.	Identification moléculaire des isolats de l'agent pathogène.....	57
1.1.5.1	Extraction de l'ADN génomique des isolats.....	57
1.1.5.2	Etape de PCR.....	60
1.1.5.2.1	Préparation du Master-Mix.....	60
1.1.5.2.2	Amplification du gène EF1-alpha.....	60
1.1.5.3.	Electrophorèse sur gel d'agarose.....	60
1.1.5.4.	Purification des produits PCR.....	61
1.1.5.5.	Séquençage des produits PCR et traitements bio-informatiques.....	61
1.1.6.	Caractérisation morphologique de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	61
1.1.6.1.	Caractérisation culturale et microscopique.....	61
1.1.6.2.	Mesure de la taille des conidies	62
1.1.6.3.	Évaluation de la sporulation.....	62
1.1.7.	Identification des races physiologiques de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> ...	62
1.1.7.1.	Extraction de l'ADN génomique.....	63
1.1.7.2.	Amplification de l'ADN spécifique par PCR.....	63
1.1.7.3.	Électrophorèse et visualisation des bandes d'ADN amplifié.....	64

1.2. Résultats et discussion

1.2.1.	Mode de semis et symptômes de flétrissement vasculaire.....	65
1.2.2.	Identification morphologique des isolats	67
1.2.2.1.	Caractères macroscopiques	67

1.2.2.2.	Caractères microscopiques.....	69
1.2.3.	Vérification des postulats de Koch.....	70
1.2.4.	Séquençage des produits PCR et traitements biostatistiques.....	73
1.2.5.	Variabilité culturale et morphologique de <i>FOC</i>	78
1.2.5.1.	Variabilité culturale sur milieu de culture PDA.....	78
1.2.5.2.	Variabilité morphologique sur milieu PDA.....	80
1.2.5.2.1.	Variation du diamètre des colonies et de la croissance mycélienne.....	80
1.2.5.2.2.	Analyse morphométrique des conidies.....	82
1.2.5.2.3.	Variation de la sporulation.....	82
1.2.6.	Identification des races physiologiques de <i>FOC</i>	84
1.2.6.1.	Électrophorèse et visualisation des bandes d'ADN amplifié.....	84
1.3	Conclusion.....	86

PUBLICATION

Chapitre II : Lutte biologique contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* par *Trichoderma* spp.

2.1. Matériels et Méthodes

2.1.1.	Zone d'échantillonnage	88
2.1.2.	Méthode de prélèvement et de traitement des échantillons de sol.....	89
2.1.3.	Isolement des <i>Trichoderma</i>	90
2.1.3.1.	Préparation des suspensions dilutions et ensemencement des milieux	90
2.1.3.2.	Purification des isolats et obtention des cultures monospores.....	92
2.1.3.3.	Conservation des isolats de <i>Trichoderma</i>	92
2.1.4	Identification de <i>Trichoderma</i> spp.	92
2.1.4.1.	Identification morphologique.....	92
2.1.4.1.1.	Caractères microscopiques	92
2.1.4.1.2.	Morphologie générale de <i>Trichoderma</i> spp. sur milieu de culture PDA.....	93
2.1.5.	Etude <i>in vitro</i> du pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i> vis-à-vis de <i>FOC</i>	93
2.1.5.1.	Matériels.....	93
2.1.5.1.1.	Matériel fongique.....	93
2.1.5.1.1.1	Isolat de <i>FOC</i>	93
2.1.5.1.1.2	Isolats de <i>Trichoderma</i> spp.	93
2.1.5.2.	Test d'antagonisme <i>in vitro</i>	93
2.1.5.2.2.	Test de mycoparasitisme.....	93
2.1.5.2.2.1.	Évaluation de l'inhibition de la croissance mycélienne du parasite.....	94
2.1.5.2.2.2.	Evaluation du mycoparasitisme.....	95
2.1.5.2.2.2.1.	Microscopie des interactions mycoparasitaires entre <i>Trichoderma</i> et <i>FOC</i>	96
2.1.6.	Etude <i>in vivo</i> du pouvoir antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp. contre <i>FOC</i>	96
2.1.6.1.	Matériels.....	96
2.1.6.1.1.	Pathogène	96
2.1.6.1.2.	<i>Trichoderma</i> spp.	97
2.1.6.1.3.	Matériel végétal.....	97

2.1.6.3.	Méthodes.....	97
2.1.6.3.1.	Préparation des semences de pois chiche.....	97
2.1.6.3.2.	Préparation du sol.....	97
2.1.6.3.3.	Semis des graines.....	97
2.1.6.3.4.	Préparation de l'inoculum de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	98
2.1.6.3.5.	Préparation de l'inoculum de <i>Trichoderma</i> spp.....	98
2.1.6.3.6.	Inoculation des plantules.....	98
2.1.6.3.7.	Dispositif expérimental.....	98
2.1.6.3.8.	Notation de la maladie.....	99
2.1.7.	Mesure des activités enzymatiques des antagonistes et du parasite.....	99
2.1.7.1.	Production d'acide indole-3-acétique (AIA).....	99
2.1.7.1.1.	Production et quantification de l'acide indole-3-acétique (AIA).....	99
2.1.7.1.2.	Dosage colorimétrique.....	100
2.1.7.2.	Activité enzymatique des <i>Trichoderma</i>	101
2.1.7.2.1.	Criblage de l'activité cellulasique	101
2.1.7.2.2.	Évaluation de l'intensité de l'activité enzymatique.....	102
2.1.8.	Évaluation du potentiel des <i>Trichoderma</i> à stimuler la croissance des plantes	102
2.1.8.1.	Semis des graines.....	102
2.1.8.2.	Inoculation et conditions de culture des plantules.....	102
2.1.8.3.	Dispositif expérimental.....	103
2.1.8.4.	Évaluation des paramètres biochimique à l'aide du DUALEX®.....	104
2.1.8.4.1.	Principe de l'appareil DUALEX®.....	104
2.1.8.4.2.	Mesure des paramètres biochimiques des plantules inoculées avec <i>Trichoderma</i>	105
2.1.9.	Analyse statistique.....	105
2.1.10.	Identification moléculaire de <i>Trichoderma</i> spp.	106
2.1.10.1.	Extraction de l'ADN génomique	106
2.1.10.2.	Purification de l'ADN génomique.....	107
2.1.10.3.	Etape de PCR.....	107
2.1.10.3.1.	Préparation du Master-Mix.....	107
2.1.10.3.2.	Amplification du gène EF1-alpha	107
2.1.10.4.	Contrôle de la qualité de l'ADN	108
2.1.10.5.	Electrophorèse sur gel d'agarose	108
2.1.10.6.	Analyse et alignement des séquences.....	108
2.2.	Résultats et Discussion	
2.2.1.	Isolement des champignons isolées à partir des sols	109
2.2.2.	Caractérisation culturale et microscopique des isolats de <i>Trichoderma</i>	110
2.2.3	Activité antagoniste <i>in vitro</i> des <i>Trichoderma</i> spp. contre <i>FOC</i>	113
2.2.3.1.	Inhibition de la croissance mycélienne.....	113
2.2.3.2.	Évaluation du mycoparasitisme.....	116
2.2.4.	Évaluation <i>in vivo</i> du potentiel antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp. contre <i>FOC</i>	118
2.2.4.1.	Analyse de la sévérité de la maladie et évaluation de l'efficacité des traitements à base de <i>Trichoderma</i>	118

2.2.5.	Caractérisation biochimique de <i>Trichoderma</i>	121
2.2.5.1.	Production d'acide indole-acétique (AIA).....	121
2.2.5.2.	Activité cellulolytique de <i>Trichoderma</i>	122
2.2.6	Effet de <i>Trichoderma</i> spp. sur la croissance et le statut biochimique des plantules de pois chiche.....	124
2.2.6.1.	Paramètres morphométriques des plantules.....	124
2.2.6.2.	Indices biochimiques mesurés par capteur optique (Duallex®).....	126
2.2.6.2.1.	Nitrogen Balance Index (NBI).....	126
2.2.6.2.2.	Chlorophylle foliaire (Chl).....	128
2.2.6.2.3.	Flavonoïdes (Flav).....	130
2.2.7.	Identification moléculaire des isolats de <i>Trichoderma</i>	131
2.2.7.1.	Analyse de la pureté de l'ADN des isolats	131
2.2.7.2.	Vérification des produits amplifiés sur gel d'agarose	132
2.2.7.3.	Identification moléculaire de T13 et T16 par séquençage du gène EF-1 α	133
2.2.8.	Conclusion	134

Chapitre II : Étude des interactions de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* avec *Medicago truncatula*

3.1.	Introduction.....	135
3.2.	Matériels et méthodes	
3.2.1.	Matériels.....	136
3.2.1.1.	Matériel Fongique.....	136
3.2.1.2.	Matériel Végétal.....	136
3.2.1.2.1.	<i>Medicago truncatula</i>	136
3.2.1.2.2.	Pois chiche.....	136
3.2.2.	Méthodes.....	137
3.2.2.1.	Préparation des semences de <i>Medicago</i>	137
3.2.2.2.	Préparation des semences de pois chiche.....	137
3.2.2.3.	Préparation du sol.....	137
3.2.2.4.	Semis des graines.....	137
3.2.2.5.	Préparation de l'inoculum de <i>FOC</i>	138
3.2.2.6.	Inoculation des plantes.....	138
3.2.2.7.	Dispositif expérimental.....	133
3.2.2.8.	Suivi des symptômes et notation de la maladie.....	139
3.2.3.	Analyses statistiques.....	140
3.3.	Résultats et discussion	
3.3.1.	Evaluation de la maladie chez <i>M. truncatula</i>	141
3.4.	Conclusions.....	145

CONCLUSION GENERALE	147
PESPECTIVES	149
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	151
ANNEXES	186

REMERCIEMENTS

J'exprime ma profonde reconnaissance et ma sincère gratitude à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus respectueux à monsieur MAHIOUT Djamel, maitre de conférences A, mon directeur de thèse, pour la confiance qu'il m'a accordée, pour son accompagnement constant et pour la qualité de ses orientations scientifiques. Sa disponibilité, ses conseils avisés et son soutien indéfectible ont été déterminants dans l'aboutissement de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude la plus sincère.

J'exprime également mes remerciements les plus sincères au Professeur BENDAHDANE Boubekour Seddik pour son aide précieuse et ses conseils éclairés.

Je remercie chaleureusement le Professeur BOUZOUINA Mohammed, pour l'honneur qu'il me fait en présidant ce jury et en portant un regard attentif sur mon travail. J'adresse aussi toute ma gratitude aux Professeurs ZAIM Souad, DJIBAOUI Rachid et au Dr. TAIBA Ammar, qui ont accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.

Ma reconnaissance va également au Dr. DRIS Amine, de Gene Life Sciences (Sidi Bel Abbès), pour ses précieux conseils en biologie moléculaire, son aide généreuse et ses encouragements constants.

Je remercie vivement Monsieur BOUAZIZ Hocine pour son aide essentielle lors des campagnes de récolte des échantillons de pois chiche dans l'Est du pays.

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements à GAZOU Karima et au personnel du laboratoire de protection des cultures de l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour leur soutien technique et leur disponibilité.

Toute ma gratitude va à mes chers amis ELAHOUAL Houari et BOUSKHOUI Youssouf dont l'encouragement, la confiance et la présence à mes côtés ont été d'un apport inestimable. Sans eux, je n'aurais pas pu atteindre ce stade de mon parcours.

Je souhaite également remercier mes collègues de travail au sein de l'entreprise AGRO FERTI MAG pour leur soutien permanent. Une mention particulière revient à Monsieur MEGHAOUI Ahmed, gérant de l'entreprise, pour son appui constant et sa compréhension tout au long de mon cheminement doctoral

Dédicace

À mes parents,
sources inépuisables d'amour, de sagesse et de bienveillance.
C'est à votre éducation, à vos sacrifices silencieux et à votre confiance indéfectible
que je dois la force d'avoir poursuivi ce chemin.
Que cette modeste réussite soit le reflet de tout ce que vous m'avez offert.

À mon épouse,
ma lumière et mon soutien le plus fidèle.
Merci pour ta patience, ta compréhension, tes encouragements
et ta présence à chaque étape de ce parcours.
Tu as été ma force lorsque le doute s'installait.
Cette thèse t'appartient autant qu'à moi.

À mes fils,
mes plus belles motivations.
Puissiez-vous toujours suivre vos rêves avec détermination.

À mon frère et ma sœur,
pour leur affection et leur soutien de tous les instants.

À ma belle-famille,
pour leur confiance, leur respect et leur accompagnement bienveillant.

Ibrahim SEKKAL

Liste des abréviations

Chl	Chlorophylle
CMC	Carboxyméthylcellulose
DHS	Différence Hautement Significative
dpi	Days Post Inoculation
EF-1α	Elongation Factor 1-alpha
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FLIP	Food Legume Improvement Program
Flav	Flavonoïdes
FOC	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>
f. sp.	Formae specialis
ICARDA	International Center for Agricultural Research in the Dry Areas
ITIS	Integrated Taxonomic Information System
MGI	Mycoparasitic Growth Inhibition
NBI	Nitrogen Balance Index
NCBI	National Center for Biotechnology Information
PDB	Potato Dextrose Broth
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
TAE	Tampon Tris-Acetate-EDTA
Taq	ADN polymérase Taq

Tm	Température de fusion
UFC	Unité Formant Colonie
UPGMA	Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean

Liste des figures

- Figure 1** Diffusion du pois chiche dans l'Ancien Monde : en partant de son ancêtre sauvage (*C. reticulatum*) à sa culture étendue. Données archéologiques sur la présence de pois chiche et d'espèces du genre *Cicer* (Berger, 2014). Zones hachurées : aires de culture.
- Figure 2** Superficies et Production de pois chiches en Algérie (FAOSTAT, 2022)
- Figure 3** Le pois chiche, *Cicer arietinum* L. : Tige, feuille (A), Feuille composée de 16 folioles (B), Fleur zygomorphe (C), Etamines, Pistil et ovaire (D), Gousses en Développement (E), Graines (F). (Zohary et Hopf, 1988).
- Figure 4** Pois chiche de type Desi (A), et de type Kabuli (B) ([Uhttp://www.icrisat.org/tropicallegumesII/pdfs/ChickpeaManual_full.pdf](http://www.icrisat.org/tropicallegumesII/pdfs/ChickpeaManual_full.pdf)U).
- Figure 5** Morphologie du *Fusarium oxysporum*. A-B : Macroconidies ; C-D : Microconidies ; E-F : microconidies *in situ* sur milieu de culture CLA. A-D, barre d'échelle=25 µm ; E-F, barre d'échelle= 50 µm (Leslie et Summerell, 2006).
- Figure 6** Symptômes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* sur des plantes de pois chiche (Yadav et al., 2023).
- Figure 7** Syndromes de maladies causés par les pathotypes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* chez le pois chiche cultivé dans un sol artificiellement infesté après 24 jours d'incubation à 25 °C. (A) : Jaunissement causé par le pathotype "jaunissant" ; (B) : Flétrissement causé par le pathotype "flétrissant" (Jiménez-Díaz et Jiménez-Gasco, 2011).

- Figure 8** Cycle infectieux de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (Jalali et Chand, 1992).
- Figure 9** Mode d'action de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* dans le pois chiche (Suthar et al. 2021).
- Figure 10** *Medicago truncatula* (Feuilles, gousses, fleur) (Besancon, 2009)
- Figure 11** Formation de nodules fixateurs d'azote sur racine de *Medicago truncatula* après inoculation avec le microsymbiote *Sinorhizobium meliloti* (Journet et al., 2001).
- Figure 12** *Trichoderma ghanense*. (a, b) Cultures a 27 °C, 7 jours (a. sur PDA ; b. sur CMA) ; (c, d) Conidiophores et phialides; (e) Conidia (PDA, 2 jours) (Jambhulkar et al., 2024).
- Figure 13** Biostimulation directe et propriétés de biocontrôle des espèces de *Trichoderma* (Guzmán et al., 2023).
- Figure 14** Parasitisme de *Trichoderma harzianum* contre *Fusarium virguliforme* observé en microscopie optique ×20 (A et B) et en microscopie électronique à balayage ×40 (C, D, E et F) (Pimentel et al., 2022).
- Figure 15** Transformation de la forme insoluble du fer (Fe³⁺) en une forme soluble et facilement assimilable (Fe²⁺) par des sidérophores produits par *Trichoderma* (Tyśkiewicz et al., 2022).
- Figure 16** Voies de défense des plantes induites par les motifs moléculaires associés aux microbes (MAMPs /PAMPs) et les effecteurs de *Trichoderma* non pathogènes (Tyśkiewicz et al., 2022).
- Figure 17** Trois types de résistance induite chez les plantes : (A) résistance systémique acquise (SAR), (B) résistance systémique induite (ISR), et

(C) résistance induite (IR), déclenchée par *Trichoderma* espèces (éliciteur biotique). ISR et IR (Tyśkiewicz et al., 2022).

- Figure 18** Régions de prélèvements des échantillons de pois chiche.
- Figure 19** Plantes de pois chiche flétries destinées à l'isolement fongique.
- Figure 20** Etapes de l'extraction de l'ADN avec le kit NucleoSpin Plant II.
- Figure 21** Différence d'espacement entre les lignes de semis du pois chiche dans les régions du Nord-Ouest (A) et du Nord-Est (B) algérien.
- Figure 22** Dégâts sur culture de pois chiche dus à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* dans la région de Constantine (Originale, 2025).
- Figure 23** Brunissement du xylème chez le pois chiche atteint de flétrissement vasculaire.
- Figure 24** Morphotypes de *Fusarium* spp. après 8 jours sur milieu PDA.
- Figure 25** Caractères microscopiques de *Fusarium oxysporum* sur milieu PDA (×100).
- Figure 26** Flétrissement sévère observé sur des plants de pois chiche (ILC482), 30 jours après inoculation par les isolats de *Fusarium*. A : Témoin non inoculé ; B : Plants inoculés avec *Fusarium*, F1, F4, F5, F13 et F20 représentent les codes des isolats utilisés.
- Figure 27** Symptômes observés chez le pois chiche ILC482, 30 jours après inoculation avec différents isolats de *Fusarium* (A) ; (B), Plantes témoin non inoculés.

- Figure 28** Symptômes variés observés dans les racines et les tissus du xylème de la variété de pois chiche ILC482 selon l'isolat. Racine de plantes inoculées (b, c, d, e, f) ; a, Racine d'une plante non inoculé (Témoin).
- Figure 29** Dendrogramme des espèces responsables du flétrissement vasculaire obtenu par la méthode UPGMA. L'arbre consensus bootstrap, généré à partir de 1000 répliquats (Tamura et al., 2004), représente l'histoire évolutive des taxons analysés.
- Figure 30** Répartition géographique des espèces de *Fusarium* isolées à partir du pois chiche en Algérie, obtenue à l'aide du logiciel ArcGIS. Les chiffres indiqués après les noms des espèces de *Fusarium* correspondent au nombre d'isolats pour chaque espèce.
- Figure 31** Aspects culturels des isolats de *FOC* sur milieu PDA, après 8 jours d'incubation à 25 °C.
- Figure 32** Croissance mycélienne des isolats de *FOC* sur milieu PDA, à 25°C (moyenne $\pm$ écart-type).
- Figure 33** Sporulation des isolats de *FOC* (Moyenne $\pm$ SD et groupes homogènes) sur milieu PDA, après 10 jours d'incubation à 25°C.
- Figure 34** Amplification PCR avec l'amorce Foc0-12 spécifique à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. M : échelle d'ADN 100 pb.
- Figure 35** Amplification PCR avec l'amorce FocR6-O2 spécifique à la race 6. M : échelle d'ADN 100 pb.
- Figure 36** Sites d'échantillonnage du sol pour l'isolement de *Trichoderma* (Originale, 2025). P1, P2 et P3 : Sites de prélèvement des échantillons de sol.

- Figure 37** Opération de tamisage et sol obtenu (Originale 2025).
- Figure 38** Protocole d'isolement des *Trichoderma* sur milieu PDA et RBA.
- Figure 39** Confrontation directe entre l'agent pathogène F.O.C et *Trichoderma* sp. sur milieu PDA. T : *Trichoderma* ; FOC : *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Originale, 2025). A : (FOC) en confrontation avec l'antagoniste *Trichoderma* ; B : Témoin, FOC cultivé seul, sans antagoniste.
- Figure 40** Protocole de production d'acide indole-3-acétique (Originale, 2025).
- Figure 41** Étapes de détection de l'activité cellulastique de *Trichoderma* sur CMC-agar à l'aide du test rouge Congo (Original, 2025).
- Figure 42** Méthode d'inoculation des racines de pois chiche par *Trichoderma* (1×10^6 spores /mL) (Originale, 2025).
- Figure 43** Dispositif DUALEX® permettant la mesure des paramètres biochimiques des plantes.
- Figure 44** Méthode de notation des indices biochimiques à l'aide d'un capteur optique « DUALEX® » (Originale, 2025).
- Figure 45** Aspects morphologiques des colonies de *Trichoderma* spp. sur milieu PDA. (Originale, 2025).
- Figure 46** Aspects microscopiques des *Trichoderma* spp. Les structures du champignon sont colorées au bleu coton (x40) (Originale, 2025).
- Figure 47** Efficacité antagoniste de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de FOC 3, après 4 jours de confrontation sur milieu PDA (Originale, 2025).

- Figure 48** Evaluation comparative de l'inhibition de la croissance mycélienne (MGI) de FOC3 par les isolats de *Trichoderma*. Les lettres ^a et ^b indiquent la comparaison des moyennes pour l'effet principal des *Trichoderma* sur FOC3. Les isolats portant la même lettre appartiennent au même groupe homogène.
- Figure 49** Effet *in vitro* des isolats de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne de FOC3, 4 jours après confrontation à 25°C. Les barres au-dessus de chaque histogramme représentent l'écart-type. Les lettres différentes indiquent des différences significatives.
- Figure 50** Activité mycoparasitaire des isolats de *Trichoderma* contre FOC3 (Originale, 2025). (Sur la boîte de Pétri, le *Trichoderma* se trouve à gauche et FOC3 à droite).
- Figure 51** Manifestations du mycoparasitisme : enroulement et sporulation des hyphes de *Trichoderma* spp. autour de ceux de FOC3, accompagnées de la formation d'appressoria sur le parasite (Originale, 2025).
- Figure 52** Sévérité du flétrissement du pois chiche inoculé avec FOC3 seul ou en présence des isolats de *Trichoderma* T1, T5, T13 ou T16, après 17 jours d'inoculation.
- Figure 53** Symptômes de fusariose vasculaire chez des plantules de pois chiche traitées avec FOC3+T1, FOC3+T5, FOC+T13, FOC+T16, comparativement au témoin FOC3 (T+) et au témoin sain (T-) 17 jours post-inoculation (Originale, 2025).
- Figure 54** Production d'acide indole acétique (AIA) par FOC3 cultivé seule sur le milieu PDB et par *Trichoderma* spp. seules ou en co-culture avec FOC3 selon les traitements. Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre traitements selon le test de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

- Figure 55** Zone claire de *Trichoderma* spp. sur milieu CMC-agar, après 3 jours d'incubation à 28°C et coloration au rouge Congo (Originale, 2025).
- Figure 56** Activité cellulolytique des isolats de *Trichoderma* (T1, T5, T13, T16) cultivés sur milieu CMC-agar. Les barres représentent les moyennes $\pm$ écart-type de 5 répétitions.
- Figure 57** Croissance du système aérien (cm), 50 jours après l'inoculation avec *Trichoderma*.
- Figure 58** Longueur de la racine principale (cm), 50 jours après l'inoculation avec *Trichoderma*.
- Figure 59** Variation temporelle de l'indice de balance azotée (NBI) chez le pois chiche selon les traitements (plantules témoins non inoculées (T-) et plantules inoculées avec *Trichoderma*.
- Figure 60** Variation temporelle de l'indice de chlorophylle (Chl) chez le pois chiche selon les traitements (plantules témoins non inoculées (T-) et plantules inoculées avec *Trichoderma*.
- Figure 61** Variation temporelle de l'indice de flavonoïdes (Flav) chez le pois chiche selon les traitements (plantules témoins non inoculées (T-) et plantules inoculées avec *Trichoderma*.
- Figure 62** Profil électrophorétique sur gel d'agarose indiquant l'amplification par PCR des régions EF-728F et EF-2 de l'ADN des isolats T13 et T16. M= marqueur moléculaire 100 pb.
- Figure 63** Semences de *M. truncatula*
- Figure 64** Protocole de préparation de l'inoculum de *FOC* pour l'inoculation des plantules.

- Figure 65** Inoculation en laboratoire des plantules de pois chiche et *M. truncatula* avec l'inoculum de FOC3.
- Figure 66** Evolution dans le temps des symptômes de la fusariose vasculaire chez les plantules de pois chiche (ILC 3279) inoculées avec FOC3 comparativement au témoin non inoculé.
- Figure 67** Evolution dans le temps des symptômes de la fusariose vasculaire chez deux lignées de *M. truncatula* (A17 et F80005.5) inoculées avec FOC3.
- Figure 68** Comparaison en fonction du temps de l'indice de maladie chez le pois chiche (ILC 3279) et les deux lignées de *Medicago truncatula* inoculés par FOC3 (moyenne $\pm$ Ecart-type).
- Figure 69** Dynamique de la maladie induite par FOC3 chez le pois chiche ILC3279 et *Medicago* (A17 et F83005.5).

Liste des tableaux

Tableau 1	Superficie et production mondiale de pois chiches par pays (FAO, 2022).
Tableau 2	Caractéristiques des principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie (ITGC, 2018).
Tableau 3	Principales maladies fongiques du pois chiche dans le monde.
Tableau 4	Principales maladies virales affectant le pois chiche dans le monde.
Tableau 5	Caractéristiques morphologiques des spores de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> (El Aoufir, 2001).
Tableau 6	Classification botanique de <i>Medicago truncatula</i> Gaertn (ITIS, 2011).
Tableau 7	Répartition des populations de <i>Medicago truncatula</i> provenant de divers pays et conservées dans les collections génétiques internationales.
Tableau 8	Principales espèces fongiques provoquant des réactions différentielles parmi les différentes populations de <i>Medicago truncatula</i> .
Tableau 9	Etudes illustrant la variabilité naturelle de la réponse de <i>Medicago truncatula</i> aux agents pathogènes de légumineuses.
Tableau 10	Localisation des champs de pois chiche prospecté dans le nord-est et le nord-Ouest algérien.

Tableau 11	Séquences des amorces spécifiques utilisées pour l'identification des races de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> (Jiménez-Gasco et Jiménez-Díaz, 2003).
Tableau 12	Caractéristiques culturales des isolats de <i>Fusarium</i> spp.
Tableau 13	Identification des isolats de <i>Fusarium</i> , similarité de leurs séquences <i>EF-1α</i> avec les souches de référence du NCBI, et leurs numéros d'accès correspondants.
Tableau 14	Caractéristiques culturales des isolats de FOC après 8 jours d'incubation à 25°C et en obscurité sur PDA.
Tableau 15	Dimensions des Macroconidies des isolats de FOC, après 10 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA.
Tableau 16	Dimensions des Microconidies des isolats de FOC, après 10 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA.
Tableau 17	Profil d'amplification race-spécifique des isolats FOC3, FOC5 et FOC6.
Tableau 18	Sites d'échantillonnage du sol pour l'isolement de <i>Trichoderma</i> spp.
Tableau 19	Echelle d'évaluation du mycoparasitisme (Elías et al., 1993).
Tableau 20	Echelle d'évaluation de la sévérité de la maladie (Landa et al., 2004).
Tableau 21	Isolats fongiques obtenus à partir des sols après isolement sur milieu de culture PDA et RBA.
Tableau 22	Caractères morphologiques et microscopiques des isolats de <i>Trichoderma</i> sur milieu de culture PDA.

Tableau 23 Résultats du dosage de la concentration de l'ADN

Tableau 24 Echelle d'évaluation de la sévérité de la maladie.

Résumé

Le flétrissement vasculaire constitue l'une des principales contraintes phytosanitaires de la culture du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) en Algérie. Principalement associé à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), ce complexe pathologique nécessite le développement de stratégies de gestion durables. Cette étude vise à caractériser les *Fusarium* associés au flétrissement vasculaire du pois chiche en Algérie, à évaluer le potentiel de souches locales de *Trichoderma* comme agents de lutte biologique et à étudier les interactions entre FOC et *Medicago truncatula*, plante modèle des légumineuses.

Des plantes de pois chiche symptomatiques ont été échantillonnées dans 11 wilayas algériennes, puis les isolats de *Fusarium* obtenus ont été caractérisés par des approches morphologiques, moléculaires et de pathogénicité. Des isolats locaux de *Trichoderma* issus de sols de l'Est algérien ont été évalués *in vitro* et *in vivo* pour leurs activités antagonistes et biostimulantes. Parallèlement, la réponse de deux génotypes de *M. truncatula*, A17 et F83005.5, à l'inoculation par FOC a été étudiée afin d'évaluer leur niveau de tolérance.

Les analyses ont mis en évidence deux principaux agents associés au flétrissement vasculaire du pois chiche, *F. redolens*, détecté majoritairement et exclusivement dans l'Ouest du pays, et le FOC, identifié dans l'Est. La caractérisation moléculaire des isolats de FOC a notamment permis d'identifier la race 6. Lors des tests de lutte biologique contre FOC, les isolats T13 et T16 (issus des sols de la région Est et identifiés comme *T. harzianum*) se sont distingués par une inhibition de 70 % de la croissance mycélienne du pathogène et une forte capacité de mycoparasitisme *in vitro*, atteignant le grade 4 sur l'échelle de parasitisme utilisée. L'évaluation de leur activité cellulolytique sur milieu de culture CMC a révélé une variabilité marquée : alors que les autres isolats en sont dépourvus, T16 se distingue par une zone claire de 74,8 mm $\pm$ 2,6 traduisant un indice d'hydrolyse élevé (IH = 0,95), tandis que T13 présente une activité modérée avec une zone de 15,9 mm $\pm$ 0,87 (IH = 0,46). Sur le plan hormonal, une dynamique inverse a été observée : T13 a affiché la plus forte production d'acide indole-3-acétique (15,96 μ g/mL), tandis que T16 a présenté la plus faible (6,8 μ g/mL) par rapport à l'ensemble des isolats testés. *In vivo*, ces deux isolats ont réduit d'environ 25 % la sévérité de la maladie, tout en améliorant plusieurs paramètres physiologiques et de croissance des plantules de pois chiche. Enfin, l'inoculation de *M. truncatula* par FOC a révélé une réponse contrastée, caractérisée par la sensibilité du génotype A17 et la tolérance du génotype F83005.5.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel de souches locales de *T. harzianum* pour intégrer une stratégie de lutte biologique contre le flétrissement vasculaire du pois chiche. Ils établissent également un pathosystème fonctionnel FOC–*M. truncatula*, ce dernier constituant un modèle pertinent pour approfondir l'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans la résistance ou la tolérance de la plante hôte. De plus, les données obtenues sur cette plante modèle pourront être extrapolées au pois chiche.

Mots-clés : *Cicer arietinum* L. ; Flétrissement vasculaire ; *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* ; Lutte biologique, *Trichoderma* spp. ; Interactions plante-pathogène ; *Medicago truncatula*.

Abstract

Vascular wilt is one of the major phytosanitary constraints affecting chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivation in Algeria. Mainly associated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), this disease complex requires the development of sustainable management strategies. This study aims to characterize the *Fusarium* species associated with chickpea vascular wilt in Algeria, to evaluate the potential of local *Trichoderma* strains as biological control agents, and to investigate the interactions between FOC and *Medicago truncatula*, a model legume plant.

Symptomatic chickpea plants were sampled from 11 Algerian provinces, and the obtained *Fusarium* isolates were subsequently characterized using morphological, molecular, and pathogenicity approaches. Local *Trichoderma* isolates obtained from soils in eastern Algeria were evaluated *in vitro* and *in vivo* for their antagonistic and biostimulant activities. In parallel, the response of two *M. truncatula* genotypes, A17 and F83005.5, to FOC inoculation was investigated to assess their level of tolerance.

The analyses revealed two main agents associated with chickpea vascular wilt: *F. redolens*, detected predominantly and exclusively in western Algeria, and FOC, identified in the eastern region. Molecular characterization of the FOC isolates notably allowed the identification of race 6. In biological control assays against FOC, isolates T13 and T16 (obtained from soils of the eastern region and identified as *T. harzianum*) stood out by inhibiting 70% of the pathogen's mycelial growth and exhibiting a strong *in vitro* mycoparasitic capacity, reaching grade 4 on the parasitism scale used. Evaluation of their cellulolytic activity on CMC culture medium revealed marked variability: while the other isolates lacked such activity, T16 was distinguished by a clear zone of 74.8 ± 2.6 mm, reflecting a high hydrolysis index (HI = 0.95), whereas T13 exhibited moderate activity, with a clear zone of 15.9 ± 0.87 mm (HI = 0.46). At the hormonal level, an opposite trend was observed: T13 showed the highest production of indole-3-acetic acid ($15.96 \mu\text{g/mL}$), whereas T16 exhibited the lowest production ($6.8 \mu\text{g/mL}$) among all tested isolates. *In vivo*, these two isolates reduced disease severity by approximately 25%, while improving several physiological and growth parameters of chickpea seedlings. Finally, inoculation of *M. truncatula* with FOC revealed a contrasting response, characterized by the susceptibility of genotype A17 and the tolerance of genotype F83005.5.

These results highlight the potential of local *T. harzianum* strains for integration into a biological control strategy against chickpea vascular wilt. They also establish a functional FOC–*M. truncatula* pathosystem, with the latter constituting a relevant model for further investigation of the molecular mechanisms involved in host plant resistance or tolerance. Furthermore, the data obtained using this model plant may be extrapolated to chickpea.

Keywords: *Cicer arietinum* L.; Vascular wilt; *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*; Biological control; *Trichoderma* spp.; Plant–pathogen interactions; *Medicago truncatula*.

الملخص

يُعدّ الذبول الوعائي أحد أهم القيود الصحية النباتية التي تواجه زراعة الحمص (*Cicer arietinum* L.) في الجزائر. ويرتبط هذا المرض بشكل رئيسي بالفطر *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)، مما يستدعي تطوير استراتيجيات مستدامة لمكافحته. تهدف هذه الدراسة إلى توصيف أنواع *Fusarium* المرتبطة بالذبول الوعائي للحمص في الجزائر، وتقييم إمكانات سلالات محلية من *Trichoderma* كعوامل للمكافحة البيولوجية، بالإضافة إلى دراسة التفاعلات بين FOC و *Medicago truncatula* باعتبارها نباتاً نموذجياً للبقوليات.

تم جمع عينات من نباتات الحمص التي تظهر عليها أعراض المرض من 11 ولاية جزائرية، ثم تم توصيف عزلات *Fusarium* المتحصل عليها باستخدام مقاربات مورفولوجية وجزيئية واختبارات القدرة الإمراضية. كما تم تقييم عزلات محلية من *Trichoderma*، معزولة من ترب شرق الجزائر، *in vitro* و *in vivo* من حيث نشاطها التضادي والمحفز للنمو. وبالتوازي مع ذلك، تمت دراسة استجابة نمطين وراثيين من *M. truncatula*، وهما A17 و F83005.5، للتلقيح ب FOC بهدف تقييم مستوى تحملهما.

أظهرت التحاليل وجود عاملين رئيسيين مرتبطين بالذبول الوعائي للحمص، وهما *F. redolens*، الذي تم رصده بشكل غالب وحصري في غرب البلاد، و FOC الذي تم تحديده في الشرق. كما سمح التوصيف الجزيئي لعزلات FOC بتحديد العرق 6. وخلال اختبارات المكافحة البيولوجية ضد FOC، تميزت العزلات T13 و T16، المعزولتان من ترب المنطقة الشرقية والمُعَرَّفَتان على أنهما *T. harzianum*، بقدرتهما على تثبيط النمو الميسيليومي للمرض بنسبة 70%، وبقدرة عالية على التطفل الفطري *in vitro*، حيث بلغتا الدرجة 4 وفق سلم التطفل المستخدم. وأظهر تقييم نشاطهما السيلولوليتي على وسط الزرع CMC تبايناً واضحاً؛ ففي حين افترقت العزلات الأخرى إلى هذا النشاط، تميزت T16 بمنطقة شفاة بلغت 2.6 ± 74.8 مم، مما يعكس مؤشر تحلل مائي مرتفعاً ($IH = 0.95$)، بينما أظهرت T13 نشاطاً متوسطاً بمنطقة بلغت 0.87 ± 15.9 مم ($IH = 0.46$). وعلى المستوى الهرموني، لوحظت ديناميكية عكسية، حيث سجلت T13 أعلى إنتاج لحمض الإندول-3-أسيستيك (15.96 ميكروغرام/مل)، بينما سجلت T16 أدنى إنتاج (6.8 ميكروغرام/مل) مقارنة بجميع العزلات المختبرة. أما *in vivo*، فقد خفضت هاتان العزلات شدة المرض بحوالي 25%، مع تحسين العديد من المؤشرات الفسيولوجية ومؤشرات نمو بادرات الحمص. وأخيراً، كشف تلقيح *M. truncatula* ب FOC عن استجابة متباينة، تميزت بحساسية النمط الوراثي A17 وتحمل النمط الوراثي F83005.5.

تُبرز هذه النتائج إمكانات السلالات المحلية من *T. harzianum* لإدماجها ضمن استراتيجيات للمكافحة البيولوجية ضد الذبول الوعائي للحمص. كما تُثبت وجود نظام مرضي وظيفي FOC-*M. truncatula*، حيث يمثل هذا الأخير نموذجاً مناسباً لتعميق دراسة الآليات الجزيئية المتدخلة في مقاومة أو تحمل النبات العائل. بالإضافة إلى ذلك، يمكن تعميم البيانات المتحصل عليها باستخدام هذا النبات النموذجي على الحمص.

الكلمات المفتاحية : *Cicer arietinum* L. ؛ الذبول الوعائي؛ *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*؛
المكافحة البيولوجية؛ *Trichoderma* spp.؛ تفاعلات النبات-الممرض؛ *Medicago truncatula*.

Introduction générale

Introduction générale

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L., 1753), légumineuse annuelle majeure de la famille des Fabaceae, est la troisième la plus produite au monde après le pois potager (*Pisum sativum* L.) et l'haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) (Rasheed et al., 2021 ; Grasso et al., 2022). Cultivée principalement en zones méditerranéennes et semi-arides, elle contribue à la sécurité alimentaire et à la durabilité agricole grâce à sa richesse protéique, ses fibres, minéraux essentiels et sa fixation symbiotique d'azote (jusqu'à 100 kg N/ha) (Singh et al., 2022).

Cette légumineuse contribue à l'amélioration de la fertilité des sols, en réduisant les besoins en engrais azotés, et participe à la lutte contre l'érosion et au phénomène de la diversification des rotations culturales.

La culture du pois chiche occupe une place majeure en Algérie, avec une superficie cultivée estimée à 36 520 hectares en 2022, principalement dans les Hautes Plaines. La production a atteint 38 818 tonnes, ce qui place l'Algérie au 15^e rang mondial parmi les 48 pays producteurs (FAO, 2022). Malgré cela l'Algérie recourt chaque année à des importations de quantités importantes de pois chiche afin de répondre à une demande en constante augmentation. En 2024, les dépenses d'importations ont atteint environ 165,8 millions USD, plaçant le pays parmi les principaux importateurs mondiaux (World's Top Exports, 2024).

Le pois chiche est vulnérable aux stress abiotiques (hydrique, salinité ...etc) et aux stress biotiques représentés surtout par des maladies parasitaires pouvant compromettre son développement et entraîner des pertes de rendement allant jusqu'à 70 à 100 % (Pande et al., 2009).

Le flétrissement vasculaire, causé par un champignon tellurique appelé *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), constitue l'une des principales menaces à la culture du pois chiche. Ce parasite est capable de persister sous forme de chlamydospores plusieurs années dans le sol. Il infecte la plante *via* son système racinaire, provoquant l'obstruction progressive du xylème et l'effondrement des fonctions hydriques de la plante. Les pertes de rendement peuvent atteindre 80 % (Jiménez-Díaz et al., 2015).

La gestion de FOC est rendue complexe à cause de sa grande diversité génétique et physiopathologique. En outre, sa coexistence de celui-ci avec des espèces

phylogénétiquement proches comme *Fusarium redolens* génère des profils épidémiques contrastés et des comportements pathogéniques similaires (Edel-Hermann & Lecomte, 2019). Cette complexité, combinée à la capacité du pathogène à survivre durablement dans le sol, limitent l'efficacité des méthodes de lutte conventionnelles.

La lutte biologique utilisant des microorganismes antagonistes s'est révélée particulièrement efficace dans la gestion des maladies fongiques des plantes. Des bactéries comme *Bacillus* spp. et *Pseudomonas* spp. et des champignons tels que *Trichoderma* spp. exercent leur activité antagoniste via plusieurs phénomènes : antibiose, mycoparasitisme, compétition pour les substances nutritives, induction des défenses naturelles de la plante et promotion de la croissance végétale (Compant et al., 2005; Harman et al., 2004). Les microorganismes antagonistes contribuent à réduire l'incidence et la sévérité des maladies, tout en offrant une alternative écologique aux pesticides chimiques (Whipps, 2001).

De nombreuses études ont mis en évidence une réduction de l'impact des fusarioses grâce à différents traitements biologiques ou approches de lutte. Haque et al. (2025) ont mis au point une formulation à base de *Trichoderma harzianum* qui réduit la gravité du flétrissement de 55-84% tout en augmentant le rendement de la culture du pois chiche de 31 à 40%. En conditions de champ, Khan et al. (2004) ont montré qu'un traitement combinant *Trichoderma harzianum* et *Pseudomonas fluorescens* réduit la sévérité du flétrissement de 66%. Dans les mêmes conditions, en plein champ, dans la région de Huelva (sud-ouest de l'Espagne), Pastrana et al. (2016) ont montré que le traitement du sol avec *Trichoderma asperellum* pouvait réduire jusqu'à 81% l'incidence des pourritures du collet et des racines du fraisier causées par *Fusarium solani*, par rapport au témoin non traité. Ces résultats confirment l'adaptabilité des *Trichoderma* antagonistes au climat méditerranéen/semi-aride, proche de celui de l'Algérie.

La lutte génétique contre la fusariose vasculaire du pois chiche se heurte surtout à la grande variabilité pathogénique du pathogène qui rend les cultivars résistants rapidement surpassés malgré un déterminisme souvent monogénique.

Face à cette impasse, la légumineuse modèle, *Medicago truncatula*, s'impose comme un outil précieux pour décrypter les interactions racinaires plante-pathogène et identifier des mécanismes de défense transférables (Rispaïl et al., 2015 ; Batnini et al., 2023). *M. truncatula* est une plante diploïde ($2n = 16$), autogame, doté d'un cycle de vie

court (10–12 semaines), d'une forte production de graines, et d'un génome de taille modeste (~500 Mb) (Tang et al., 2014). Proche phylogénétiquement du pois chiche, elle pourrait permettre de transférer les connaissances sur mécanismes de défense vis-à-vis de *FOC* (gènes PR, QTL de résistance quantitative) vers *Cicer arietinum*.

Cette thèse aborde la problématique du flétrissement vasculaire du pois chiche ainsi que l'absence de méthodes de lutte efficaces contre cette maladie. Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés, en premier lieu, au pathogène *FOC* dont son identification morphologique et moléculaire, sa pathogénicité et ses races physiologiques en Algérie. En second, à l'évaluation d'un modèle de lutte biologique basé sur des souches de *Trichoderma* isolées de sols post-culture de pois chiche. En troisième lieu, à l'étude des interactions de *FOC* avec *M. truncatula*.

Ce document est organisé en deux parties distinctes : une revue bibliographique et une partie expérimentale renfermant respectivement 4 et 3 chapitres.

I. Partie Bibliographique

1. Généralités sur le pois chiche (*Cicer arietinum* L.)

1.1. Introduction

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L., 1753) est l'une des plus anciennes légumineuses cultivées, son origine remonte à environ 7 000 ans dans le Croissant fertile (Van Der Maesen, 1972), une région qui couvre le sud-est de la Turquie (Ladizinsky, 1975), l'Iran et les parties occidentales de l'Asie centrale (Staginnus et *al.*, 1999 ; Sharma et muehlbauer, 2007). Selon Abbo et *al.*, 2003, la domestication précoce fait du pois chiche a rendu sa culture essentielle dans le développement de l'agriculture ancienne. Cette culture s'est rapidement propagée de l'Asie du Sud-Ouest vers l'Asie du Sud et le bassin méditerranéen, régions dans lesquelles il est encore aujourd'hui largement cultivé (Figure 1).

L'expansion de la culture du pois chiche vers l'Europe remonte à l'Antiquité, en partie grâce aux échanges commerciaux entre les civilisations méditerranéennes, avant d'atteindre les Amériques et d'autres continents avec la colonisation européenne (Abbo et *al.*, 2020 ; Berger et *al.*, 2018). Actuellement, les principales zones de production de pois chiche se situent dans des régions semi-arides du monde, principalement en Inde qui assure environ 70 % de la production mondiale, suivi de pays comme le Pakistan, la Turquie, l'Australie et l'Éthiopie (Gaur et *al.*, 2019 ; FAO, 2022).

La répartition géographique du pois chiche est influencée par sa tolérance à des climats semi-arides et par ses besoins en sols bien drainés, le rendant adapté aux régions méditerranéennes, aux zones arides d'Afrique et d'Asie, ainsi qu'aux plaines australes (Berger et *al.*, 2018). L'adaptabilité de cette culture à des environnements variés est également soutenue par des pratiques de sélection visant à améliorer sa tolérance au stress hydrique et thermique, qui sont des facteurs limitant majeurs dans les régions arides (Varshney et *al.*, 2019).

Des recherches sur la diversité génétique des variétés locales et sauvages de pois chiche montrent que cette espèce possède une grande variabilité génétique, particulièrement en Asie du Sud et en Afrique de l'Est où les sous-espèces sauvages (*Cicer reticulatum* et *Cicer echinospermum*) sont encore présentes (Singh et *al.*, 2022). Cette diversité génétique est cruciale pour les programmes de sélection modernes qui visent à renforcer la résilience du pois chiche face aux contraintes abiotiques et biotiques (Varshney et *al.*, 2013 ; Varshney et *al.*, 2019 ; Singh et *al.*, 2022).

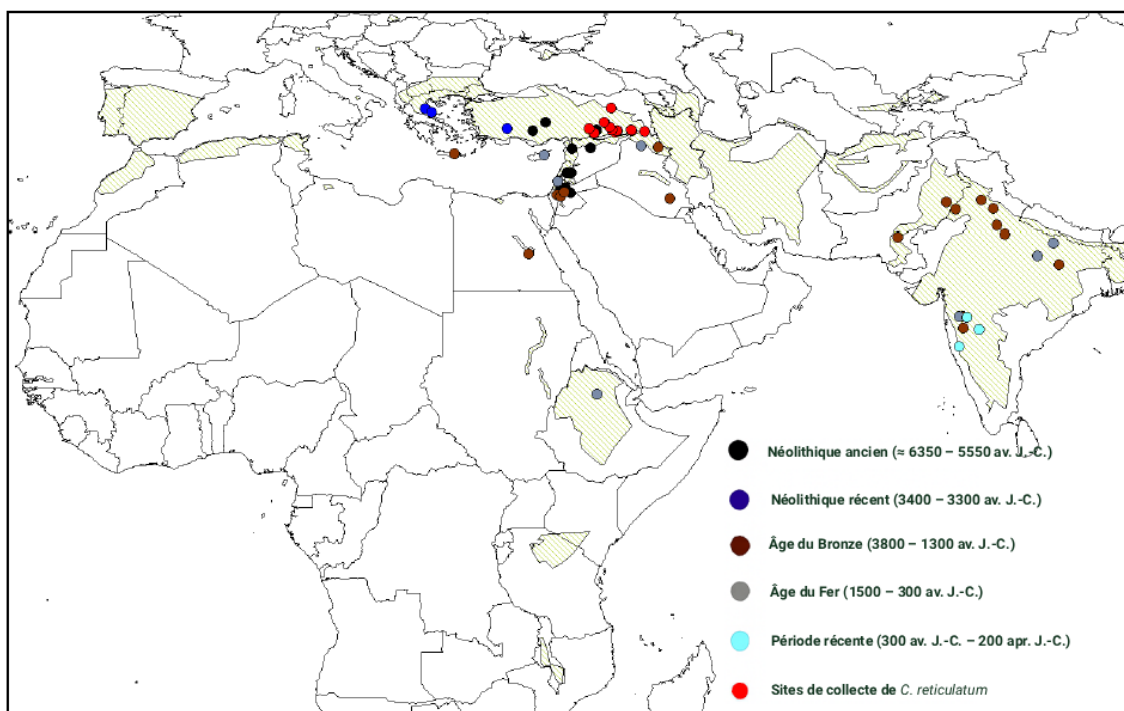


Figure 1 : Diffusion du pois chiche dans l'Ancien Monde : en partant de son ancêtre sauvage (*C. reticulatum*) à sa culture étendue. Données archéologiques sur la présence de pois chiche et d'espèces du genre *Cicer* (Berger, 2014). Zones hachurées : aires de culture.

1.2. Situation de la culture du pois chiche

1.2.1. Dans le monde

La culture du pois chiche a pris une importance accrue dans l'agriculture mondiale en raison de ses avantages nutritionnels et sa capacité à s'adapter aux conditions climatiques semi-arides. En 2022, la production mondiale de pois chiche a dépassé les 15 millions de tonnes, répartie principalement entre l'Inde, l'Australie, le Pakistan, la Turquie et l'Éthiopie (FAO, 2022) (Tableau 1). L'Inde demeure de loin le plus grand producteur et consommateur de pois chiche, représentant environ 70 % de la production mondiale. Cependant, les autres pays producteurs, comme l'Australie, jouent un rôle de plus en plus important dans le marché mondial en raison de leurs exportations vers l'Asie et le Moyen-Orient (Khinea, 2022 ; GRDC, 2025).

La croissance significative de la production de pois chiche dans des pays non traditionnellement producteurs comme l'Australie et le Canada est principalement attribuable à l'adaptation de pratiques culturelles spécifiques aux conditions locales, notamment à travers l'introduction de variétés résistantes au froid et au stress hydrique (Varshney et al., 2019 ; FAO, 2022). Ces avancées agronomiques sont étroitement liées

aux programmes de sélection génétique ciblant les contraintes abiotiques permettant l'expansion de la culture dans des zones auparavant marginales.

Tableau 1 : Superficie et production mondiale de pois chiches par pays (FAO, 2022)

Pays	Superficie (ha)	Production (tonnes)	Rendement (Kg / ha)	Production par personne (Kg)
Inde	10 943 655	11 910 000	1 088,3	8,911
Pakistan	882 718	233 934	265	1,159
Australie	606 316	876 468,13	1 445,6	34,99
Turquie	481 667	475 000	986,2	5,878
Iran	439 872	168 142,52	382,3	2,057
Birmanie	344 370	467 340,51	1 357,1	8,677
Fédération de Russie	313 039	316 840,4	1 012,1	2,157
Éthiopie	228 420	478 211,87	2 093,6	4,447
États-Unis d'Amérique	142 050	129 770	913,6	0,396
Mexique	91 953	171 967,76	1 870,2	1,379
Tanzanie	91 369	88 415,4	967,7	1,631
Argentine	78 461	84 709	1 079,6	1,904
Canada	73 600	76 192	1 035,2	2,047
Maroc	63 411	72 547	1 144,1	2,086
Syrie	63 055	36 223,2	574,5	1,981
Espagne	51 856	56 498	1 089,5	1,211
Algérie	36 520	38 818	1 062,9	0,912
Bulgarie	22 564	32 383	1 435,2	4,593
Soudan	22 490	97 172,74	4 320,7	2,382
Italie	20 025	33 541	1 675	0,555
Yémen	17 956	40 476,58	2 254,2	1,4
Grèce	11 026	17 125	1 553,1	1,59
Kazakhstan	10 990	7 238,64	658,6	0,396
Népal	9 840	11 065	1 124,5	0,379
Tunisie	9 000	9 900	1 100	0,865
Ouganda	8 843	5 330,98	602,8	0,137
Érythrée	8 663	3 667,38	423,4	0,707
Ouzbékistan	5 350	14 266,58	2 666,5	0,437
Bangladesh	4 580	5 008	1 093,4	0,03
Kenya	4 121	1 442,17	349,9	0,028
Portugal	3 288	3 208	975,7	0,312
République populaire de Chine	2 949	16 020,78	5 431,9	0,011
Liban	2 876	2 995,95	1 041,7	0,492
Égypte	2 083	6 142,21	2 948,9	0,063
Togo	2 022	1 506,38	745,2	0,205
Bosnie-Herzégovine	1 684	5 285,1	3 138,1	1,397

Parallèlement, la demande mondiale en pois chiche connaît une croissance continue, stimulée par l'évolution des régimes alimentaires vers une consommation accrue de protéines végétales. En Europe et en Amérique du Nord, le pois chiche est de plus en plus valorisé dans des produits transformés comme le houmous, les farines sans gluten et les aliments végétariens (Wallace et *al.*, 2016 ; Rehm et *al.* 2023 ; Makhloufi, et *al.*, 2024).

1.2.2. En Algérie

La culture du pois chiche en Algérie revêt d'une grande importance économique et sociale. Il joue un rôle crucial dans la sécurité alimentaire et les systèmes agricoles. Les surfaces cultivées en pois chiche varient au fil des ans, mais la légumineuse reste un pilier des cultures pluviales dans les régions semi-arides du pays.

Historiquement, la production de pois chiches en Algérie a atteint un niveau record de 40,4 Mt en 2019 et un minimum historique de 5,00 Mt en 1962 (Figure 2). Durant la campagne 2022, la production a atteint 38,0 mille tonnes (FAO, 2022). Avec ce volume de production, l'Algérie s'est classée au 15^e rang parmi 48 pays producteurs.

Cependant, l'Algérie se voit obligée d'importer chaque année des quantités considérables de pois chiche afin de répondre à une demande en constante augmentation. En 2024, les dépenses d'importations ont atteint environ 165,8 millions USD, plaçant le pays parmi les principaux importateurs mondiaux (World's Top Exports, 2024). L'expansion des superficies cultivées et l'amélioration des rendements pourraient contribuer à réduire la facture.

1.2.2.1. Zones propices à la culture du pois chiche

Le pois chiche se distingue par sa bonne résistance à la sécheresse grâce à son système racinaire pivotant. Cependant, il s'adapte mal aux environnements fortement humides, aux sols salins, ou aux sols saturés d'eau.

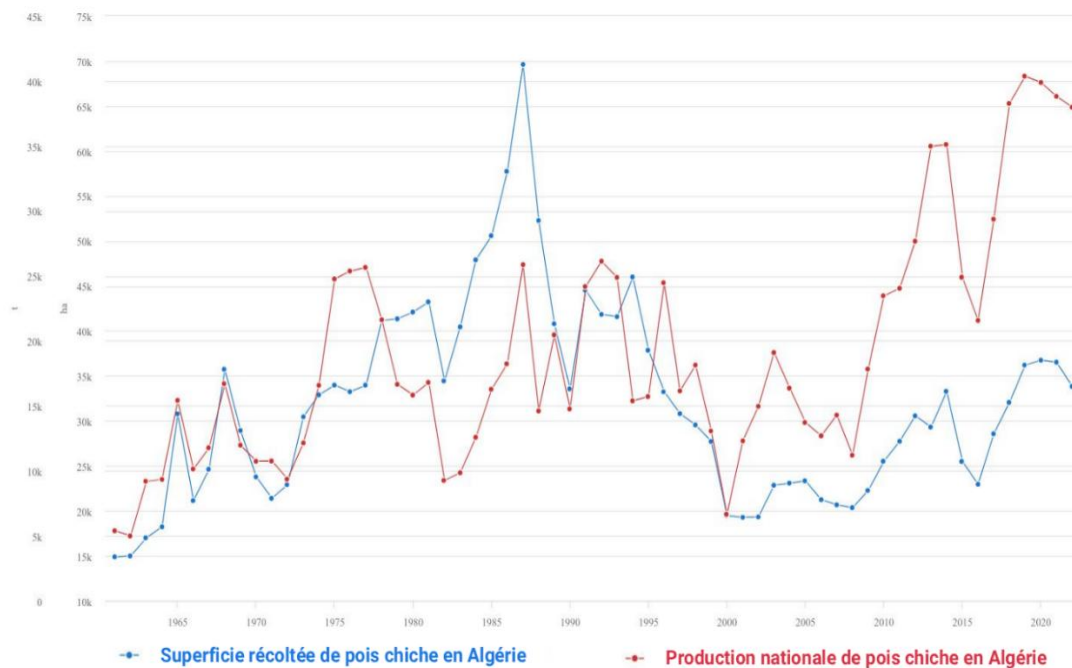


Figure 2 : Superficies et Production de pois chiches en Algérie (FAOSTAT, 2022).

En Algérie (ITGC, 2018), les régions favorables à sa culture se situent principalement :

- **À l'Ouest** : les plaines de Tlemcen, Ain Témouchent, Sidi Bel Abbès, la plaine de Ghris, et le bas Chélif, ainsi que les Hauts Plateaux de Saida et de Tiaret.
- **À l'Est** : les plaines de Skikda, Annaba et El Tarf, ainsi que les zones intérieures de Mila, Constantine et Guelma, offrent des sols fertiles et bien drainés, avec des climats allant du semi-aride au subhumide.

Le pois chiche de printemps est principalement cultivé dans le Nord-Ouest, le Centre et le Nord-Est, tandis que le pois chiche d'hiver est davantage implanté dans les Hauts Plateaux des régions de l'Est, du Centre et de l'Ouest.

1.2.2.2. Principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie

Le choix de variétés de pois chiche doit tenir compte de leur adaptation aux conditions agro-écologiques locales, des exigences en termes de qualité culinaire et du potentiel de rendement de chaque variété. Le tableau 2 illustre certaines caractéristiques des variétés actuellement cultivées en Algérie.

Tableau 2 : Caractéristiques des principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie (ITGC, 2018).

	Variétés	Type	Caractéristiques
Variétés locales	Ain Témouchent, Sebdou, Rabat 9	Kabuli	Port étalé, semi-précoce, sensible à l'anthracnose et au flétrissement. Faible productivité, à semer au printemps. Bonne valeur culinaire.
Variétés en multiplication	Chetoui 1 (ILC 32 79)	Gulabi	Port très érigé, hauteur élevée, tardive. Tolérante à l'anthracnose, sensible au flétrissement. Bonne productivité, à semer en hiver. Valeur culinaire assez bonne.
	Beni Chograne (Flip 84 92c) Seraidi (Flip 90-13 C)	Kabuli	Port semi-érigé, semi-tardif. Tolérante à l'anthracnose, à semer en hiver.
	Oued Rhumel (Ghab 04), Ain Zada (Ghab 05)	Kabuli	-
Variétés nouvellement introduites	Souagui, Makerra, Béni Aziz, Béni Hamiden, El Ogbane, Tafna, Tikjda		

1.3. Botanique

1.3.1. Taxonomie de la plante

Le pois chiche, connu sous le nom scientifique de *Cicer arietinum* L., appartient à la famille des Fabaceae (ou leguminosae), qui est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs. Le genre *Cicer* comprend environ 45 espèces dont *Cicer arietinum* est la seule espèce cultivée pour la consommation humaine et la plus économiquement significative (Muehlbauer et Sarker, 2018).

La classification taxonomique du pois chiche est la suivante (ITIS, 2011) :

Règne	<u>Plantae</u>	- plantes, Végétal,
Sous-règne	<u>Viridae plantae</u>	- plantes vertes
Infra-règne	<u>Streptophyta</u>	- plantes terrestres -
Division	<u>Tracheophyta</u>	- plantes vasculaires, trachéophytes
Sub-division	<u>Spermatophytina</u>	- spermatophes, phanérogames
Infra-division	<u>Angiosperme</u>	- plantes à fleurs, angiospermes, plantes à fruits
Classe	<u>Magnoliopsida</u>	- dicotylédones vraies
Sous-classe	<u>Rosanae</u>	
Ordre	<u>Fabales</u>	
Famille	<u>Fabaceae</u>	- légumineuses
Genre	<i>Cicer</i>	
Espèce	<i>Cicer arietinum</i> L.	– pois chiche

1.3.2. Caractères morphologiques

Le pois chiche montre plusieurs caractères botaniques distinctifs qui le différencient des autres légumineuses (Figure 3).

La plante est généralement dressée. Elle peut atteindre une hauteur de 30 à 70 cm. Les feuilles sont composées, alternées et comprennent généralement 5 à 9 folioles (Ladinsky et Abbo, 2015). Les fleurs qui apparaissent dans les aisselles des feuilles sont généralement de couleur blanche ou violette. Chacune peut donner naissance à une gousse contenant 1 à 3 graines (Ladinsky et Abbo, 2015).

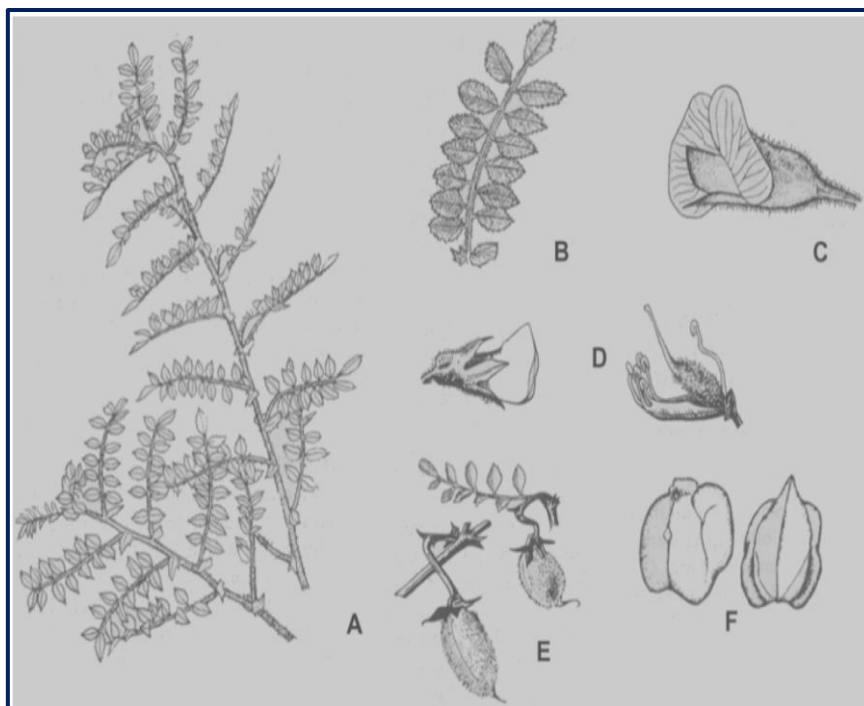


Figure 3 : Le pois chiche, (*Cicer arietinum* L.) : Tige, feuille (A), Feuille composée de 16 folioles (B), Fleur zygomorphe (C), Etamines, Pistil et ovaire (D), Gousses en Développement (E), Graines (F) (Zohary et Hopf, 1988).

1.4. Types de pois chiche

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est classé principalement en deux types : Kabuli et Desi (Figure 4). Chacun des types présente des caractéristiques distinctes qui influencent leur culture, leur utilisation et leur adaptabilité aux différentes conditions environnementales.

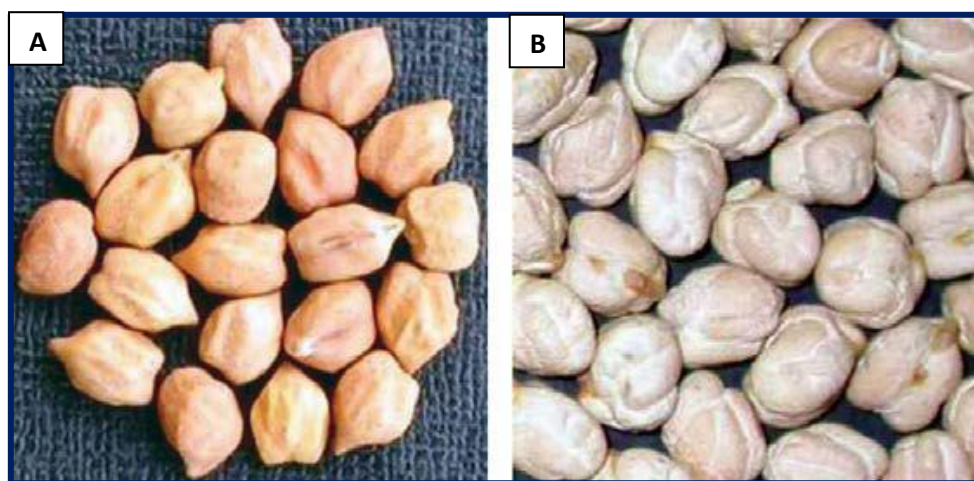


Figure 4 : Pois chiche de type Desi (A), et de type Kabuli (B).
([Uhttp://www.icrisat.org/tropicallegumesII/pdfs/ ChickpeaManual_full.pdf](http://www.icrisat.org/tropicallegumesII/pdfs/ChickpeaManual_full.pdf)U).

1.4.1. Pois chiche Kabuli

Le pois chiche de type Kabuli, aussi appelé *macrosperma*, se distingue par ses graines de grande taille, généralement de couleur claire (beige à blanc crème). Il est largement cultivé dans les régions méditerranéennes, en Afrique du Nord mais aussi en Inde. Ses graines, mesurant entre 15 et 20 mm (Wood et *al.*, 2021).

Contrairement au type Desi, le Kabuli est généralement moins tolérant au stress biotique, notamment le flétrissement vasculaire (Haware et *al.*, 1992 ; Sharma et *al.*, 2010 ; Ayana et *al.*, 2019).

1.4.2. Pois chiche Desi

Le pois chiche de type Desi, également appelé *microsperma*, se distingue morphologiquement et fonctionnellement par ses graines de petite taille (5 à 10 mm de diamètre) et leur coloration foncée, variant du brun au noir (Wood et *al.*, 2021).

Sur le plan agronomique, le pois chiche Desi se distingue par sa résistance accrue au stress hydrique, aux maladies et aux conditions climatiques défavorables. Cette robustesse génétique a conduit au développement de cultivars performants, tels que le *NDC 2009* et *ICCV 10*, qui ont démontré une bonne adaptation aux zones arides et semi-arides (Gaur et *al.*, 2019).

1.5. Importance du pois chiche

1.5.1. Valeur nutritionnelle

Le pois chiche présente une grande importance nutritionnelle et socio-économique. Il est largement consommé à travers le monde en tant qu'aliment de base. Il se distingue par sa richesse en protéines végétales (19 à 25 % du poids sec) (Wallace, 2016 ; Muehlbauer et Sarker, 2018 ; Kumar et *al.*, 2025).

Bien que ses protéines soient déficientes en méthionine, cette carence peut être compensée par une combinaison avec des céréales, permettant ainsi de fournir un profil en acides aminés complet (Duranti, 2006 ; Wallace, 2016).

Sur le plan micronutritionnel, le pois chiche est riche en minéraux essentiels tels que le fer, le magnésium, le potassium et le zinc, contribuant notamment à la prévention de l'anémie (Gaur et *al.*, 2019). Par ailleurs, le pois chiche contient des vitamines du

groupe B, notamment la vitamine B6 (Jukanti et *al.*, 2012 ; Wallace, 2016 ; Zhang et *al.*, 2024).

Enfin, sa teneur en composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les caroténoïdes lui confère des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui contribuent à la réduction du risque de maladies chroniques comme les affections cardiovasculaires et certains cancers (Jukanti et *al.*, 2012 ; Zhang et *al.*, 2024).

1.5.2. Valeur médicinale du pois chiche

Les propriétés médicinales du pois chiche sont notamment attribuables à sa teneur en composés bioactifs, fibres, minéraux et antioxydants.

Sur le plan anti-inflammatoire, les pois chiches renferment des phytonutriments tels que les flavonoïdes qui contribuent à la réduction de l'inflammation systémique, ce qui pourrait jouer un rôle favorable dans le traitement de pathologies chroniques comme l'arthrite ou les maladies inflammatoires de l'intestin (Jukanti et *al.*, 2012 ; Sánchez-Chino et *al.*, 2015 ; Kaur et *al.*, 2025).

En ce qui concerne la santé cardiovasculaire, la consommation régulière de pois chiches est associée à une diminution significative du cholestérol LDL, grâce à la présence de fibres solubles et d'acides gras insaturés, réduisant ainsi le risque de maladies coronariennes. De plus, des minéraux comme le potassium et le magnésium participent activement à la régulation de la pression artérielle et à la bonne fonction cardiaque (Bazzano et *al.*, 2011 ; Jukanti et *al.*, 2012).

Le pois chiche est également reconnu pour son rôle dans la gestion du poids corporal et le contrôle glycémique chez l'être humaine. Sa richesse en fibres et en protéines favorise la satiété, limite les pics glycémiques postprandiaux et améliore la sensibilité à l'insuline, ce qui le rend particulièrement adapté à l'alimentation des personnes atteintes de diabète de type 2 (Pittaway et *al.*, 2008).

En outre, les pois chiches sont une source importante d'antioxydants, tels que les caroténoïdes et les polyphénols qui aident à neutraliser les radicaux libres responsables du stress oxydatif. Ils réduisent ainsi le risque de maladies dégénératives et de certains cancers (Jukanti et *al.*, 2012 ; Sánchez-Chino et *al.*, 2015 ; Kaur et *al.*, 2025). Enfin, leur

teneur élevée en fibres favorise un bon transit intestinal, aide à prévenir la constipation et pourrait contribuer à la réduction du risque de cancer colorectal (Slavin, 2013).

1.5.3. Nodulation et fixation d'azote dans le pois chiche

Chez le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), la nodulation symbiotique et la fixation biologique de l'azote représentent des processus clés dans la nutrition azotée des plantes, ce qui contribue à la durabilité des systèmes agricoles. Le mécanisme repose sur l'interaction entre les racines de la plante et des bactéries du genre *Rhizobium*, en particulier *Rhizobium ciceri*, qui colonisent les racines après la germination grâce à des signaux chimiques libérés par la plante, notamment les flavonoïdes (Thavarajah et al., 2005 ; Kumar et al., 2021). Cette interaction conduit à la formation de nodules racinaires, structures spécialisées où les bactéries fixent l'azote atmosphérique (N₂) sous forme d'ammonium (NH₄⁺), lequel est ensuite utilisé par la plante pour la synthèse de protéines, d'acides aminés et autres composés essentiels (Turpin et al., 2002 ; Plett et al., 2021).

Grâce à cette symbiose, le pois chiche peut couvrir une grande partie de ses besoins azotés sans recours intensif aux engrais chimiques (Balasubramanian et Sinha, 1976 ; Siddique et al., 2022). Par ailleurs, les résidus de culture enrichissent le sol en azote, améliorant ainsi la fertilité des terres dans les systèmes de rotation des cultures (Fikre et Varshney, 2020).

1.6. Exigences écologiques du pois chiche

Le pois chiche présente des exigences écologiques spécifiques. La compréhension de ces dernières permet d'optimiser sa culture dans différentes régions du monde.

1.6.1. Exigences climatiques

Le pois chiche est une culture particulièrement adaptée aux environnements semi-arides, cependant, son développement optimal repose sur des conditions climatiques bien définies. La température constitue un facteur déterminant : la croissance végétative, la floraison et la formation des gousses sont favorisées par des températures modérées et comprises entre 20 °C et 30 °C (Krishnamurthy et al., 2010 ; Devasirvatham et al., 2012).

Bien que relativement tolérant à la chaleur, le pois chiche subit une réduction significative de son rendement lorsque les températures dépassent les 35 °C, en raison de perturbations physiologiques touchant la pollinisation et le remplissage des graines (Krishnamurthy et *al.*, 2011 ; Devasirvatham et *al.*, 2012). À l'inverse, cette culture est sensible au gel, en particulier durant les stades juvéniles, car des températures inférieures à 0 °C peuvent endommager les jeunes plants, réduire leur nodulation et compromettre le rendement final (Croser et *al.*, 2003 ; Nayyar & Pal, 2005).

Les besoins en précipitations nécessitent un apport annuel compris entre 300 et 600 mm (Saxena, 1987 ; Silim & Saxena, 1993). Les phases critiques telles que la germination, la floraison et le développement des gousses exigent une humidité minimale (Leport et *al.*, 1999 ; Krishnamurthy et *al.*, 2010).

La lumière joue un rôle majeur dans la photosynthèse et la productivité globale. Le pois chiche requiert une exposition en plein soleil pour atteindre un rendement optimal (Silim et Saxena, 1993). Une durée de jour relativement longue (14 et 16 heures de lumière par jour), durant les phases reproductives, favorise la floraison et le remplissage des graines (Roberts et *al.*, 1985).

1.6.2. Exigences édaphiques et nutritionnelles du pois chiche

Cicer arietinum L. présente des exigences édaphiques et nutritionnelles spécifiques qui conditionnent fortement son développement végétatif, sa nodulation symbiotique et son rendement. Sur le plan édaphique, cette légumineuse s'épanouit dans des sols bien drainés, de texture légère à moyenne, notamment les sols limono-sableux (Silim et Saxena, 1993 ; Gaur et *al.*, 2010 ; FAO, 2019).

Le pH du sol optimal se situe entre 6,0 et 8,0 ; une acidité modérée à une neutralité légère favorise la biodisponibilité des nutriments, en particulier celle du phosphore, essentiel à la croissance racinaire et à la floraison (Saxena, 1987 ; Gaur et *al.*, 2008 ; FAO, 2019). La matière organique joue également un rôle déterminant en améliorant la structure du sol sa capacité de rétention d'eau, ainsi qu'en stimulant l'activité microbienne bénéfique, notamment celle des rhizobia (Manna et *al.*, 2005 ; Lupwayi et *al.*, 2006).

Du point de vue nutritionnel, bien que le pois chiche soit capable de fixer l'azote atmosphérique via sa symbiose avec *Rhizobium ciceri*, un apport initial d'azote peut être bénéfique lors des stades précoces de croissance avant l'établissement complet de la

nodulation (Rupela et *al.*, 1987). Le phosphore (P) est un macroélément indispensable au développement racinaire, à la floraison et à la formation des gousses (Gaur et *al.*, 2008). Le potassium (K) intervient dans la régulation osmotique, la tolérance au stress hydrique et la qualité des graines récoltées.

Les micronutriments tels que le fer, le zinc et le manganèse sont essentiels à divers processus enzymatiques et physiologiques. Leur déficit peut compromettre la croissance et la productivité (Hacisalihoglu et Kochian, 2003). Une fertilisation raisonnée et fondée sur des analyses de sol est recommandée afin d'ajuster les apports et maximiser l'efficacité nutritive (Singh, 2009).

1.7. Les maladies affectant la culture du pois chiche

Cicer arietinum L. est sensible à plusieurs maladies qui peuvent affecter son développement et réduire les rendements. Les pertes de rendement dues à certaines maladies parasitaires peuvent aller jusqu'à 70-100% (Pande et *al.*, 2009). Ces contraintes biologiques, exacerbées par les changements climatiques (Jiménez-Díaz et *al.*, 2015), se répartissent en trois groupes majeurs :

1.7.1. Pathogènes fongiques

Les maladies fongiques restent le principal facteur limitant la production mondiale de pois chiche car elles peuvent entraîner des pertes de rendement totales sans contrôle approprié (Shehabu et *al.* 2025).

L'ascochytose, causée par le champignon *Ascochyta rabiei*, constitue l'une des maladies les plus répandues et les plus importantes du pois chiche. Elle infecte l'ensemble des organes aériens de la plante, y compris les gousses et les graines. La nécrose des tissus et la mort des plants entraînent une dégradation de la qualité des semences ainsi qu'une diminution significative du rendement, avec des pertes pouvant varier de 10 % jusqu'à la destruction totale de la culture (Sharma & Ghosh, 2016 ; Bar et *al.*, 2021 ; Foresto et *al.*, 2023).

La production du pois chiche est également fortement limitée par le flétrissement vasculaire, causé par *Fusarium oxysporum* Schltdl. f. sp. *ciceris* (Padwick), dans la

majorité des régions productrices à l'échelle mondiale. Les pertes annuelles de rendement dues à cette maladie sont généralement estimées entre 10 et 15 % (Trapero-Casas & Jiménez-Díaz, 1989 ; Jalali et al., 1992), mais elles peuvent atteindre 100 % dans certaines conditions environnementales et agronomiques favorables au développement du pathogène (Haware & Nene, 1980 ; Halila & Strange, 1996).

Le tableau 3 présente une synthèse des principales maladies fongiques du pois chiche, en indiquant pour chacune l'agent pathogène responsable, les symptômes caractéristiques, les méthodes de lutte recommandées ainsi que les références bibliographiques correspondantes.

Tableau 3 : Principales maladies fongiques du pois chiche dans le monde

Maladie	Agent pathogène	Symptômes clés	Références scientifiques	Méthodes de contrôle
Ascochytose	<i>Ascochyta rabiei</i>	Taches nécrotiques avec pycnides noires sur tous les organes	• Singh et Reddy, 1990	• Variétés résistantes (ex. FLIP07-318C) • Fongicides à base de triazoles
Fusariose vasculaire	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	Flétrissement unilatéral, nécrose vasculaire	• Jiménez-Díaz et al., (2015)	• Rotation 5-7 ans • Solarisation des sols
Rouille	<i>Uromyces ciceris-arietini</i>	Pustules brun-rouge sur face inférieure des feuilles	• Nene et al., (1996)	• Application de soufre micronisé • Éviter les semis denses
Mildiou	<i>Peronospora ciceris</i>	Moisissure blanche duveteuse sur feuilles	• Agarwal et al., (2003).	• Fongicides préventifs (Metalaxyl)
Pourriture racinaire	<i>Rhizoctonia solani</i>	Pourriture des racines, plantules rabougries	• Nene et al., (1996)	• Traitement des semences (fludioxonil)

1.7.2. Viroses émergentes

L'intensification des échanges agricoles a accru l'incidence des viroses (Tableau 4), notamment :

- Le *Chickpea chlorotic stunt virus* (CpCSV), transmis par *Aphis craccivora*, causant des pertes de 30-50% en Afrique de l'Est (Horn et al., 1994)

- Le *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), véhiculé par les thrips, induisant des nécroses irréversibles (Thomas, 2004)

Tableau 4 : Principales maladies virales affectant le pois chiche dans le monde.

Maladie	Virus	Vecteur	Références
Mosaïque du pois chiche	<i>Chickpea chlorotic stunt virus</i> (CpCSV)	Pucerons (<i>Aphis craccivora</i>)	Horn et al., 1994
Nécrose apicale	<i>Pea streak Carlavirus</i> (PeSV)	Pucerons	Kaiser et al., 1993
Jaunisse des feuilles	<i>Bean leafroll virus</i> (BLRV)	<i>Acyrtosiphon pisum</i>	Bos et al., 1988
Maladie des taches bronzées	<i>Tomato spotted wilt virus</i> (TSWV)	Thrips (<i>Frankliniella occidentalis</i>)	Thomas, 2004
Mosaïque de la cosse	<i>Chickpea yellow mosaic virus</i> (CMV)	Transmission mécanique/graines	Jonas et al., 2008

1.7.3. Bactérioses

Les maladies bactériennes du pois chiche sont peu nombreuses et généralement d'importance secondaire par rapport aux maladies fongiques. La principale maladie documentée est la brûlure bactérienne causée par *Xanthomonas campestris* pv. *cassiae* (Nene et al., 1996 ; Kaiser et al., 2000). Les autres bactéries phytopathogènes, telles que *Pseudomonas syringae* ou *Ralstonia solanacearum*, ne sont pas considérées comme des agents majeurs du pois chiche et leur implication reste rare ou non spécifique.

2. La fusariose vasculaire du pois chiche

***Fusarium oxysporum* Schlechtendal
f. sp. *ciceris* (Padwick)**

2.1. Introduction

La fusariose vasculaire figure parmi les maladies les plus redoutables affectant le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) à l'échelle mondiale. Signalée pour la première fois en Inde par Butler en 1918, son agent causal n'a été correctement identifié qu'en 1940 par Padwick. Depuis, cette pathologie s'est largement répandue dans les principales zones de culture du pois chiche, notamment en Asie, en Afrique, en Europe méridionale ainsi qu'en Amérique.

Elle est causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), initialement nommé *Fusarium orthoceras* var. *ciceris* par Padwick, révisé en 1967 par Chattopadhyay et Sen Gupta sous le nom de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. Ce champignon est pathogène uniquement sur les espèces du genre *Cicer*. Toutefois, il peut également infecter d'autres légumineuses sans provoquer de symptômes visibles (Haware et Nene, 1982a ; Trapero-Casas et Jiménez-Díaz, 1985).

D'autres agents pathogènes sont parfois capables d'introduire des symptômes de flétrissements vasculaire et des pourriture racinaires, avec parfois une agressivité comparable à celle de FOC, il s'agit l'occurrence de *Fusarium redolens* et de *Fusarium solani* (Jiménez-Fernández et al., 2011b ; Zhang et al., 2005).

En Algérie, la fusariose du pois chiche a toujours été attribuée à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC) jusqu'en janvier 2022, date à laquelle Zaim et Bekkar signalent la présence de *Fusarium redolens* dans la région de Mascara, à l'ouest du pays.

2.2. Répartition Géographique et importance économique de FOC

2.2.1 Répartition Géographique

FOC est largement répandu dans les régions où le pois chiche constitue une culture majeure. La distribution géographique du pathogène est fortement influencée par les conditions climatiques et les caractéristiques du sol. En Asie, l'Inde représente un foyer important d'infection où la maladie provoque des pertes significatives de rendement dans les principales zones de production (Pande et al., 2007).

En Afrique du Nord, la fusariose vasculaire a été rapportée, notamment en Égypte (Abdel-Monaim et al., 2010), en Tunisie (Halila et Strange, 1996), au Maroc (Kelly et

al., 1994) et en Algérie (Zemouli-Benfrehia *et al.*, 2013). La maladie est souvent aggravée par le stress hydrique et les conditions édaphiques défavorables.

Dans la région du Moyen-Orient, la maladie est courante et tend à s'aggraver sous l'effet des changements climatiques et des pratiques culturales intensives (Haware *et al.*, 1996 ; Saabale *et al.*, 2009).

Cette large répartition de la fusariose témoigne de l'adaptabilité du pathogène à différents environnements agroécologiques rendant sa gestion particulièrement complexe.

2.2.2 Importance économique

La fusariose du pois chiche, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, représente une menace économique majeure. Elle peut entraîner des pertes de rendement allant de 30 à 100 %, en fonction de la sévérité de l'infection et des conditions culturales (Bousslama, 1980 ; Haware et Nene, 1980 ; Halila et Strange, 1996).

En plus de la réduction de la productivité, la maladie altère la qualité des graines, diminuant leur valeur marchande et entraînant parfois leur rejet à cause de leur contamination potentielle par des toxines (Haware et Nene, 1980 ; Navas-Cortés *et al.*, 2000b). Les répercussions socio-économiques sont importantes : la fusariose contribue à la précarisation des agriculteurs, menace la sécurité alimentaire locale et peut forcer les producteurs à abandonner cette culture traditionnelle avec des conséquences durables sur leur économie et leur mode de vie (Navas-Cortés *et al.*, 2000 ; Muche *et al.* 2022).

2.3. Biologie et Écologie de l'Agent Pathogène

FOC est un champignon tellurique à reproduction asexuée. Il survit dans le sol principalement sous forme de chlamydospores qui sont capables de persister jusqu'à six ans en l'absence d'hôte (Haware *et al.*, 1996). Ces structures de survie sont aussi observées sur les semences, notamment dans la région du hile, ce qui fait des graines infectées une source d'inoculum primaire (Haware *et al.*, 1978 ; Pande *et al.*, 2007). La germination des chlamydospores est activée par les exsudats des graines ou des racines, permettant au champignon de pénétrer les plantules sans nécessiter de blessures. Ce dernier colonise alors les cotylédons, l'épicotyle et de l'hypocotyle (Jiménez-Díaz *et al.*, 1989a ; Stevenson *et al.*, 1997).

In vitro, la croissance optimale de *FOC* se situe entre 25 et 27,5 °C, avec un pH favorable à la croissance compris entre 5,1 et 5,9. Le pH optimal pour la sporulation du champignon se situe entre 7,1 et 7,9 (Pande et *al.*, 2007). Après infection, la colonisation systémique se produit rapidement. Les symptômes apparaissant entre 10 et 20 jours après l'infection selon la compatibilité entre le pathogène et le génotype de pois chiche (Jiménez-Díaz et *al.*, 1989a ; Jiménez-Fernández et *al.*, 2013). En cas d'interaction incompatible, la colonisation reste limitée aux espaces intercellulaires ou au xylème, suggérant l'activation de mécanismes de défense dans les génotypes résistants (Jiménez-Fernández et *al.*, 2013).

La *forma specialis ciceris* est pathogène uniquement sur les espèces du genre *Cicer* dont le pois chiche est la seule espèce cultivée (Kaiser et *al.*, 1994). Toutefois, il a été démontré que *FOC* peut également coloniser les tissus racinaires d'autres légumineuses à graines telles que l'haricot (*Phaseolus vulgaris*), la fève (*Vicia faba*), la lentille (*Lens culinaris*), le pois (*Pisum sativum*) et le pois d'Angole (*Cajanus cajan*), mais aussi certaines mauvaises herbes dicotylédones, sans provoquer de symptômes apparents (Haware et Nene, 1982a ; Trapero-Casas et Jiménez-Díaz, 1985).

2.4. Taxonomie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

FOC appartient à un groupe de champignons ascomycètes largement reconnu pour sa diversité et son importance phytopathologique.

Sa classification taxonomique est la suivante : (Leslie et Summerell, 2006).

- **Règne** : Fungi
- **Division** : Ascomycota
- **Classe** : Sordariomycetes
- **Ordre** : Hypocreales
- **Famille** : Nectriaceae
- **Genre** : *Fusarium*
- **Espèce** : *Fusarium oxysporum*
- **Forme spéciale** : *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Padwick)

2.5. Morphologie de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

FOC présente des caractéristiques morphologiques distinctives et essentielles pour son identification et sa classification. Morphologiquement, sa structure est composée principalement de conidiophores, de macroconidies et de microconidies (Figure 5). *FOC* possède aussi des structures de survie appelées chlamydospores, à paroi lisse ou rugueuse, formées individuellement ou par paires, de façon terminale ou intercalaire, dans les hyphes aériens submergés ou de surface.

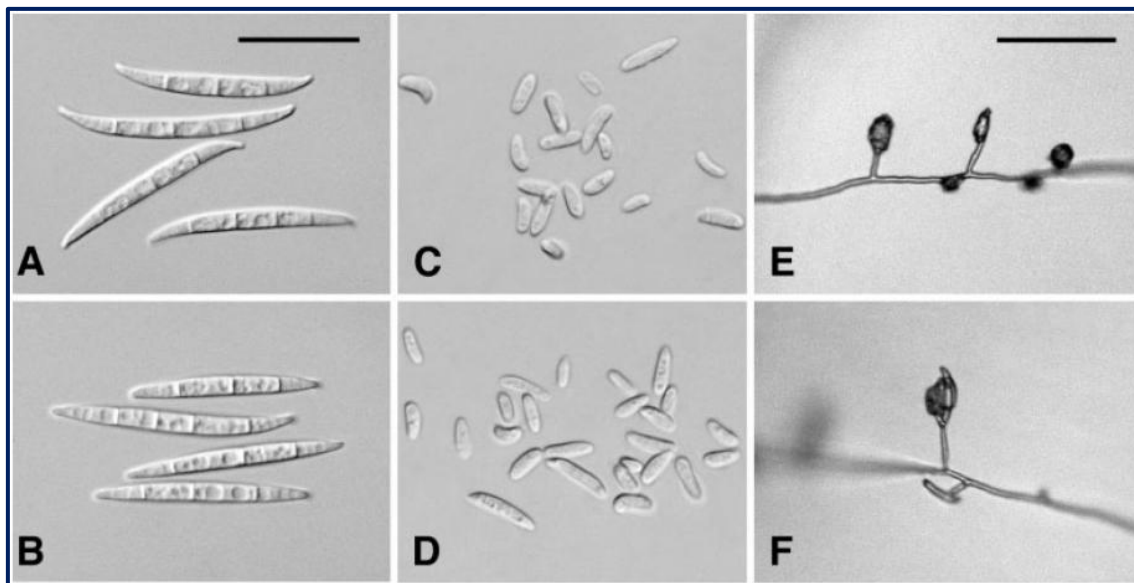


Figure 5 : Morphologie du *Fusarium oxysporum*. **A-B :** Macroconidies ; **C-D :** Microconidies ; **E-F :** microconidies *in situ* sur milieu de culture CLA. **A-D**, barre d'échelle=25 μ m ; **E-F**, barre d'échelle= 50 μ m (Leslie et Summerell, 2006).

FOC produit un mycélium constitué d'hyphes fins, septés, de couleur blanche à crème à un stade jeune, jouant un rôle clé dans l'absorption des nutriments et la progression de l'infection (Burgess et *al.*, 1994). Les conidiophores, souvent verticillés, mesurent 20–50 μ m et varient en couleur et en forme selon les conditions du milieu (Leslie et Summerell, 2006).

Les microconidies sont majoritairement unicellulaires. Elles sont abondantes dans les vaisseaux du xylème et présentent une forme ellipsoïdale ou incurvée facilitant la dissémination du pathogène (Leslie et Summerell, 2006). Les macroconidies sont composées de 3 à 5 cellules. Elles sont courbées, effilées et se caractérisent par leur cellule basale en forme de pied ; elles se forment dans les sporodochies sur tissus nécrosés (Schippers et van Eck, 1981 ; Nelson et *al.*, 1983). Les chlamydospores sphériques et à

paroi épaisse apparaissent sur des hyphes en position terminale ou intercalaire souvent en paires, parfois par triplets ou en amas (Nelson et al., 1983) (Tableau 5).

Tableau 5 : Caractéristiques morphologiques des spores de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (El Aoufir, 2001).

Type de spore	Description morphologique	Conditions d'apparition
Microconidies	Formes ovales, droites ou légèrement incurvées ; dimensions : 2,5–3,5 µm × 1–11 µm.	Générées en abondance, attachées à des conidiophores courts ou situées latéralement sur les hyphes.
Macroconidies	Spores fusiformes, pointues aux extrémités ; 3 à 5 cloisons (septa) ; taille : 3,5–4,5 µm × 25–65 µm.	Moins abondantes que les microconidies, portées par des conidiophores ramifiés.
Chlamydospores	Spores à paroi épaisse, sphériques à subsphériques, à paroi épaisse, uni- ou bicellulaires, de 7–15 µm de diamètre.	Se forment dans les cultures âgées, assurant la survie du champignon en conditions défavorables.

2.6. Diagnostic de la maladie

Les symptômes de la fusariose vasculaire du pois chiche peuvent apparaître à n'importe quel stade de développement de la culture. Les plants infectés se manifestent souvent de manière regroupée en foyers ou de façon disséminée dans le champ (Trapero-Casas et Jiménez-Díaz, 1985 ; Nene et Reddy, 1987 ; Haware, 1990).

Les premiers symptômes apparaissent dans la partie supérieure de la plante avant de s'étendre à l'ensemble de la plante (Figure 6). Les symptômes précoces, dits de "flétrissement précoce", apparaissent dès le 25^{ème} jour après le semis chez les cultivars sensibles. Ils sont caractérisés par une perte de turgescence et une décoloration des feuilles, un dessèchement progressif et un effondrement complet de la plante. Le "flétrissement tardif" apparaît généralement entre la floraison (6 à 8 semaines après semis) et la formation des gousses, avec un affaissement des pétioles, du rachis et des folioles, suivi de jaunissements et de nécroses du feuillage.



Figure 6 : Symptômes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* sur plants de pois chiche (Yadav et al., 2023).

Au niveau racinaire, les plantules récemment infectées peuvent ne pas présenter de signes visibles externes. Toutefois, à un stade plus avancé, on observe un brunissement interne du xylème des racines et de la base des tiges, symptôme observable en coupe longitudinale ou transversale.

Une prolifération cellulaire irrégulière dans le cambium vasculaire ainsi que la formation de gels denses et d'occlusions dans les vaisseaux du xylème (à l'exception des tyloses) contribuent à perturber le transport de l'eau et des nutriments, entraînant l'apparition des symptômes morphologiques caractéristiques (Jiménez-Díaz et al., 1989a).

Il est important de ne pas confondre les symptômes de la fusariose avec ceux du jaunissement des feuilles, du flétrissement et de la décoloration du phloème qui peuvent également se manifester chez les pois chiches infectés par certains virus végétaux, tels que le RCVMV de la striure du pois (Kaiser et Danesh, 1971 ; Nene et al., 1978 ; Kaiser et al., 1993).

Il est également crucial d'être prudent lors de la confirmation du diagnostic initial par isolement en culture pure, car des souches endophytes non pathogènes de *F. oxysporum* sont souvent isolées, même à partir de tissus symptomatiques de la tige de

pois chiches (Trapero-Casas et Jimenez-Díaz, 1985 ; Kaiser et *al.*, 1993 ; Jimenez-Fernandez et *al.*, 2011b ; Malcolm et *al.*, 2013).

En outre, le diagnostic basé sur la morphologie des colonies de *Fusarium* isolées à partir de pois chiches jaunissants ne permet pas de distinguer facilement *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* de *Fusarium redolens*, qui a récemment été identifié comme causant des symptômes similaires à ceux du pathotype jaunissant de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, à l'exception de l'absence de décoloration vasculaire (Jimenez-Fernandez et *al.*, 2011b).

La différenciation entre *F. redolens*, *F. oxysporum* et *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* peut être réalisée de manière adéquate à l'aide de protocoles moléculaires (Jimenez-Gasco et Jimenez-Díaz, 2003 ; Bogale et *al.*, 2007 ; Jimenez-Fernandez et *al.*, 2010, 2011b).

2.7. Diversité génétique et pathogénique des populations du pathogène

Malgré sa monophylie, *FOC* présente une variabilité pathogénique notable, avec deux pathotypes distincts, identifiés selon les syndromes de jaunissement ou de flétrissement qu'ils induisent chez les pois chiches (Figure 7).



Figure 7 : Syndromes de maladies causés par les pathotypes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* chez le pois chiche cultivé dans un sol artificiellement infesté après 24 jours d'incubation à 25 °C. (A) : Jaunissement causé par le pathotype "jaunissant" ; (B) : Flétrissement causé par le pathotype "flétrissant" (Jiménez-Díaz et Jiménez-Gasco, 2011).

Le syndrome de jaunissement se manifeste par un jaunissement progressif et une mort tardive, tandis que le syndrome de flétrissement entraîne une chlorose rapide, une flaccidité et une mort précoce (Trapero-Casas et Jimenez-Díaz, 1985).

Les deux pathotypes se différencient aussi génétiquement par des marqueurs d'ADN polymorphe amplifié (RAPD) et des tests PCR utilisant des amorces SCAR (Kelly et *al.*, 1994).

2.8. Identification des races pathogènes de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*

En plus des pathotypes, huit races pathogènes (races 0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5 et 6) peuvent être identifiées chez *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* par l'analyse de la gravité des réactions de la maladie sur un ensemble de 10 cultivars de pois chiche différenciés et appartenant à l'Institut international de recherche sur les cultures pour les zones tropicales semi-arides (Haware et Nene, 1982b ; Jimenez Díaz et *al.*, 1989b, 1993a).

L'identification des races 0, 5 et 6 peut être réalisée en utilisant un test PCR spécifique à partir de mycéliums fongiques et des amorces FocR0-M15f/FocR0-M15r, FocR5-L10f/FocR5-L10r et FocR6-02f/FocR6-02r respectivement qui amplifient respectivement 900, 938 et 1000 pb (Jiménez-Gasco et Jiménez-Díaz 2003).

Poornima et *al.*, (2017) différencient la race 4 de la race 2 en utilisant les régions ITS spécifiques du gène ; et les races 2 et 5 en utilisant un marqueur SCAR. Ils ont également trouvé une bande unique de 500 pb pour la race 4 par analyse de restriction de la région ITS.

2.9. Cycle de Reproduction de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

La reproduction asexuée est la méthode connue, jusqu'à présent, par laquelle *FOC* se propage dans les champs (Figure 8).

Le cycle de reproduction asexuée de *FOC* débute par la formation de conidies produites par des conidiophores issus du mycélium. Ces structures portent des spores asexuées qui sont libérées dans l'environnement à maturité. Les conidies, de morphologie ellipsoïdale, présentent des dimensions variant de 10 à 30 µm de longueur sur et mesurent 3 à 5 µm de largeur (Leslie et Summerell, 2006).

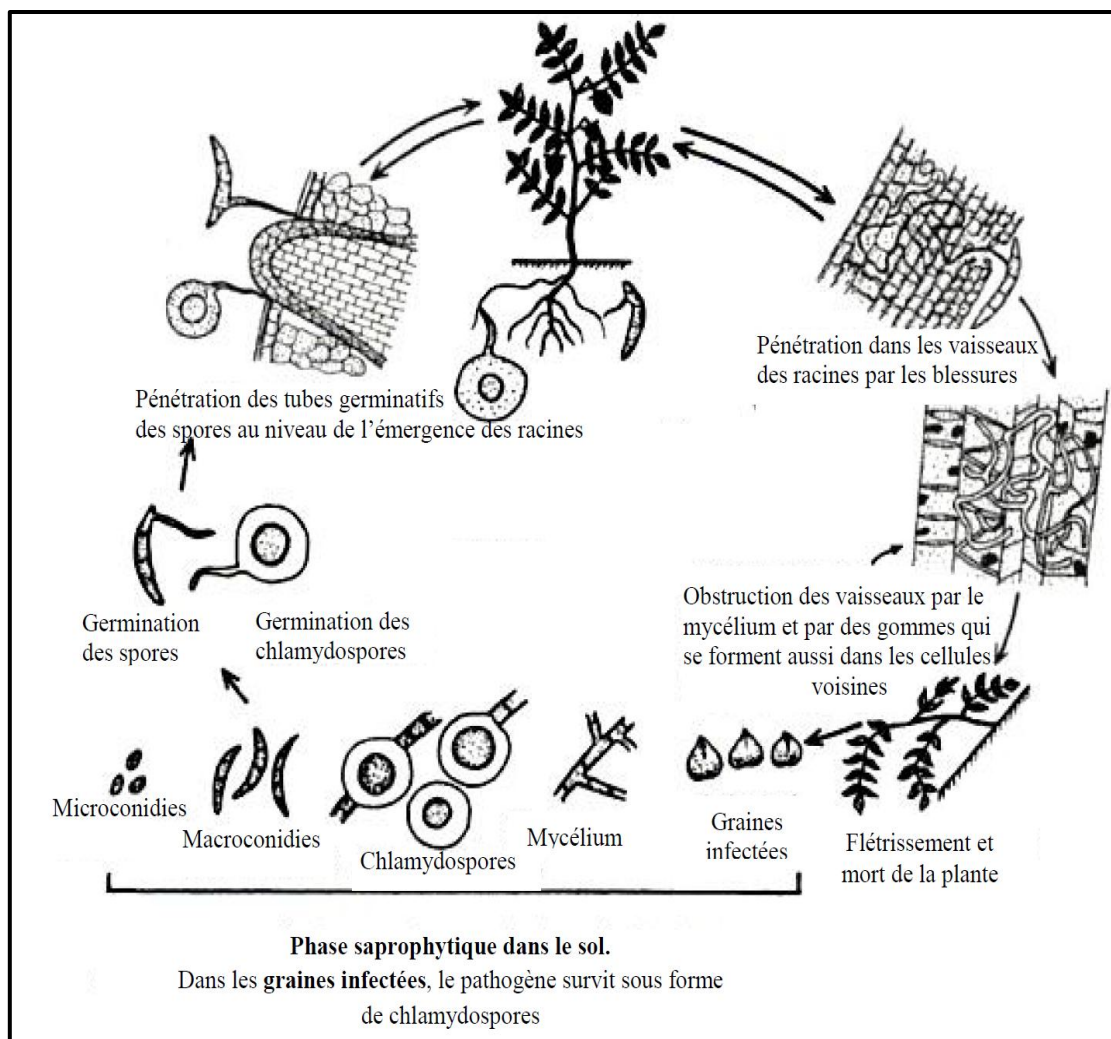


Figure 8 : Cycle infectieux de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (Jalali et Chand, 1992).

En présence de conditions favorables, notamment une humidité suffisante et des températures adéquates, les spores germent pour donner naissance à un nouveau mycélium. Ce dernier colonise progressivement les tissus de la plante hôte, en particulier les racines et les vaisseaux conducteurs (Pande et *al.*, 2007).

L'établissement du champignon dans le système vasculaire perturbe le transport de l'eau et des éléments nutritifs, entraînant des symptômes caractéristiques de la fusariose tels que le jaunissement foliaire, le flétrissement, voire la mort de la plante. La figure 9 représente le processus par étapes de l'infection du pois chiche par *FOC*, à savoir la germination des spores, l'infection des racines et la colonisation de la plante.

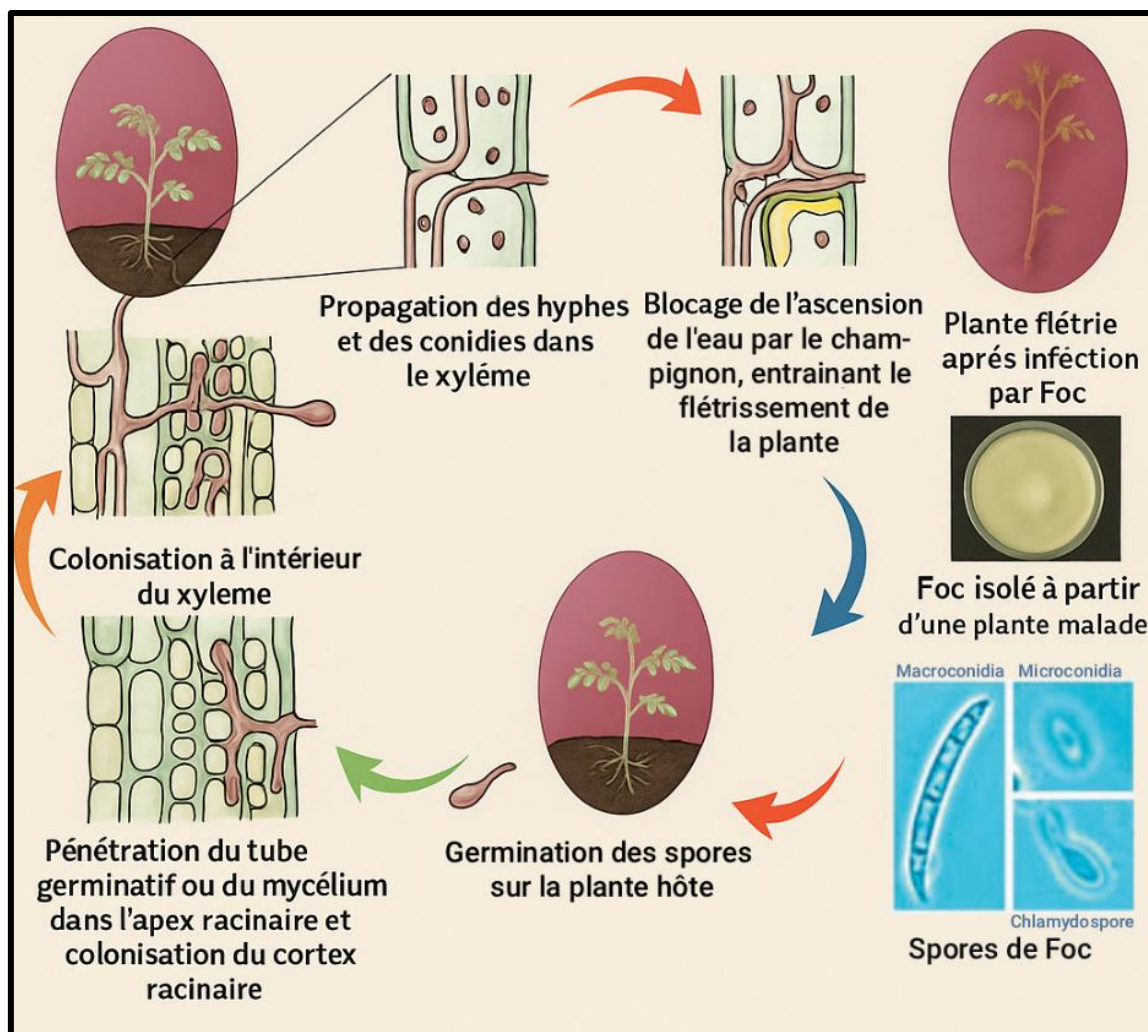


Figure 9 : Mode d'action de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* dans le pois chiche (Suthar et al. 2021).

2.10. Épidémiologie du pathogène

Le développement de la fusariose chez le pois chiche peut être influencé par plusieurs facteurs, notamment l'agressivité des races pathogènes, la densité d'inoculum dans le sol, les conditions environnementales (température de l'air et du sol, l'humidité du sol, le pH, etc.) et la sensibilité des cultivars.

Des modèles non linéaires quantitatifs ont permis de déterminer la relation entre la température du sol et la densité d'inoculum des races 0 et 5 sur le développement de la maladie dans des cultivars de pois chiche présentant différentes sensibilités. Ces modèles ont révélé une interaction entre la température et l'agressivité de la race (ou la sensibilité du cultivar). Par exemple, à faible densité d'inoculum, aucune maladie ne se développe, même à des températures du sol optimales pour l'infection (Navas Cortes et al., 2007).

Les chlamydospores, principales structures de survie de l'inoculum, assurent la persistance du champignon dans le sol durant de nombreuses années et favorisent sa dissémination à travers les semences infectées, les débris végétaux et les outils agricoles, rendant les épidémies difficiles à contenir (Muche et *al.*, 2022). Les conditions climatiques jouent un rôle clé : les températures modérées à élevées (24–28 °C), une humidité édaphique adéquate et les systèmes de culture favorisant l'accumulation d'inoculum (monoculture, rotations courtes, absence de traitement de semences) contribuent à l'intensité des épiphyties (Jiménez-Díaz et *al.*, 2015).

Sur le plan populationnel, *FOC* présente deux pathotypes (flétrissement et jaunissement) et une grande variabilité pathogénique, avec au moins huit races (0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5, 6), dont la distribution géographique explique la rupture récurrente des résistances variétales (Trapero-Casas et Jiménez-Díaz, 198). En Méditerranée et en Afrique du Nord, la maladie est largement signalée. En Tunisie, la race 0 est historiquement prédominante (Halila et Strange, 1996). En Algérie, des prospections récentes confirment la prévalence de *FOC* dans plusieurs zones de production (Sekkal et *al.*, 2025) mais aucune race n'est confirmée jusqu'à présent. En Égypte, de nombreux isolats de *Fusarium oxysporum* pathogènes du pois chiche ont été collectés, confirmant l'endémicité et la diversité du pathogène dans les agro-écosystèmes locaux (Abdel-Monaim et *al.*, 2010).

À l'échelle mondiale, les pertes attribuées aux épidémies de *FOC* varient en fonction du contexte pédoclimatique, du cultivar et de la pression d'inoculum, allant de pertes moyennes de 10–15 % à des pertes atteignant 100 % dans les cas sévères (Jiménez-Díaz et *al.*, 2015). Ces observations montrent que l'épidémiologie de *FOC* est le résultat d'interactions complexes entre la diversité du pathogène, la sensibilité de l'hôte, les pratiques culturales et l'environnement.

2.11. Méthodes de lutte

La gestion de la fusariose vasculaire du pois chiche passe par l'exclusion de l'agent pathogène ainsi que la réduction de la quantité et/ou de l'efficacité de l'inoculum initial.

Les mesures de lutte recommandées à cet égard comprennent : (I) l'utilisation de semences exemptes d'agents pathogènes ; (II) la sélection de parcelles qui porteront la culture, en évitant de semer dans des sols à haut risque ; (III) la réduction ou l'élimination

de l'inoculum présent dans le sol ; (IV) l'utilisation de cultivars résistants ; (V) la protection des semences saines contre l'inoculum résiduel par un traitement avec des fongicides ou des agents de lutte biologique ; et (VI) le choix de pratiques culturales qui minimisent les conditions favorables à l'infection des plantes par le pathogène.

La gestion de la fusariose du pois chiche sera plus efficace si ces mesures de lutte sont intégrées dans une stratégie de gestion globale où leur application se fait soit simultanément, soit de manière séquentielle (Haware et *al.*, 1990 ; Jimenez Díaz et Jimenez Gasco, 2011).

L'utilisation de cultivars résistants aux agents pathogènes est considérée comme l'une des méthodes les plus pratiques et rentables pour gérer le flétrissement vasculaire du pois chiche. L'adoption de cultivars résistants non seulement améliore l'efficacité d'autres stratégies de lutte, mais contribue également à une gestion intégrée de la maladie.

La lutte biologique apparaît aussi comme une alternative prometteuse pour réduire la pression du pathogène. Plusieurs travaux scientifiques ont montré l'efficacité d'agents microbiens antagonistes, notamment des bactéries rhizosphériques et des champignons bénéfiques. Des isolats de *Pseudomonas fluorescens* et de *Bacillus subtilis* se sont révélés capables d'inhiber la croissance de *FOC* par la production d'antibiotiques, de sidérophores et d'enzymes hydrolytiques, mais aussi par l'induction de mécanismes de résistance systémique chez la plante (Landa et *al.*, 2004b ; Singh et *al.*, 2022). De même, certaines espèces de *Trichoderma* (ex. *T. harzianum*, *T. viride*) exercent une action mycoparasitaire directe et stimulent les défenses du pois chiche, réduisant ainsi l'incidence et la sévérité de la maladie (Dubey et *al.*, 2007 ; El-Komy, 2014).

3. La plante modèle des légumineuses: *Medicago truncatula* (Gaertn).

3.1. Introduction

Medicago truncatula, également connue sous le nom de luzerne tronquée, est l'une des espèces annuelles les plus représentatives du genre *Medicago*, après la luzerne vivace (*Medicago sativa*), largement cultivée comme fourrage (Young et al., 2011). Elle joue un rôle clé dans les programmes de recherche consacrés aux légumineuses en raison de sa petite taille génomique (400 à 430 Mpb), de sa courte durée de cycle (2 à 3 mois pour la plante entière de la graine à la graine), et de sa facilité de manipulation en laboratoire. Ces caractéristiques font d'elle une plante modèle pour l'étude des interactions symbiotiques et pathogéniques chez les Fabacées (Barker et al., 1990 ; Young et al., 2011).

L'histoire de la sélection de cette espèce remonte aux années 1930 en Australie, où les chercheurs ont exploité des écotypes naturalisés d'origine méditerranéenne, introduits involontairement par les colons européens. Ces écotypes ont été triés en fonction de leur adaptation au système agricole dit "ley farming" (Howieson et al., 2000).

À partir des années 1950, des campagnes de prospection à grande échelle ont été menées dans les zones méditerranéennes et océaniques, couvrant des régions allant du Moyen-Orient à l'Europe du Nord. Grâce à ces initiatives, plus de 15 000 écotypes appartenant à diverses espèces annuelles du genre *Medicago* ont été rassemblés et sont aujourd'hui conservés au sein de l'Australian Medicago Genetic Resource Center (AMGRC) à Adélaïde (Prosperi et al., 1993 ; Nair & Howie, 2006).

Le premier cultivar de *M. truncatula* officiellement sélectionné est dénommé Jemalong, il est issu de populations sauvages australiennes. D'autres cultivars ont par la suite été enregistrés, notamment Hannaford, Cyprus, Ghor, Akbar, Ascot et Cyfield. Parallèlement, l'INRA de Montpellier a sélectionné le cultivar 'Salernes', adapté aux sols méditerranéens français, utilisé à la fois pour l'amélioration fourragère, la stabilisation des sols et la protection environnementale dans les zones sensibles (Lesins & Lesins, 1979 ; INRA, 2005).

En Algérie, les travaux de Si Ziani & Abdelguerfi (1995) ont mis en évidence une forte variabilité écologique des populations de *Medicago truncatula*.

Selon ces auteurs cette plante n'est pas une entité homogène, mais une espèce présentant une structuration intraspécifique, avec des populations adaptées à leurs conditions locales d'origine.

Cette diversité génétique et adaptative constitue un atout majeur pour les programmes de sélection, mais aussi pour la valorisation des ressources fourragères et la réhabilitation des parcours dégradés en Algérie (Laouar et *al.*, 2004 ; Huguet et *al.*, 2004).

3.2. Classification botanique et caractéristiques morphologiques

Sur le plan botanique, *Medicago truncatula* appartient à la famille des Fabaceae (Tableau 6), laquelle est connue pour sa capacité à établir des symbioses fixatrices d'azote.

Tableau 6 : Classification botanique de *Medicago truncatula* Gaertn (ITIS, 2011).

Règne	Plantae	- plantes, Planta, Végétal, plantes
Sous-règne	Viridaeplantae	- plantes vertes
Infra-règne	Streptophyta	- plantes terrestres -
Division	Tracheophyta	- plantes vasculaires, trachéophytes
Sub-division	Spermatophytina	- spermatophytes, plantes à graines, phanérogames
Infra-division	Angiospermes	-plantes à fleurs, angiospermes, plantes à fruits
Classe	Magnoliopsida	- dicotylédones varies
Sous-classe	Rosanae	
Ordre	Fabales	
Famille	Fabaceae	- pois, légumineuses
Genre	Medicago	L. – luzerne
Espèce	<i>Medicago truncatula</i>	Gaertn. – Barrelover

C'est une plante herbacée annuelle, de port rampant à dressé, mesurant de 15 à 80 cm. Elle présente des feuilles trifoliées, des fleurs jaunes solitaires ou groupées par deux. Elle produit des gousses spiralées, hérissées d'épines recourbées, contenant généralement 4 à 6 graines (Doyle & Luckow, 2003 ; Lapeyronie, 1982) (Figure 10).



Figure 10 : *Medicago truncatula* (Feuilles, gousses, fleur) (Besancon, 2009)

Les graines de *M. truncatula* sont remarquablement durables, avec une viabilité pouvant dépasser 40 ans. Leur dormance est facilement levée par scarification ou traitements thermiques. Le cycle biologique de la plante est relativement court (60 à 90 jours), ce qui permet plusieurs générations par an dans des conditions contrôlées. Chaque individu peut produire jusqu'à 1000 graines, facilitant la multiplication et la conservation génétique (Young et *al.*, 2011). L'espèce est naturellement adaptée à des conditions climatiques méditerranéennes : sols argileux ou marneux, pluviométrie modérée à faible et températures parfois inférieures à -2°C .

M. truncatula est particulièrement présente en Afrique du Nord, notamment dans les rotations céréales-légumineuses où elle contribue à l'amélioration de la fertilité des sols (Lesins & Lesins, 1979 ; Belaid, 2020).

Un des traits les plus étudiés de *M. truncatula* est sa symbiose avec *Sinorhizobium meliloti*, bactérie fixatrice d'azote atmosphérique (Figure 11).

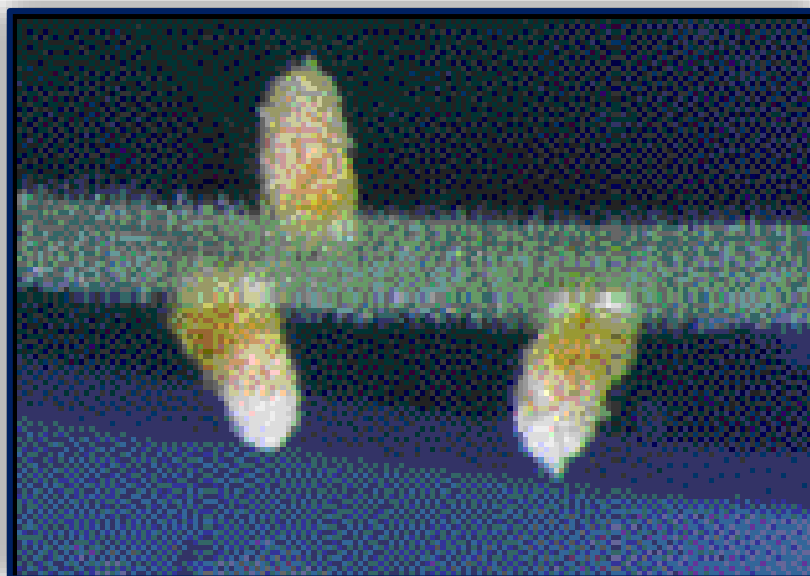


Figure 11. Formation de nodules fixateurs d'azote sur racine de *Medicago truncatula* après inoculation avec le microsymbiote *Sinorhizobium meliloti* (Journet et al., 2001).

3.3. Intérêt de *Medicago truncatula* en tant que plante modèle

Le choix de *M. truncatula* comme plante modèle découle d'un programme de l'INRA (France) lancé dans les années 1985–1986. Ce programme visait à identifier une légumineuse annuelle appropriée pour l'étude des symbioses avec *Sinorhizobium meliloti*, partenaire bactérien symbiotique de la luzerne (*Medicago sativa*). *M. truncatula* s'est révélée particulièrement intéressante en raison de sa parenté étroite avec *M. sativa* et de ses avantages biologiques spécifiques (Oldroyd & Downie, 2008).

Contrairement à d'autres espèces utilisées comme modèles, telles qu'*Arabidopsis thaliana* (plante modèle des dicotylédones) et le riz (plante modèle des monocotylédones), *M. truncatula* représente un excellent candidat pour les Fabacées, en particulier pour les études sur la symbiose racinaire, la fixation de l'azote, et les réponses aux stress biotiques et abiotiques (Young et al., 2011).

M. truncatula est une plante diploïde ($2n = 16$), autogame, avec un cycle de vie court (10–12 semaines), une forte production de graines et un génome de taille modeste (~500 Mb), facilitant les études de génomique et de génétique fonctionnelle (Tang et al., 2014).

3.4. Importance économique et scientifique de *M. truncatula*

3.4.1. Intérêt agronomique

Medicago truncatula est particulièrement bien adaptée aux conditions arides et semi-arides du bassin méditerranéen. En Algérie, elle coexiste fréquemment avec *M. polymorpha* et *M. orbicularis* (Abdelguerfi & Laouar, 1999).

En Australie, elle occupe plus de 4,5 millions d'hectares dans les systèmes de Ley farming, atteignant des rendements en matière sèche pouvant aller jusqu'à 5 t/ha (Small, 2011). *M. truncatula* contribue à une agriculture durable en réduisant la dépendance aux engrais azotés (Zhu et al., 2005).

3.4.2. Intérêt génétique

Cette espèce se prête facilement à la transformation génétique via *Agrobacterium tumefaciens* et peut être régénérée par embryogenèse somatique (Chabaud et al., 2003). Elle est utilisée pour identifier des gènes liés à la symbiose, au stress abiotiques et aux interactions avec les pathogènes. De grands projets génomiques ont permis de développer des outils tels que les EST, les banques BAC et les analyses de transcriptomes, facilitant l'étude fonctionnelle des gènes (Frugoli & Harris, 2001).

3.4.3. Génomique comparative des légumineuses

En génomique comparative, *M. truncatula* joue un rôle central. Elle partage une forte ressemblance dans l'organisation de ses gènes (macrosynténie) avec des espèces importantes comme le pois (*Pisum sativum*), le soja (*Glycine max*) ou la luzerne (*Medicago sativa*), malgré leurs différences biologiques (Choi et al., 2004a).

Cette parenté permet de "transférer" des informations génétiques d'une espèce à l'autre, de cartographier des gènes d'intérêt et de cloner leurs équivalents dans des légumineuses cultivées. Autrement dit, *M. truncatula* sert de modèle pour améliorer d'autres plantes (Zhu et al., 2005).

3.5. Ressources génétiques de *M. truncatula*

La diversité génétique de *M. truncatula* est conservée à travers des collections mondiale d'environ 5700 accessions. Ces dernières sont essentielles pour les travaux de recherche en génétique et en agronomie (Young & Udvardi, 2009).

Le Centre australien de ressources génétiques de *Medicago* (AMGRC), situé à Adélaïde, détient à lui seul plus de 22 000 accessions couvrant 34 espèces de *Medicago*,

y compris *M. truncatula* (Skinner et al., 1999). En France, l'INRAE gère le CRB *Medicago truncatula* qui détient actuellement les accessions européennes et méditerranéennes. Aux États-Unis, le USDA-ARS dispose de plus de 300 accessions accessibles via le site GRIN. En Tunisie, le Centre de Biotechnologie de Borj Cedria (CBBC), à travers le Laboratoire des Interactions Légumineuses–Microorganismes (LILM), détient plusieurs collections qu'il étudie pour leurs traits agronomiques et leur interaction avec les microorganismes (Jebara et al., 2001). Il est reconnu comme l'un des principaux centres de ressources génétiques de *M. truncatula* au niveau méditerranéen (Friesen et al., 2010).

L'Algérie participe à l'enrichissement des collections génétiques mondiales (Tableau 7).

Tableau 7 : Répartition des populations de *Medicago truncatula* provenant de divers pays et conservées dans les collections génétiques internationales.

Pays / Région d'origine	Collection / Institution	Nombre / type d'accès / populations	Commentaires / particularités	Référence / Source
France, Espagne, Portugal, Algérie, Grèce, Crète	INRA Montpellier	≈ 338 lignées inbreed de populations naturelles	Matériel auto-fécondé sur deux générations.	Ronfort et al., 2006
Australie	SARDI (South Australian Research & development Institute).	≈ 231 lignées inbreed de populations naturelles	Matériel auto-fécondé sur deux générations.	Ronfort et al., 2006
États-Unis (introductions)	AMGRC / SARDI import	231 introductions	Introductions issues du germoplasme mondial maintenu par SARDI	Ronfort et al., 2006
Grèce	Collection nationale/ locale	Accès locaux de * <i>M. truncatula</i> *	Étude de la diversité géographique locale	Akritidis et al., 2009
Tunisie	Populations naturelles tunisiennes (11 populations)	106 lignées issues de 11 populations	Diversité pour la réponse au stress salin ; collecte selon gradients édaphiques et hydriques	Arraouadi et al., 2011 ; Friesen et al., 2010
Région méditerranéenne (large)	Collections germoplasmes globales	346 lignées inbreed couvrant l'aire d'origine	Très grande diversité génétique révélée par microsatellites,	Ronfort et al., 2006

3.6. Interactions de *Medicago truncatula* avec les insectes et les microorganismes

3.6.1. Interactions avec les insectes

Les premières recherches de Klingler et *al.* (2005) ont permis d'identifier deux gènes majeurs de résistance chez *Medicago truncatula* : AKR (*Acyrtosiphon kondoi* Resistance), conférant une résistance au puceron bleu-vert du trèfle (*Acyrtosiphon kondoi* Shinji), et AIN (*Acyrtosiphon-Induced Necrosis*), impliqué dans une réponse de type hypersensibilité.

Parallèlement, Guo et *al.* (2012) ont démontré, chez la lignée *Jester*, l'existence de deux gènes indépendants conférant une résistance à *Acyrtosiphon kondoi* et au puceron du pois (*Acyrtosiphon pisum* Harris).

Les travaux ultérieurs de Gao et *al.* (2010) ont permis, par analyses transcriptomiques, d'identifier plusieurs régulateurs précoces impliqués dans la signalisation hormonale et les voies de défense dépendantes de l'acide jasmonique (JA) et de l'éthylène (ET).

Plus récemment, Kamphuis et *al.* (2019) ont montré que la résistance résulte d'interactions épistatiques complexes entre les loci AKR et AIN, suggérant une coévolution dynamique entre *Medicago truncatula* et ses insectes ravageurs.

Enfin, les travaux de Jacques et *al.* (2020) ont confirmé que *M. truncatula* constitue un modèle robuste pour la dissection des bases génétiques et moléculaires de la résistance aux insectes chez les légumineuses cultivées, ouvrant ainsi la voie à l'amélioration variétale d'espèces d'intérêt agronomique telles que la luzerne (*Medicago sativa* L.) et le pois chiche (*Cicer arietinum* L.).

3.6.2. Interactions symbiotiques avec les microorganismes

M. truncatula forme des nodules avec *Sinorhizobium meliloti* pour fixer l'azote, et développe des mycorhizes à arbuscules avec des champignons comme *Glomus mosseae*. Lors de l'infection initiale par *G. mosseae* les études protéomiques ont révélé l'expression différentielle de protéines symbiotiques (Colditz et Braun, 2010 ; Cervantes-Pérez et *al.*, 2022). Ces associations jouent un rôle essentiel dans la nutrition azotée et minérale des légumineuses et constituent des modèles de choix pour l'étude des mécanismes moléculaires des interactions plante-microorganisme (Barker et *al.*, 1990 ; Oldroyd & Downie, 2008).

Un autre aspect du modèle *M. truncatula*-*Sinorhizobium. meliloti* est la différenciation terminale des bactéroïdes, régulée par une vaste famille de peptides NCR (Nodule-specific Cysteine-Rich) qui à leurs tours modifient profondément la

morphologie et le métabolisme des bactéries afin d’optimiser la fixation d’azote (Horváth et al., 2023). Des études récentes ont montré que certains peptides sont essentiels au maintien de nodules fonctionnels et à la persistance des rhizobia (Saifi et al., 2024).

Outre les symbioses classiques avec *Sinorhizobium meliloti* et *Glomus mosseae*, *M. truncatula* interagit avec divers microorganismes bénéfiques, incluant des bactéries endophytes, des champignons du genre *Trichoderma* et *Serendipita*, ainsi que des diazotrophes libres et des bactéries solubilisatrices de phosphate. Ces interactions, souvent complémentaires, contribuent à la nutrition, à la croissance et à la résistance de la plante aux stress (Genre et al., 2011 ; Ramírez-Ordorica et al., 2020 ; Burns et al., 2021).

3.6.3. Interactions avec les champignons pathogènes

M. truncatula est hôte de nombreux champignons nécrotrophes comme *Phoma medicaginis*, responsable de lésions importantes sur les tiges et les feuilles de cette plante (Djebali, 2008), ou encore *Fusarium oxysporum* (Tableau 8). Ce qui fait également de cette plante un modèle idéal pour étudier ses interactions avec les pathogènes dans de nombreux pathosystèmes.

Tableau 8 : Principales espèces fongiques provoquant des réactions différentielles parmi les différentes populations de *Medicago truncatula*.

Espèce fongique	Hôte d'origine	Nom de la maladie	Référence
<i>Colletotrichum trifolii</i>	<i>Medicago sativa</i>	Anthracnose	O'Neill et Bauchan (2000)
<i>Fusarium Oxysporum</i>	<i>M. sativa</i>	Fusariose	Ramírez-Suero et al. (2010)
<i>Leptosphaerulina trifolii</i>	<i>M. truncatula</i>	Tache foliaire	Barbetti (1995)
<i>Mycosphaerella pinodes</i>	<i>Pisum sativum</i>	Tache noire	Moussart et al., (2007)
<i>Phoma medicaginis</i>	<i>M. truncatula</i>	Tige noire	Ellwood et al., (2006)

Les chercheurs ont repéré des régions du génome (QTL) liées à la résistance aux maladies : par exemple, au flétrissement bactérien (chromosome 5) ou encore à *Verticillium* (chromosomes 2, 6 et 7) (Ramirez, 2009 ; Ben et *al.*, 2012).

Des pathogènes comme *Erysiphe pisi* (Ameline-Torregrosa et *al.*, 2008a) ou *Colletotrichum* spp., incluant des nécrotrophes et des hémibiotrophes, provoquent aussi des maladies graves chez les légumineuses (Perfect et *al.*, 1999).

3.7. Utilisation de *M. truncatula* comme source de résistance aux parasites des légumineuses cultivées

Medicago truncatula constitue un excellent modèle pour l'étude des mécanismes de résistance chez les légumineuses (Young et *al.*, 2011). Le criblage de populations naturelles vis-à-vis de différents pathogènes a révélé une large variabilité génétique et phénotypique, allant de la sensibilité à une résistance complète (Rubiales et Moral, 2004 ; Moussart et *al.*, 2007). Selon les interactions, la plante exprime soit une résistance totale associée à une réponse hypersensible, soit une résistance partielle ou quantitative se traduisant par une réduction de la sévérité des symptômes (Ben et *al.*, 2013 ; Ramírez-Suero et *al.*, 2010). Cette diversité comportementale permet la réalisation de croisements entre lignées contrastées afin d'analyser la ségrégation des caractères de résistance et d'identifier les loci impliqués dans ces réponses (Ameline-Torregrosa et *al.*, 2008 ; Toueni et *al.*, 2016 ; Fartash et *al.*, 2023).

Dans l'ensemble, les études confirment que *M. truncatula* représente un réservoir majeur de gènes de résistance mobilisables pour la compréhension des mécanismes de défense des légumineuses et pour le transfert potentiel de gènes ou de stratégies de sélection vers des espèces cultivées (Tableau 9).

Tableau 9 : Etudes illustrant la variabilité naturelle de la réponse de *Medicago truncatula* aux agents pathogènes de légumineuses.

Pathogène / Maladie	Lignées / Accessions étudiées	QTL / SNP Identifiés	Position sur la carte / Particularité	Niveau de résistance	Référence
<i>Colletotrichum trifolii</i>	Collection US A17 × F83005.5	2 / 1	LG4 / LG6 ; LG4	HR / HR / HR	O'Neill & Bauchan, 2000 ; Ameline-Torregrosa et al., 2008a
<i>Erysiphe pisi</i>	Collection US A17 / DZA315.16	3	LG4 et LG5	HR / HR	Yaeger & Stuteville, 2002; Ameline-Torregrosa et al., 2008a
<i>Aphanomyces euteiches</i>	Collection US A17 × F83005.5 Collection française	1	LG3	T / T / R	Vandemark & Grunwald, 2004 ; Moussart et al., 2007
<i>Phoma medicaginis</i>	Collection US Collection SARDI DZA45.5 / F83005.5 SA27063 × SA3054 SA27063 × A17	1 / 1	LG8 ; LG4	HR / T / HR / HR	O'Neill et al., 2003 ; Ellwood et al., 2006 ; Djebali et al., 2007 ; Kamphuis et al., 2008.
<i>Uromyces utriatus</i>	SA29831 / SA22182 DZA045 / Jemalong	-	-	HR / HR	Rubiales & Moral, 2004 ; Kemen et al., 2005.
<i>Peronospora trifoliorum</i>	Collection US	-	-	HR	Yaeger & Stuteville, 2000
<i>Ralstonia solanacearum</i>	A17 × F83005.5	3	LG3, LG5 et LG7	HR	Vailleau et al., 2007.
<i>Mycosphaerella pinodes</i>	Collection française	-	-	R	Moussart et al., 2007.
<i>Ascochyta medicaginicola</i>	HM078 (résistant) / A17 (sensible)	22 gènes candidats (rnp1, rnp2)	LG4 ; LG8	HR (HM078) / Sensible (A17)	Botkin & Curtin et al., 2024
<i>Ascochyta medicaginicola</i>	Accessions SA27063	QTL rnp1 / rnp2	LG4 ; LG8 ; variations structurales	Résistance récessive	Botkin et al., 2024
<i>Verticillium alfalfae</i>	242 accessions méditerranéens	30 SNP (GWAS)	Différentes positions selon l'isolat et la température	Résistance quantitative	Fartash et al., 2023
<i>Verticillium alfalfae</i>	A17 / F83005.5	Modules de co-expression (gènes PTI, ABA)	Racines ; réponse transcriptionnelle	Résistance relative (A17)	Toueni et al., 2016
<i>Verticillium alfalfae</i>	Deux gènes étroitement liés	Résistance divergente	Chromosome identifié via GWAS	Tolérance / résistance partielle	Lin et al., 2022

**4. Potentiel antagoniste des
champignons du genre *Trichoderma*
en lutte biologique**

4.1 Introduction

Selon l'étude de référence Savary et al. (2019) publiée dans *Nature Ecology & Evolution*, les agents pathogènes causent des pertes globales de rendements d'environ 25% en moyenne pour les principales cultures alimentaires mondiales.

La protection des végétaux en général, et la protection des cultures contre les maladies végétales en particulier, ont un rôle évident à jouer pour répondre à la demande croissante en matière de qualité et de quantité alimentaires (Strange et Scott 2005).

Diverses méthodes de lutte ont été proposées par les chercheurs pour gérer les nombreuses maladies, mais la lutte biologique est l'une des méthodes les plus efficaces, car à la fois écologique et rentable. Sur le plan biologique, elle peut être mise en œuvre à l'aide de divers agents biologiques tels que différentes souches de *Trichoderma*, *Pseudomonas fluorescents*, des champignons mycorhiziens, *Streptomyces* ...etc (Kumar et al. 2011 ; Dehariya et al. 2015).

La lutte biologique gagne en popularité auprès des agriculteurs et chercheurs grâce à son efficacité dans la gestion des maladies et son faible impact négatif sur l'environnement. Parmi les agents de biocontrôle les plus utilisés, le *Trichoderma spp.* présente un immense potentiel pour lutter contre les maladies causées par le *Fusarium spp.*, dont l'application dans l'agriculture est encore limitée. *Trichoderma sp.* se distingue surtout par son omniprésence dans les sols, son association symbiotique aux racines des plantes qui optimise les flux de nutriments et sa capacité à favoriser leur croissance en concurrençant les pathogènes telluriques (Althaf and Srinivas 2013 ; Lace et al. 2014).

4.2. Concept de lutte biologique

La lutte biologique consiste à réduire la densité ou le potentiel infectieux d'un agent pathogène en utilisant des organismes vivants autres que l'homme (Cook et Baker, 1983). Elle peut également être perçue comme une approche visant à restaurer la biodiversité des agro-écosystèmes en exploitant des antagonistes naturels, tels que des prédateurs ou des parasites (Altieri, 1999 ; Nautiyal et al., 2000 ; Aouar, 2012).

4.3. Intérêt de la lutte biologique dans la gestion des agents phytopathogènes

La lutte biologique présente des avantages environnementaux et économiques significatifs à long terme (Calatayud, 2013). L'introduction de microorganismes capables de rendre un sol suppressif à certaines maladies est particulièrement prometteuse, surtout actuellement dans le contexte où l'utilisation excessive de produits phytosanitaires chimiques ne cesse de soulever de plus en plus de préoccupations environnementales (Lugtenberg et *al.*, 2001).

Selon Emmert et Handelsman (1999), la lutte biologique peut être tout aussi efficace que les fongicides chimiques dans le contrôle des maladies phytopathogènes. Les microorganismes, grâce à leur diversité, leur ubiquité et leur capacité de colonisation de la rhizosphère, constituent une alternative prometteuse (Berg et *al.*, 2005).

Parmi les agents de biocontrôle, les champignons de genre *Trichoderma* se distinguent par l'abondance des travaux consacré à leurs mécanismes de défense. Ces champignons saprophytes agissent selon plusieurs mécanismes : la compétition pour les nutriments et l'espace, la production de métabolites antimicrobiens (ou antifongiques) et la stimulation de la défense naturelle chez la plante (Harman et *al.*, 2004 ; Kubicek et *al.*, 2011).

De nombreux travaux soulignent l'efficacité de *Trichoderma* spp. Contre divers phytopathogènes, notamment les genres *Fusarium*, *Rhizoctonia* et *Botrytis* (Kullnig-Gradinger et *al.*, 2002 ; Ban et *al.*, 2022).

Le succès de la lutte biologique contre les champignons telluriques dépend en grande partie de la performance des agents utilisés, lesquels combinent souvent plusieurs modes d'action (Cook, 1993 ; Benbrook et *al.*, 1996) et doivent être capables de coloniser efficacement la rhizosphère des plantes, une aptitude connue sous le nom de compétence rhizosphérique (Whipps, 2001).

4.4. Le genre *Trichoderma*

4.4.1. Historique

Le champignon *Trichoderma* a été décrit pour la première fois comme genre par Persoon en 1794. Par la suite, Tulasne & Tulasne (1865) ont identifié la forme sexuée de certaines espèces sous le nom d'*Hypocrea*, ce qui a permis une meilleure compréhension de leur cycle de vie. L'intérêt biologique et agronomique de ce genre s'est considérablement accru après les travaux pionniers de Weindling (1932), qui a démontré la capacité de *Trichoderma* à parasiter d'autres champignons phytopathogènes, initiant ainsi son utilisation comme agent de lutte biologique.

4.4.2. Caractéristiques morphologiques et écologiques

Les espèces du genre *Trichoderma* se caractérisent par des hyphes filamenteux. Les conidiophores sont ramifiés, terminés par des phialides pyramidales disposées par paires, produisant des conidies asexuées elliptiques et hyalines devenant vertes à maturité (Gams & Bissett, 1998 ; Kubicek *et al.*, 2011) (Figure 12).

Les *Trichoderma* ont une croissance rapide et un développement optimal à des températures comprises entre 25 et 30 °C. Les espèces appartenant sont ubiquistes et prédominent dans les sols riches en matière organique (Druzhinina et Kubicek, 2005).

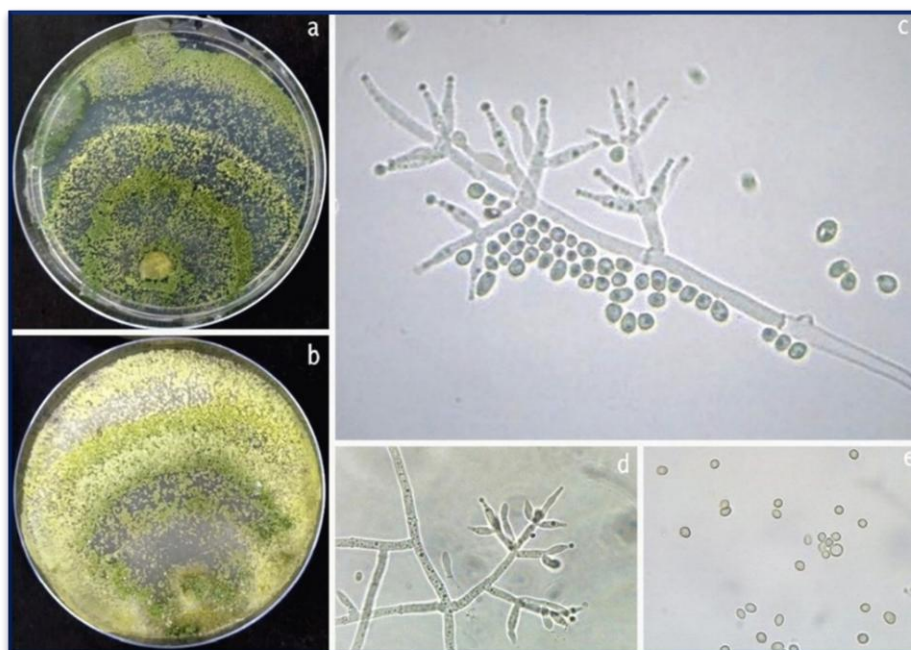


Figure 12 : *Trichoderma ghanense*. (a, b) Cultures à 27 °C, 7 jours (a. sur PDA ; b. sur CMA) ; (c, d) Conidiophores sur phialides; (e) Conidia (PDA, 2 jours) (Jambhulkar *et al.*, 2024).

4.4.3. Taxonomie et identification moléculaire

Historiquement, le genre *Trichoderma* était classé parmi les Deuteromycotina, en raison de l'absence de reproduction sexuée observée (Gams, W., et Bissett, J. 1998). Les avancées de la biologie moléculaire et les révisions taxonomiques ont conduit à son rattachement aux Ascomycota, ordre des Hypocreales (Kullnig-Gradinger et *al.*, 2002 ; Bissett et *al.*, 2015). Dans ce cadre, *Hypocrea* correspond à la forme sexuée (téléomorphe) et *Trichoderma* à la forme asexuée (anamorphe). Aujourd'hui, ces deux appellations sont considérées comme désignant un seul et même genre qui intégré à la famille des Hypocreaceae (Kubicek et *al.*, 2011 ; Chaverri et *al.*, 2015).

La position taxonomique actuelle des *Trichoderma* est la suivante (Bissett et *al.*, 2015) :

• Embranchement	Amastigomycota
• Sous embranchement	Ascomycotina
• Classe	Sordariomycètes
• Ordre	Hypocréales
• Famille	Hypocraceae
• Genre	<i>Trichoderma</i>

La différenciation des espèces de *Trichoderma* demeure complexe, en raison de leur nature clonale et de l'absence d'un stade sexué observable chez la majorité d'entre elles. Pour résoudre ces difficultés, plusieurs outils moléculaires ont été développés. Le système TrichoKEY (Druzhinina et *al.*, 2005), associé à des marqueurs comme les régions ITS, *tefl-α* et *rpb2*, permet une identification par BLAST via la plateforme TrichoMARK. Plus récemment, Dou et *al.* (2020) ont proposé un système d'identification multilocus automatisé (MIST).

4.4.4. Diversité et habitat des espèces

Les espèces de *Trichoderma* sont généralement considérées comme symbiotes opportunistes non pathogènes. Elles sont capables de coloniser la rhizosphère et d'établir des interactions bénéfiques avec les plantes. Ces interactions sont médiées par des protéines effectrices et des signaux hormonaux, en échange de sucres provenant des plantes colonisées (Hermosa et *al.*, 2012 ; Brotman et *al.*, 2013). Les bénéfices pour les plantes ne se limitent pas à l'amélioration de leur nutrition ou de leur croissance, mais incluent également leur protection contre les pathogènes, soit directement par

mycoparasitisme et compétition, soit indirectement par l'induction de leurs mécanismes de défense (Poveda, 2021 ; Pelagio-Flores et *al.*, 2022).

4.4.5. Modes d'action des *Trichoderma*

Les mécanismes de biocontrôle exercés par les espèces du genre *Trichoderma* reposent à la fois sur des actions directes et indirectes. Les interactions directes incluent le mycoparasitisme, la compétition pour les nutriments et l'espace, ainsi que la production d'antibiotiques et de métabolites antifongiques (Harman et *al.*, 2004 ; Zeilinger et *al.*, 2016). À l'inverse, les effets indirects passent par l'activation des défenses végétales, notamment par l'induction de la résistance systémique induite (ISR), via la modulation des voies de signalisation dépendantes de l'acide jasmonique (JA), de l'éthylène (ET) et de l'acide salicylique (SA) (Pieterse et *al.*, 2012 ; Pelagio-Flores et *al.*, 2022) (Figure 13).

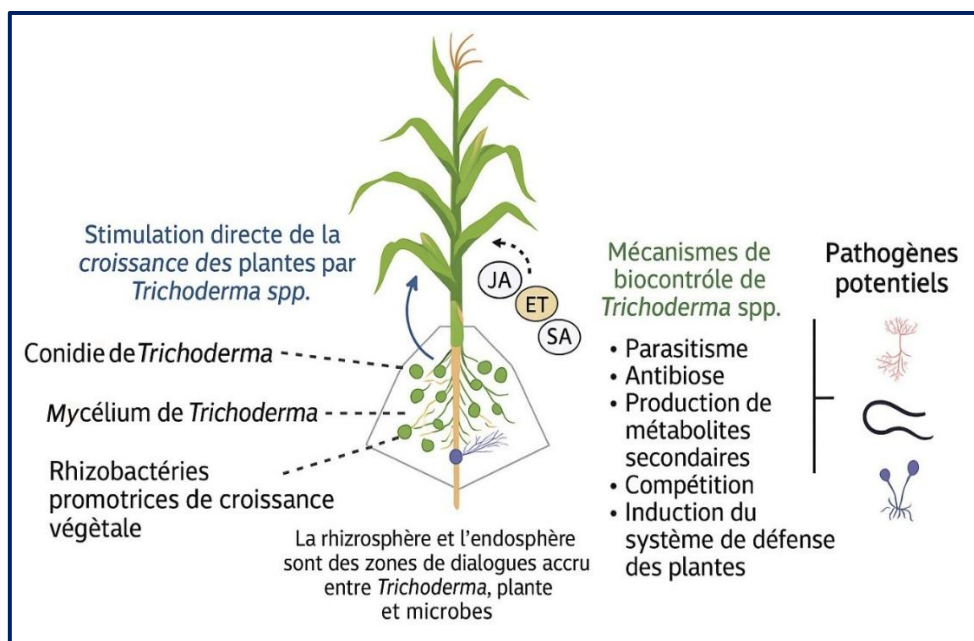


Figure 13. Biostimulation directe et propriétés de biocontrôle des espèces de *Trichoderma* (Guzmán et *al.*, 2023).

4.4.5.1. Mycoparasitisme

Le mycoparasitisme est un mécanisme par lequel un champignon antagoniste, appelé mycoparasite, colonise et exploite un autre champignon, souvent phytopathogène. Chez les espèces du genre *Trichoderma*, ce processus constitue un mode d'action central, car il combine l'inhibition directe de la croissance des agents pathogènes fongiques avec l'acquisition de composés nutritifs essentiels au développement du mycoparasite (Benítez et *al.*, 2004 ; Harman et *al.*, 2004).

Selon leur stratégie nutritionnelle, certaines espèces de *Trichoderma* sont qualifiées de biotrophes, interagissant avec l'hôte sans provoquer sa mort immédiate, tandis que la majorité sont dites nécrotrophes, car entraînant la lyse et la destruction rapide du champignon cible (Zeilinger et *al.*, 2016 ; Mukherjee et *al.*, 2022).

Le processus de mycoparasitisme se déroule généralement en trois étapes successives (Figure 14). :

- Reconnaissance : le mycoparasite perçoit des signaux chimiques (molécules de surface ou exsudats) émis par le champignon hôte, ce qui déclenche l'orientation de sa croissance.
- Adhésion : les hyphes de *Trichoderma* s'attachent fermement à ceux de l'hôte, souvent en formant des structures spécialisées comme des appressoria ou des enroulements autour des hyphes pathogènes.
- Dégradation : le mycoparasite sécrète un arsenal enzymatique (chitinasés, glucanases, protéases) et parfois des métabolites antifongiques, provoquant la lyse de la paroi cellulaire de l'hôte et sa destruction progressive (Zeilinger et *al.*, 2016).

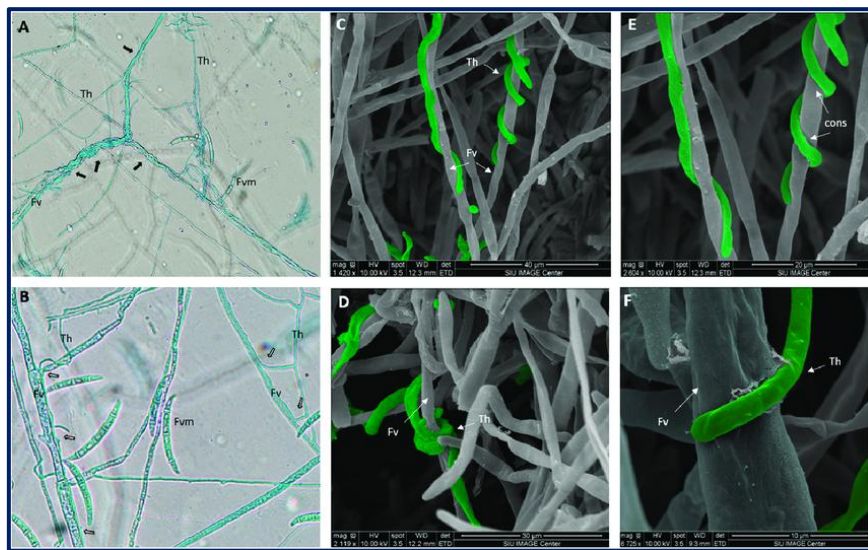


Figure 14. Parasitisme de *Trichoderma harzianum* contre *Fusarium virguliforme* observé en microscopie optique $\times 20$ (A et B) et en microscopie électronique à balayage $\times 40$ (C, D, E et F) (Pimentel et *al.*, 2022).

A : Hyphes de *T. harzianum* (**Th**) enroulées autour des hyphes de *F. virguliforme* (**Fv**) (flèches noires pleines). **B :** Hyphes de *T. harzianum* croissant parallèlement et en étroite association avec celles de *F. virguliforme* (flèches noires vides) et avec les macroconidies de *F. virguliforme* (**Fvm**). **C et D :** Hyphes de *F. virguliforme* enroulées par les hyphes de l'antagoniste, avec pénétration des hyphes (**hp**). **E :** Enroulement observé à un plus fort grossissement, montrant une dépression des hyphes de *F. virguliforme* (**hd**) causée par *T. harzianum* dans la zone d'enroulement. **F :** Début de l'enroulement, avec une dégradation apparente de la paroi cellulaire de *F. virguliforme* (**dew**) dans la zone d'interaction.

4.4.5.2. Antibiose

Le phénomène d'antibiose repose sur la biosynthèse et la sécrétion de métabolites secondaires présentant une activité cytotoxique vis-à-vis d'un large spectre d'agents pathogènes. La synthèse de ces composés est généralement déclenchée en réponse à la présence d'un hôte ou d'un micro-organisme concurrent. Ces substances peuvent inhiber la croissance mycélienne, perturber l'intégrité et la perméabilité des membranes cellulaires, ou encore interférer avec divers processus physiologiques essentiels des agents pathogènes (Harman et *al.*, 2004 ; Zeilinger et *al.*, 2016).

Parmi les métabolites antibactériens et antifongiques les plus connus figurent les peptaïbols, une classe d'antibiotiques polypeptidiques produits par des synthétases de peptides non ribosomiques (NRPS).

Outre les peptaïbols, les espèces de *Trichoderma* produisent des polycétides, métabolites issus de la voie des polycétides synthases (PKS).

Par ailleurs, plusieurs espèces sont capables de produire le 6-pentyl- α -pyrone (6PAP), un métabolite volatil qui possède une forte activité antifongique, notamment contre *F. oxysporum* (Vinale et *al.*, 2008).

D'autres métabolites secondaires comme les anthraquinones (pachybasine, chrysophanol, émodine) ou les épipolythiodioxopipérazines (ETP), dont la gliotoxine, jouent également un rôle crucial dans l'enroulement mycoparasitaire, contribuant à la neutralisation du pathogène et à la compétition dans la rhizosphère (Mukherjee et *al.*, 2022 ; Ghisalberti & Sivasithamparam, 1991).

4.4.5.3. Compétition pour les nutriments et l'espace

La compétition pour les nutriments et l'espace constitue l'une des stratégies écologiques majeures par lesquelles les champignons antagonistes limitent le développement des agents phytopathogènes. Cette interaction repose sur la colonisation rapide d'habitats partagés, tels que la rhizosphère, la phyllosphère ou encore les tissus végétaux endophytiques, et sur la capacité à monopoliser les ressources essentielles (Harman et *al.*, 2004 ; Benítez et *al.*, 2004).

Les espèces de *Trichoderma* se distinguent par une croissance rapide et agressive, leur permettant d'occuper efficacement les substrats disponibles et de supplanter les pathogènes à développement plus lent (Vinale et *al.*, 2008 ; Zeilinger et *al.*, 2016). Ce

succès compétitif est en partie lié à leur aptitude à métaboliser une large gamme de substrats carbonés, allant des sucres simples (glucose, fructose) aux polysaccharides complexes (cellulose, hémicellulose), ce qui facilite leur implantation dans divers environnements, notamment la rhizosphère (Lorito et *al.*, 2010 ; Mukherjee et *al.*, 2022).

Trichoderma contribue également à mobiliser les nutriments du sol grâce à la sécrétion d'acides organiques tels que l'acide gluconique, l'acide citrique et l'acide fumarique. Ces composés abaissent le pH local, augmentant la solubilisation des phosphates et des micronutriments essentiels tels que le fer (Fe), le manganèse (Mn) ou le magnésium (Mg), améliorant ainsi leur disponibilité pour les plantes (Altomare et *al.*, 1999 ; Singh et *al.*, 2019).

Une autre stratégie de compétition particulièrement efficace repose sur la production de sidérophores, de puissants chélateurs du fer (Figure 15). En séquestrant le Fe^{3+} dans l'environnement, *Trichoderma* limite la disponibilité de ce micronutriment indispensable à la croissance de nombreux pathogènes fongiques.

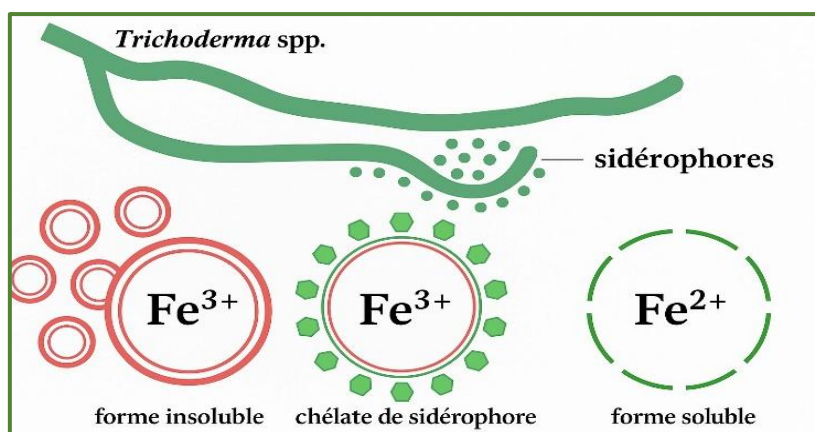


Figure 15. Transformation de la forme insoluble du fer (Fe^{3+}) en une forme soluble et facilement assimilable (Fe^{2+}) par des sidérophores produits par *Trichoderma* (Tyśkiewicz et *al.*, 2022).

Des études *in vitro* ont montré que cette compétition pour le fer permet d'inhiber la croissance de plusieurs champignons pathogènes tels que *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata* ou *Alternaria infectoria* lors de co-cultures avec *T. harzianum* (Sharma et *al.*, 2014).

Cette compétition ne se limite pas à la rhizosphère : *Trichoderma* est également capable d'occuper la phyllosphère et les tissus endophytiques, y exerçant une pression compétitive similaire à celle observée au niveau racinaire.

4.4.5.4. Induction de la résistance des plantes

La capacité des souches de *Trichoderma* à coloniser durablement la rhizosphère constitue un prérequis fondamental pour une protection biologique efficace. Une fois établies, ces souches libèrent des éliciteurs moléculaires – tels que des oligosaccharides, glycoprotéines, des protéines hydrophobines ou des composés lipophiles – capables d'activer des réponses immunitaires locales et/ou systémiques chez la plante hôte (Benítez et *al.*, 2004 ; Harman et *al.*, 2004).

Des molécules sont reconnues par des récepteurs de type PRR (Pattern Recognition Receptors) situés sur la membrane plasmique ou dans le cytoplasme, stimulant ainsi l'immunité déclenchée par les motifs (MTI) ou par les effecteurs (ETI) (Figure 16), et induisant la production de composés antimicrobiens, d'enzymes antioxydantes (telles que la catalase, la peroxydase et la superoxyde dismutase) ainsi qu'un renforcement des parois cellulaires par dépôts de callose (Pieterse et *al.*, 2012 ; Martínez-Medina et *al.*, 2013 ; Hasanuzzaman et *al.*, 2020).

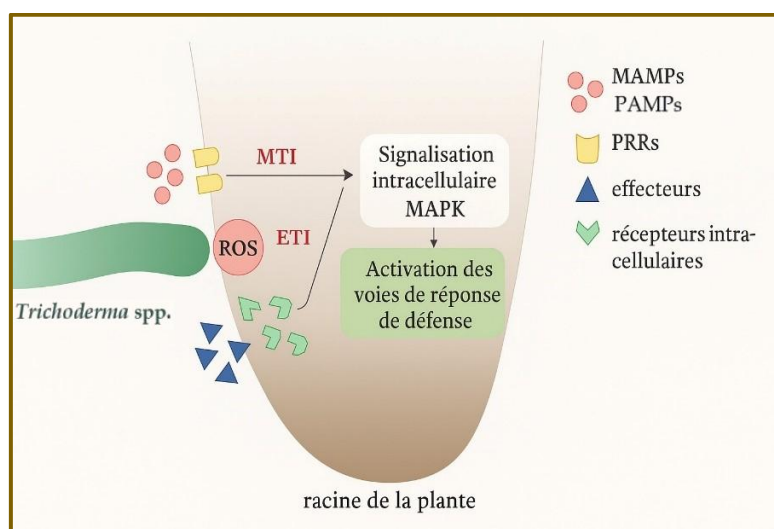


Figure 16. Voies de défense des plantes induites par les motifs moléculaires associés aux microbes (MAMPs /PAMPs) et les effecteurs de *Trichoderma* non pathogènes (Tyśkiewicz et *al.*, 2022).

En fonction de la nature du signal perçu et de la souche de *Trichoderma* impliquée, différentes formes de résistance systémique peuvent être activées chez la plante hôte (Figure 17). La résistance systémique acquise (SAR) est principalement dépendante de l'acide salicylique (SA), tandis que la résistance systémique induite (ISR) est modulée par l'acide jasmonique (JA) et l'éthylène (ET). À cela s'ajoute la résistance induite (IR), déclenchée par l'acide β -aminobutyrique (BABA) et régulée par l'acide abscissique

(ABA), permettant une réponse plus large aux stress abiotiques et biotiques (Pieterse et al., 2012 ; Conrath et al., 2015).

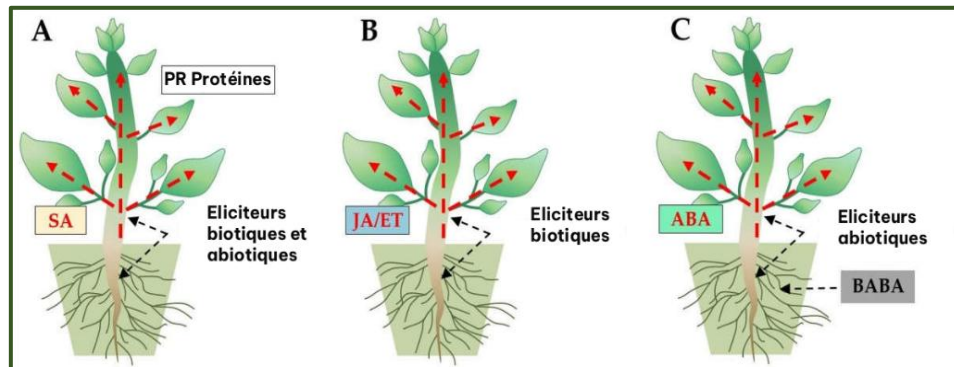


Figure 17 : Types de résistance induite chez les plantes (A) résistance systémique acquise (SAR), (B) résistance systémique induite (ISR), (C) résistance induite (IR), déclenchée par *Trichoderma* espèces (éliciteur biotique). ISR et IR (Tyśkiewicz et al., 2022).

La capacité de *Trichoderma* à activer ou réprimer certaines voies dépend fortement de l'espèce, de la souche et du type d'éliciteur. Par exemple, Tal6, une protéine sécrétée par certaines souches, interagit avec la paroi végétale sans déclencher de réponse immunitaire, ce qui permet de contourner l'activation de l'immunité de base (Dutta et al., 2023). Cette diversité souligne la nécessité de sélectionner rigoureusement les souches pour optimiser l'induction des défenses végétales, tout en maintenant un équilibre avec les autres membres bénéfiques du microbiote rhizosphérique.

4.4.5.5. Atténuation du stress abiotique

Trichoderma contribue à l'atténuation des effets du stress abiotique, en particulier la sécheresse, en stimulant la croissance racinaire, en améliorant la rétention d'eau dans les tissus végétaux et en retardant les réponses physiologiques associées au stress hydrique. Des souches comme *T. harzianum* et *T. longibrachiatum* ont démontré leur capacité à favoriser un enracinement plus profond chez la tomate, le riz ou encore le cacaoyer, ce qui optimise l'accès aux ressources hydriques (Nieto-Jacobo et al., 2017 ; Akbari et al., 2024). De plus, la colonisation des racines par *Trichoderma* améliore l'équilibre hydrique en retardant la fermeture des stomates et la réduction de la photosynthèse, tout en augmentant l'expression des gènes de réponse au stress (Oljira et al., 2020 ; Akbari et al., 2024).

4.4.5.6. Amélioration des paramètres physiologiques de la plante

4.4.5.6.1. Production de chlorophylle

La colonisation des plantes par certaines souches de *Trichoderma*, telles que *T. harzianum*, est associée à une amélioration des paramètres physiologiques, notamment une augmentation du contenu foliaire en chlorophylle. Cette stimulation se traduit par une coloration plus intense des feuilles, signe d'une capacité photosynthétique renforcée. Des études récentes ont confirmé ces effets, indiquant que *Trichoderma* améliore l'efficacité photosynthétique via la modulation des gènes liés à la biosynthèse des pigments et à la performance des chloroplastes (Oljira et al. 2020 ; Contreras-Cornejo et al., 2024).

4.4.5.6.2. Production d'hormones végétales

La synthèse de phytohormones, en particulier l'acide indole-3-acétique (AIA), représente l'un des mécanismes fondamentaux par lesquels les espèces du genre *Trichoderma* favorisent la croissance végétale. L'AIA peut être générée directement par *Trichoderma* ou résulter de la biosynthèse endogène de la plante via des voies métaboliques impliquant le L-tryptophane (Garnica-Vergara et al., 2016). Cette hormone régule de manière déterminante la formation des racines latérales ainsi que le développement des poils absorbants, contribuant ainsi à l'optimisation de l'acquisition des nutriments. L'augmentation simultanée des concentrations d'AIA, de zéatine et d'ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylique) chez des plantes traitées par *T. harzianum* est corrélée à une stimulation du développement des organes aériens et racinaires (Mendoza-Mendoza et al., 2018 ; Hermosa et al., 2012 ; Gravel et al., 2007).

Par ailleurs, *Trichoderma* exerce des effets bénéfiques sur la croissance des plantes par la régulation de l'éthylène, une hormone associée aux réponses au stress (Contreras-Cornejo et al., 2009 ; Garnica-Vergara et al., 2016).

II. Partie Expérimentale

**1. Isolement, identification et
caractérisation de l'agent pathogène
responsable du flétrissement vasculaire**

1.1. Matériels et méthodes

1.1.1. Prospection des plantes malades

Des plantes de pois chiche présentant des symptômes typiques d'une fusariose vasculaire, comme le jaunissement et le flétrissement de la partie aérienne, sont collectés dans les régions du nord-ouest algérien au cours de la saison 2020–2021, ainsi que dans le nord-est du pays durant la saison 2021–2022.

Dans le cadre de cette étude, 11 wilayas ont été prospectées, permettant d'échantillonner l'agent pathogène dans 23 champs du pois chiche (Tableau 10 ; Figure 18).

Tableau 10 : Localisation des champs de pois chiche prospecté dans le nord-est et le nord-Ouest algérien.

Region	Wilaya	Localité	Coordonnées géographiques	Saison
Region du Nord-Ouest	TLEMCEM	Hjrat el Gatt	35°09'54.3"N+1°26'50.7"W	2020–2021
		Amieur	34°56'42.5"N+1°14'59.6"W	
		Sidi Ouriache	35°09'54.3"N+1°26'50.7"W	
	AIN TEMOUCHENT	El Emir Abdelkader	35°13'56.7"N+1°20'50.5"W	
		Sidi Ben Adda	35°16'36.2"N+1°13'43.1"W	
		Chaabet El Leham	35°17'43.2"N+1°05'10.6"W	
	SIDI BEL ABBES	Tessala	35°14'18.9"N+0°43'51.5"W	
		Sidi Brahim	35°16'15.8"N+0°35'04.5"W	
		Makedra	35°23'25.0"N+0°29'03.4"W	
	MASCARA	Mamounia	35°26'56.5"N+0°08'48.9"E	
		Tighennif	35°24'23.9"N+0°18'27.0"E	
	RELIZANE	Ouarizane	35°59'58.4"N+0°52'33.9"E	
Region du Nord-Est	MILA	Sidi Mérouane	36°30'22.9"N+6°16'35.1"E	2021–2022
		Zeghaïa	36°27'54.3"N+6°13'21.8"E	
		Zeghaïa	36°27'21.7"N+6°12'51.0"E	
	CONSTANTINE	Boudmegh	36°17'58.0"N+6°38'41.8"E	
		Beni Achour	36.294952, 6.641571	
	SNIKDA	Salah Bouchaour	36°43'22.0"N+6°51'29.3"E	
		Emdjez Edchich	36°42'43.2"N+6°47'47.8"E	
	ANNABA	Chbaita Mokhtar	36°46'38.1"N+7°44'18.4"E	
	EL TAREF	Drean	36°42'28.4"N+7°44'26.5"E	
	GUELMA	Ain Ben Beida	36°39'03.1"N+7°42'35.2"E	

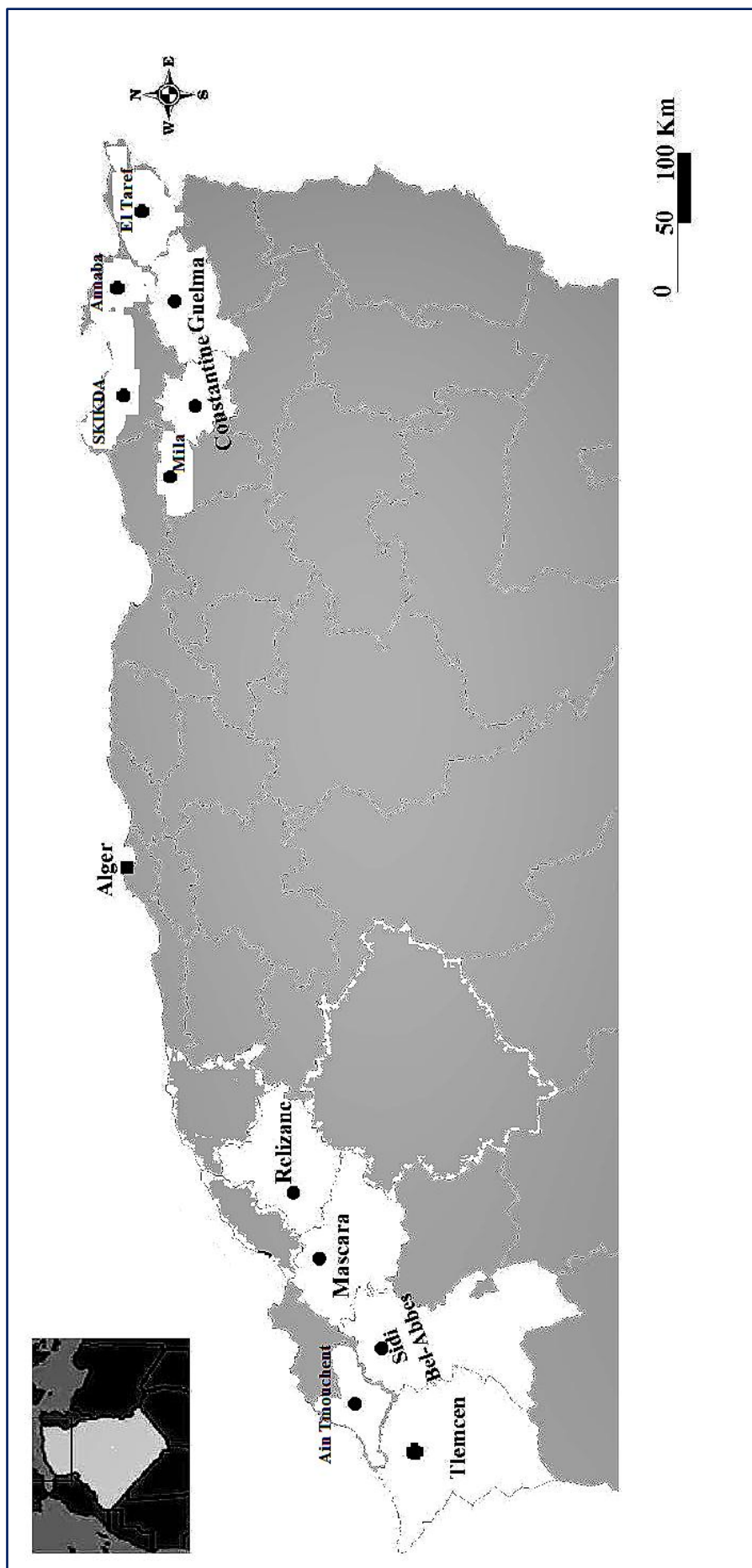


Figure 18 : Régions de prélèvements des échantillons de pois chiche

1.1.2. Isolement, purification et conservation de l'agent pathogène

1.1.2.1. Isolement

Des fragments d'une racine pivotante (5×5 mm) de plantes présentant des symptômes de flétrissement sont désinfectés en surface avec une solution d'hypochlorite de sodium à 2 % pendant 30 secondes, puis rincés trois fois à l'eau distillée stérile et séchés pendant environ 10 minutes entre deux feuilles de papier Joseph (Figure 19). Les explants sont placés sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) (Annexe1) en boîte de Pétri et incubés à 25 °C dans l'obscurité pendant 7 jours. Les colonies suspectes sont repiquées sur de nouvelles boîtes de PDA en sélectionnant exclusivement les hyphes marginales pour obtenir des souches pures.



Figure 19 : Plantes de pois chiche flétries destinées à l'isolement fongique

1.1.2.2. Purification des isolats et obtention des cultures monospores

La purification des isolats a été réalisée par culture monospore. Les colonies présentant les caractères typiques du genre *Fusarium* sont incubées à 25 °C pendant 10 jours sur PDA, dans l'obscurité. Pour chaque isolat, dix millilitres d'eau distillée stérile sont versés dans une boîte contenant sa colonie, puis la surface est grattée avec un scalpel stérile pour maximiser la libération des conidies.

La suspension conidienne est filtrée sur mousseline pour éliminer le mycélium et conserver les conidies libres. La concentration conidienne est ajustée à 10^2 spores/ml avec une cellule de Malassez. Un volume de 100 μ l de cette suspension est alors étalé sur une boîte de Pétri contenant du PDA à 1,5 % d'agar-agar.

Après une période d'incubation à 25 °C pendant 12 à 18 heures, les conidies germées sont repérées à la loupe binoculaire, prélevées aseptiquement à l'aide d'une aiguille stérile, puis transférées individuellement sur de nouvelles boîtes de Pétri contenant le même milieu de culture.

1.1.2.3. Conservation des isolats de l'agent pathogène

Des disques de papier filtre Whatman n°1 sont déposés de manière aseptique dans une boîte de Pétri, puis imprégnés d'une solution nutritive pauvre (Annexe 2). Les disques sont ensuite ensemencés à l'aide d'une suspension sporale (10^5 spores /ml) du pathogène, avant d'être mis à incuber à une température constante de 25°C pendant 7 jours.

Après la phase de croissance, le champignon se propage sur le papier en formant un réseau de filaments mycéliens visible, traduisant l'expansion active et la colonisation du substrat. La boîte de pétri est ensuite placée durant une semaine dans une étuve de pétri est ensuite placée durant une semaine dans une étuve réglée à 30°C afin d'assurer la dessiccation complète des papiers.

Les disques de papier sont placés dans des tubes Eppendorf stériles hermétiquement fermés et conservés à température ambiante de laboratoire.

Cette méthode de conservation du champignon sous formes de spores assure à l'espèce une longévité de plusieurs années (Belabid, 2003).

1.1.3. Identification morphologique de l'agent pathogène

Des fragments mycéliens jeunes sont montés dans du lactophénol bleu coton et observés au microscope (x40) pour examiner en détail les structures fongiques, la coloration spécifique facilitant la visualisation des parois cellulaires. L'ensemble des observations morphologiques et culturelles permet une première identification des isolats selon les critères décrits par Booth (1977) pour le genre *Fusarium*.

1.1.4. Test du postulat de Koch

L'adoption du principe du postulat de Koch constitue une étape essentielle pour établir de manière rigoureuse la responsabilité de *Fusarium* spp. isolé dans le

flétrissement vasculaire du pois chiche observé au niveau des champs prospectés.

1.1.4.1. Matériels

1.1.4.1.1. Matériel fongique

Les postulats de Koch ont été vérifiés pour 31 isolats de *Fusarium*, sélectionnés sur la base de leurs caractéristiques morphologiques distinctives et leur représentativité géographique.

1.1.4.1.2. Matériel végétal

Le test de pathogénicité est réalisé sur le cultivar ILC-482 (ICARDA), fourni par l'ITGC d'Alger, reconnu pour sa sensibilité au flétrissement vasculaire du pois chiche (Alloosh et al., 2019 ; Aydın & İnal, 2019).

1.1.4.1.3. Substrat

Un sol sablonneux a été mélangé avec du terreau (v/v) afin d'éviter tout manque d'éléments nutritifs. Le sol a été autoclavé deux fois à 121°C pendant 20 minutes pour éliminer la microflore pathogène ou saprophyte endogène.

1.1.4.2. Méthodes

1.1.4.2.1. Prégermination des graines

Les graines de pois chiche sont désinfectées superficiellement par trempage dans une solution de NaClO (1%) pendant 3 minutes, puis rincées 3 à 4 fois à l'eau stérile pour éliminer les traces du produit. Elles sont ensuite mises à prégermer dans du coton imbibé d'eau distillé stérile à 25 °C pendant 48 heures (ISTA, 2015 ; Korter et al., 2023).

1.1.4.2.2. Conditions de culture

Quatre graines prégermées sont semées dans des pots en plastique (30 × 20 cm) contenant un mélange stérile de terreau et sable (v/v). Les pots sont placés en plein champ pendant deux mois (avril, mai) et arrosés à l'eau de puits selon les besoins des plantules.

1.1.4.2.3. Dispositif expérimental

L'essai est effectué dans des pots en plastique disposés sur une palette en bois. Les graines sont semées à raison de 4 graines par pot. Pour chaque isolat, nous avons réalisé 3

répétitions. Pour cela, nous avons opté pour un dispositif expérimental du type « complètement aléatoire ». Les plantes témoins sont semées de la même façon.

1.1.4.2.4. Inoculation des plantules et notation des symptômes

Sept jours après le semis, au stade 3–4 feuilles, les plantules sont délicatement extraites du substrat, leurs racines sont immergées pendant 30 minutes dans une suspension conidienne (10^6 conidies·mL⁻¹) du *Fusarium* (Gao et al., 1995 ; Ficcadenti et al., 2002). Les suspensions conidienne sont préparées à partir de cultures de 10 jours cultivées sur milieu de culture PDA. Les témoins sont traités avec de l'eau stérile, sans le pathogène.

Après l'inoculation, les plantes sont replantées dans leur substrat d'origine et cultivées dans les conditions décrites ci-dessus.

Les principaux symptômes recherchés sont le flétrissement le jaunissement foliaire et la nécrose vasculaire au niveau des racines. Ils sont notés dès leur apparition.

1.1.4.2.5. Réisolement du pathogène

Après inoculation de plants sains et apparition des symptômes caractéristiques, *Fusarium* a été réisolé de l'hôte infecté. Cette étape nous a permis la confirmation que le pathogène réisolé est identique à celui initialement inoculé, validant ainsi de manière rigoureuse la relation de cause à effet entre le *Fusarium* et la maladie observée.

1.1.5. Identification moléculaire des isolats de l'agent pathogène

Deux à trois morphotypes représentatifs de l'ensemble de chaque localité d'étude sont séquencés dans la région du gène EF1-alpha, afin de couvrir la diversité observée parmi les isolats de *Fusarium* et permettre l'identification de l'espèce du pathogène.

1.1.5.1. Extraction de l'ADN génomique des isolats

Après incubation sur PDA (25°C, obscurité, 7 jours), les cultures fongiques ont été récoltées. Pour chaque extraction d'ADN, environ 100mg de mycélium ont été prélevés par raclage des colonies issues de 3 boîtes de Petri par isolat. L'extraction de l'ADN génomique a été réalisée à l'aide du kit commercial NucleoSpin® Plant II (Macherey-Nagel), conformément au protocole du fabricant :

-Lyse cellulaire et désintégration mécanique

Le mycélium récolté a été transféré dans un tube Eppendorf de 1,5 ml contenant 200 µl de solution A, 20 µl de RNase A (afin d'éliminer les ARN contaminant l'extrait) et 100 mg de billes de verre. Le mélange a été vortexé vigoureusement pendant 30 minutes afin d'assurer une lyse mécanique complète.

-Digestion protéique

Après lyse et rupture des parois et membranes cellulaires du mycélium fongique, 20 µl de protéinase K (10 mg/ml) sont ajoutés au mélange. Le tube est alors incubé à 55 °C pendant 30 minutes pour permettre la digestion des protéines. Une centrifugation à 12 000 rpm pendant 2 minutes permet de séparer les débris cellulaires. Le surnageant contenant l'ADN est transféré dans un nouveau tube propre.

-Précipitation des impuretés

À ce surnageant, 200 µl de la solution B ont été ajoutés. Le mélange a été incubé à 55 °C pendant 5 minutes. Des précipités blancs peuvent se former, mais ils disparaissent généralement à la fin de l'incubation. Si la solution reste trouble, le temps d'incubation est prolongé (Figure 20).

-Fixation de l'ADN

Ensuite, 200 µl d'éthanol absolu (96–100 %) sont ajoutés au mélange, suivi d'un vortexage doux. Le mélange est transféré dans une colonne de silice d'adsorption. Après une incubation de 2 minutes à température ambiante, une centrifugation à 12 000 rpm pendant 1 minute a permis la fixation de l'ADN à la membrane de la colonne.

-Étapes de lavage

La colonne est lavée une première fois avec 700 µl de tampon de lavage, puis centrifugée à 12 000 rpm pendant 1 minute. Un second lavage a été effectué avec 500 µl du même tampon. Une centrifugation finale de 2 minutes à vide est réalisée

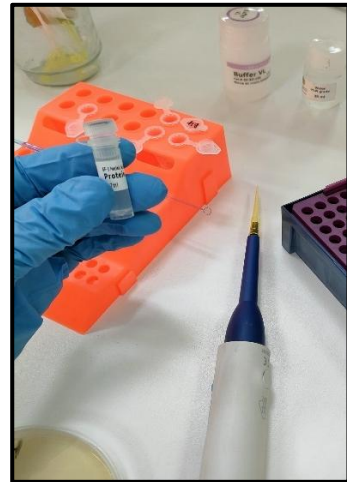
pour éliminer tout résidu d'éthanol. La colonne est ensuite laissée à température ambiante pour sécher complètement sa membrane.



a. Raclage du mycélium



b. Lyse cellulaire



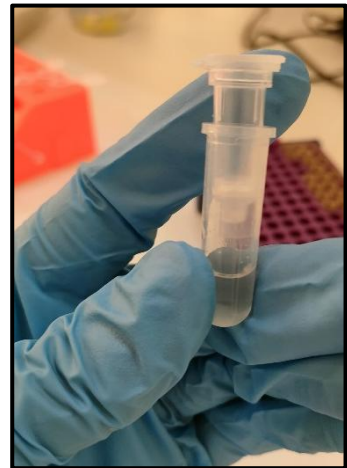
c. Digestion protéique



d. Précipitation des impuretés



e. Fixation de l'ADN



f. Série de Lavage



g. Elution



h. Vérification de la qualité et de la concentration de l'ADN à l'aide d'un NanoDrop

Figure 20 : Etapes de l'extraction de l'ADN avec le kit NucleoSpin Plant II.

-Élution de l'ADN

Pour récupérer l'ADN, 50 à 200 µl de tampon d'élution sont déposés au centre de la membrane de la colonne. Après une incubation de 2 minutes à température ambiante, l'élution est réalisée par centrifugation à 12 000 rpm pendant 2 minutes. Pour maximiser la concentration en ADN, le surnageant obtenu a été réappliqué sur la membrane et centrifugé à nouveau.

La qualité de l'ADN extrait est vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 1 %. La concentration de l'ADN est estimée à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop (mesures effectuées aux longueurs d'onde 260/280 nm).

1.1.5.2. Etape de PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

1.1.5.2.1. Préparation du Master-Mix

La région génique codant pour le facteur d'élongation de traduction EF-1α (*Translation elongation factor-1 alpha*) est amplifiée par PCR en utilisant les amorces universelles EF-728F (CATYGAGAAGTTCGAGAAGG) et EF-2 (GGARGTACCAGTSATCATGTT) (Carbone et Kohn, 1999). La réaction de PCR est réalisée dans un volume final de 25 µL de master mix-PCR : 1,5 mM de MgCl₂ (Promega), 0,2 mM de dNTPs (Invitrogen), 2 µg·mL⁻¹ d'ADN fongique, 0,5 µM de chaque amorce, 1× Taq Buffer (Promega), et 1 unité de Taq polymérase (Promega).

1.1.5.2.2. Amplification du gène EF1-alpha

Les amplifications sont effectuées dans un thermocycleur (Icycler, Bio-Rad) selon le programme suivant : étape de dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 min, suivie de 35 cycles comprenant une dénaturation à 95 °C pendant 30 sec, une hybridation à 52 °C pendant 30 sec, et une extension à 72 °C pendant 45 sec. Une extension finale a été effectuée à 72 °C pendant 7 min.

1.1.5.3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits d'amplification sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 %, colorés avec MidoriGreen (Nippon Genetics), puis visualisés sous lumière UV à l'aide du système Gel Doc (Bio-Rad). Une échelle de taille de 100 pb (Invitrogen) a été utilisée comme marqueur moléculaire.

1.1.5.4. Purification des produits PCR

Les produits de PCR sont purifiés à l'aide d'un kit NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up (Macherey-Nagel, Allemagne) conformément aux recommandations du fabricant. Le protocole consiste à fixer des fragments d'ADN sur une membrane de silice après addition du tampon NTI, suivi de lavages successifs avec le tampon NT3 afin d'éliminer les impuretés, puis d'un séchage de la membrane par centrifugation. L'ADN purifié est ensuite élué à l'aide de 30 µL du tampon NE (5 mM Tris-HCl, pH 8,5), préalablement incubé pendant une minute à température ambiante avant centrifugation finale.

1.1.5.5. Séquençage des produits PCR et traitements bio-informatiques

Les fragments amplifiés du gène EF-1α sont séquencés par la méthode de Sanger (Sanger et *al.*, 1977), directement à partir des produits PCR, sans étape de clonage. Le séquençage a été réalisé dans les deux sens (*Forward/Reverse*) à l'aide du kit BigDye v3.1 (Applied Biosystems), en utilisant les mêmes amorces que celles utilisées pour l'amplification.

Les séquences obtenues sont analysées et nettoyées à l'aide du logiciel CHROMAS PRO, puis comparées aux séquences de la base de données GenBank via le programme BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), afin d'identifier les isolats selon leur pourcentage d'homologie avec des souches de référence. Un dendrogramme est établi à l'aide de l'algorithme UPGMA afin d'illustrer la diversité génétique des champignons isolés.

1.1.6. Caractérisation morphologique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

1.1.6.1. Caractérisation culturelle et microscopique

Les isolats de *FOC* ont été cultivés à $25 \pm 0,5$ °C sur milieu PDA, dans l'obscurité pendant 7 jours. L'évaluation porte sur plusieurs paramètres cultureux tels que la couleur de la colonie, la présence ou l'absence des cercles concentriques et la texture du mycélium. Ces critères permettent de distinguer les isolats et d'apprécier la variabilité phénotypique du pathogène.

Pour l'étude de la croissance mycélienne, un explant mycélien de 6 mm de diamètre, prélevé d'une colonie jeune (4 jours), a été placé au centre d'une boîte de Pétri

contenant le milieu PDA et incubé pendant 8 jours. La croissance mycélienne est mesurée un jour sur deux, en calculant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires de la colonie. Pour chaque isolat, quatre répétitions indépendantes ont été réalisées.

1.1.6.2. Mesure de la taille des conidies

Les mêmes boîtes de pétri, utilisées pour l'étude de la croissance mycélienne, ont servi à mesurer la taille des microconidies et des macroconidies ainsi que le nombre de cloisons de ces dernières. A partir d'une colonie de 10 jours sur PDA, une suspension sporale a été préparée sous agitation magnétique. Elle est filtrée à travers une mousseline pour éliminer le mycélium et toutes traces d'agar-agar. Une goutte de la suspension a été montée entre lame et lamelle et examiné au microscope optique (Motic® BA310 Digital) avec un grossissement $\times 40$. Au total, 50 conidies par isolat sont considérées pour leur taille et le nombre de leurs cloisons.

1.1.6.3. Évaluation de la sporulation

La sporulation a été estimée sur des colonies de 10 jours cultivées à 25°C sur milieu PDA en obscurité. Chaque colonie a été submergée avec 10 ml d'eau distillée stérile, puis raclée superficiellement à l'aide d'un scalpel. La suspension conidienne obtenue a été filtrée à travers une mousseline. Quatre échantillons de 0,1 ml ont été dénombrés en cellule de Malassez, sous microscope optique. Pour chaque isolat, l'expérience a été répétée quatre fois.

1.1.7. Identification des races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

L'identification précise des races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC) constitue une étape essentielle avant toute étude approfondie des interactions hôte–pathogène et des stratégies de lutte biologique. En effet, les populations de FOC présentent une variabilité pathogénique importante, traduite par l'existence de races physiologiques différentes par leur capacité à infecter des cultivars spécifiques de pois chiche. Cette diversité influe directement sur la nature et l'intensité des réponses de défense induites chez les plantes hôtes (Jiménez-Díaz et al., 1989 ; Halila & Strange, 1996).

La distinction entre les races, longtemps fondée sur des tests différentiels de pathogénicité, a été renforcée par l'utilisation de marqueurs moléculaires spécifiques permettant une identification rapide, fiable et indépendante des facteurs environnementaux (Jiménez-Gasco & Jiménez-Díaz, 2003). Cette approche moléculaire assure la sélection d'isolats représentatifs et homogènes, condition indispensable pour mener des expérimentations reproductibles sur les mécanismes d'interaction plante–pathogène ou de lutte biologique.

1.1.7.1. Extraction de l'ADN génomique

L'identification moléculaire des races physiologiques de *FOC* a été réalisée à partir des ADN génomiques extraits précédemment (section 1.1.5.1.). Trois isolats représentatifs du pathogène, désignés FOC3, FOC5 et FOC6, provenant respectivement des régions de Constantine, Annaba et El Tarf, sont sélectionnés sur la base de leurs caractéristiques morphologiques.

1.1.7.2. Amplification de l'ADN spécifique par PCR

La PCR a été réalisée dans un volume final de 30 µL contenant 25 µL de master mix (1,5 U Taq DNA polymerase, Hot FIREPol® DNA polymerase, Solis BioDyne, OÜ, Estonie), 4 µL d'ADN génomique et 1 µL de chaque amorce.

Les amorces utilisées (Tableau 11) ciblent des fragments d'ADN caractéristiques des races physiologiques de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* : FocO12, FocR1B/C-N5, FocR6-O2, FocRoM15, FocRP18 et FocR5L1 (Jiménez-Gasco et Jiménez-Díaz, 2003).

Le programme thermique appliqué sur le thermocycleur T100 Bio-Rad comportait : dénaturation initiale (95 °C, 15 min) ; 36 cycles de dénaturation (94 °C, 1 min) ; hybridation (58 à 61 °C, 30 s selon l'amorce) ; élongation (72 °C, 30 s) ; suivis d'une extension finale à 72 °C pendant 7 min.

Tableau 11 : Séquences des amorces spécifiques utilisées pour l'identification des races de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Jiménez-Gasco et Jiménez-Díaz, 2003).

Amorces	Séquences (5'–3')	Tm* (°C)	Taille attendue (Pb)
Foc0-12	GGCGTTTCGCAGCCTTACAATGAAG / GACTCCTTTTCCGAGGTAGGTCAGAT	58	1503
FocR1B/C-N5	GAGCAGTCAATGGCAATGG / AGAGCAGGGTCAGCGTAGATA	58	1000
FocR6-O2	GAGAGCAGGGTCAGCGTAGATAG / GCAGCAGAAGAGGAAGAAAATGTA	61	553
FocR0-M15	GGAGAGCAGGACAGCAAAGACTA / GGAGAGCAGCTACCCTAGATACACC	58	900
FocRP18f / FocROM15r	GGAGAGCAGTAGAGTTACAGCAGTATT / GGAGAGCAGCTACCCTAGATACACC	58	1400
FocR5L10	GGAAGCTTGGCATGACATAC / AAGCTTGGCACCCTCTT	61	938

*Tm : La température à laquelle 50 % des molécules d'ADN double brin (ADNdb) se sont dénaturées en simples brins

1.1.7.3. Électrophorèse et visualisation des bandes d'ADN amplifié

Les produits amplifiés sont séparés par électrophorèse sur un gel d'agarose à 1,5% préparé dans un tampon TAE (40 mM Tris-acétate, 1 mM EDTA, pH 8,0). Après migration pendant 40 minutes à 100 V, les bandes d'ADN sont colorées au ROTI Red Gel Stain puis visualisées sous lumière UV à l'aide d'un transilluminateur. Un marqueur d'ADN de 100 pb a été chargé en parallèle pour estimer la taille des fragments amplifiés.

1.2. Résultats et discussion

1.2.1. Mode de semis et symptômes de flétrissement vasculaire

Au cours des prospections menées dans les principales zones de culture du pois chiche en Algérie, des variations dans les modalités de semis et pratiques culturales ont été notées entre les régions est et ouest.

Dans les régions de l'Ouest du pays, les agriculteurs préfèrent un espacement entre rangs de 40 à 60 cm, pour un semis de printemps. Ce mode de semis favorise une meilleure aération du couvert végétal et un développement plus étalé des plantes. En revanche, dans les régions de l'Est, le semis se fait avec un semoir de précision monograin et l'espacement moyen entre rangs n'est que de 20 à 30 cm (Figure 21). Cette densité élevée reflète des pratiques culturales locales visant souvent à optimiser l'utilisation de l'espace, à compenser la fertilité moindre des sols ou à limiter la concurrence des adventices, mais elle peut aussi accroître l'humidité au niveau du sol, créant ainsi des conditions plus favorables au développement de maladies fongiques telles que la fusariose vasculaire.



Figure 21 : Différence d'espacement entre les lignes de semis du pois chiche dans les régions du Nord-Ouest (A) et du Nord-Est (B) algérien.

L'incidence de la fusariose vasculaire varie entre 15 et 30 %. Les plantes malades sont soit dispersées sur l'ensemble du champ, soit regroupées par foyers, illustrant une infection de proche en proche (Figure 22).



Figure 22 : Dégâts sur culture de pois chiche dus à *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris* dans la région de Constantine (Originale, 2025).

Les plantes atteintes de fusariose vasculaire présentent un brunissement et un flétrissement de la partie aérienne. Une coupe transversale au niveau des tissus révèle un brunissement du xylème, s'étendant depuis la racine principale jusqu'au collet, voire la tige (Figure 23).



Figure 23 : Brunissement du xylème du pois chiche atteint de flétrissement vasculaire.

1.2.2. Identification morphologique des isolats

1.2.2.1. Caractères Macroscopiques

Un total de 74 isolats appartenant au genre *Fusarium* a été obtenu à partir des échantillons de plantules collectées. Les colonies obtenues sur PDA présentent différents de morphotypes (Figure 24), illustrant ainsi la variabilité phénotypique qui existe au sein des isolats de *Fusarium* spp.



Figure 24 : Morphotypes de *Fusarium* spp. après 8 jours sur milieu PDA.

Les colonies présentent initialement un mycélium blanc à beige variant au rose saumon,

rouge, brun-rougeâtre, ou beige à violacé après 3 à 7 jours selon les isolats (Tableau 12).

Tableau 12 : Caractéristiques culturelles des isolats de *Fusarium* spp.

	Wilaya	Code d'isolat	Diamètre de la colonie (cm)		Vitesse de croissance (cm/jour)	Couleur	Forme	
			4j	8j			Cercles concentriques	Texture de la colonie
Region du Nord-Ouest	Tlemcen	F1	3.2	5.7	0,62	Brun-rougeâtre	+	Rasante
		F2	2.7	6.7	1	Crème beige	+	Rasante
		F3	2.7	4.5	0,45	Rose pâle	-	Duveteuse
		F4	2.7	4.8	0,52	Rose-saumon	-	Rasante
	Ain	F5	5.6	6.8	0,3	Rose	+	Rasante
		F6	3.5	6.2	0,68	Beige Violacé	-	Rasante
	Temouchent	F7	3.3	6.0	0,68	Beige-brun	-	Duveteuse
		F8	3.0	5.3	0,57	Brun rougeâtre	-	Rasante
	Sidi	F9	2.8	4.8	0,5	Rose	-	Duveteuse
	Belabbes	F10	3.0	5.1	0,52	Orange clair	-	Rasante
		F11	3.2	6.5	0,82	Rose	-	Rasante
	Mascara	F12	4.0	4.9	0,23	Beige crème	-	Rasante
		F13	2.5	5.5	0,75	Jaune pâle	+	Légèrement duveteuse
		F14	3.7	6.5	0,7	brun-rougeâtre	+	Rasante
	Relizane	F15	2.8	5.0	0,55	Beige	-	Légèrement duveteuse
Region du Nord-Est	Mila	F16	3,2	6,2	0,75	Crème à jaunâtre	-	Moins duveteuse
		F17	3,4	6,7	0,83	Beige pâle	-	Rasante
		F18	3.2	6.2	0,75	Rouge	-	Rasante
	Constantine	F19	3,2	6,4	0,8	Brun rougeâtre	+	Duveteuse
		F20	3.0	5.0	0,5	Rouge foncé uniforme	-	Légèrement duveteuse
	Skikda	F21	2,8	5,6	0,7	Beige violacé	-	
		F22	3.7	8.0	1,08	Rose-saumon	+	Rasante
		F23	4.6	8.4	0,95	Beige violacé	+	Rasante
	Annaba	F24	2,6	5,3	0,66	Beige claire	-	Légèrement duveteuse
		F25	2.5	5	0,62	Rouge	-	Duveteuse
		F26	3.3	5.5	0,55	brun-rougeâtre	-	Duveteuse
	Taref	F27	2,9	5,7	0,71	Violacé	-	
		F28	4.1	7.0	0,73	Beige	+	Rasante
	Guelma	F29	4.0	6.0	0,5	Beige très pâle	+	Duveteuse
		F30	4.0	6.5	0,62	Rose clair	-	Rasante
		F31	3.8	6.5	0,68	Rose orangé clair	+	Duveteuse

La texture du mycélium varie de duveteuse à rasante. Le mycélium est abondant, à texture floconneuse à cotonneuse, de couleur blanche à violacée pâle, parfois accompagnée d'une légère pigmentation rosée diffuse dans la gélose.

1.2.2.2. Caractères microscopiques

Les isolats présentent les caractères microscopiques typiques du genre *Fusarium* *oxysporum*, avec un mycélium hyalin, septé et ramifié, portant des monophialides isolées ou regroupées, lesquelles portent des microconidies en fausses têtes terminales (Figure 25A). Les microconidies sont hyalines, unicellulaires ou bicellulaires, de forme ovoïde à ellipsoïde.

Les isolats produisent majoritairement des macroconidies falciformes, légèrement courbées, pluricellulaires (2 à 5 cloisons), à base pédicellée et à apex effilé, traduisant une homogénéité morphologique marquée entre les isolats observés (Figure 25B). Les chlamydospores intercalaires ou terminales, isolées ou disposées en courtes chaînes, sont occasionnellement observées chez les cultures âgées.

L'ensemble des caractères morphologiques et culturaux observés sur le milieu PDA correspond aux descriptions classiques du genre *Fusarium*, particulièrement *F. oxysporum*, comme rapportées par Booth (1977) et Leslie & Summerell (2006).

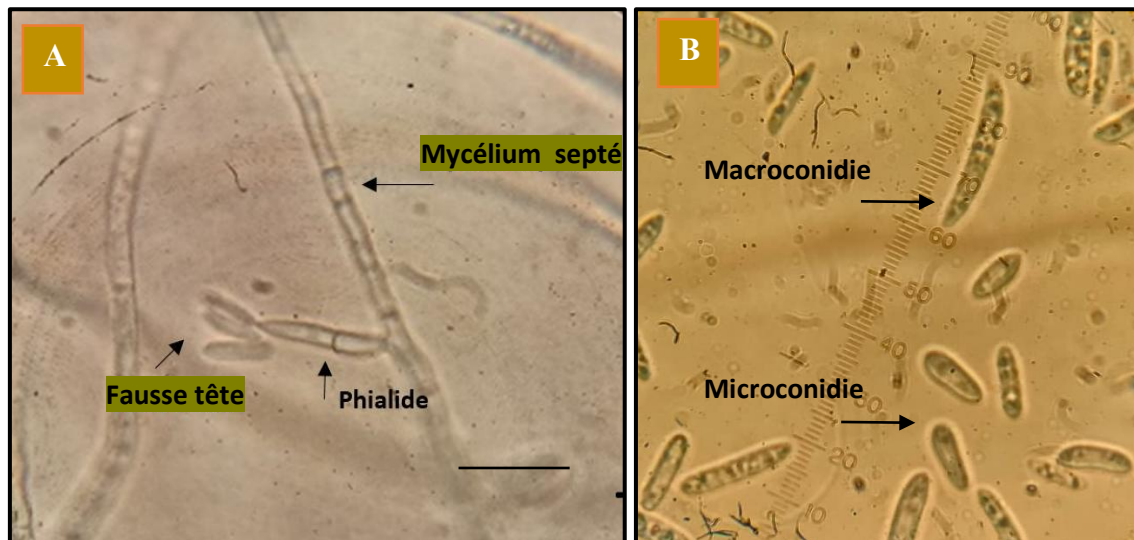


Figure 25 : Caractères microscopiques de *Fusarium oxysporum* sur milieu PDA ($\times 100$).

A : Phialide portant des conidies en fausse-tête sur une hyphe septée. Barre d'échelle = 10 μm ;
B : Macroconidies et microconidies.

1.2.3. Vérification des postulats de Koch

Vingt et un jours après inoculation des plantules de pois chiche (ILC482) avec les isolats de *Fusarium*, des symptômes caractéristiques de flétrissement vasculaire, se manifestant notamment par une chlorose foliaire progressive et un flétrissement des feuilles, on a observé de manière constante sur les plantules inoculées. Ce processus évolue et s'accompagne d'un rabougrissement général et d'une nécrose racinaire marquée par la réduction des poils absorbants et la décoloration brun-noir des racines, remontant jusqu'au collet et provoquant sur ce dernier un étranglement visible (Figure 27 ; 28). Aucun symptôme n'a été détecté sur les plantules témoins non inoculées (Figure 26).

Le réisolement du champignon à partir des tissus racinaires symptomatiques a permis d'obtenir des colonies morphologiquement identiques à celles utilisées pour l'inoculation, confirmant ainsi tous les postulats de Koch testés. Les isolats de *Fusarium* inoculés sont donc la cause des symptômes observés.

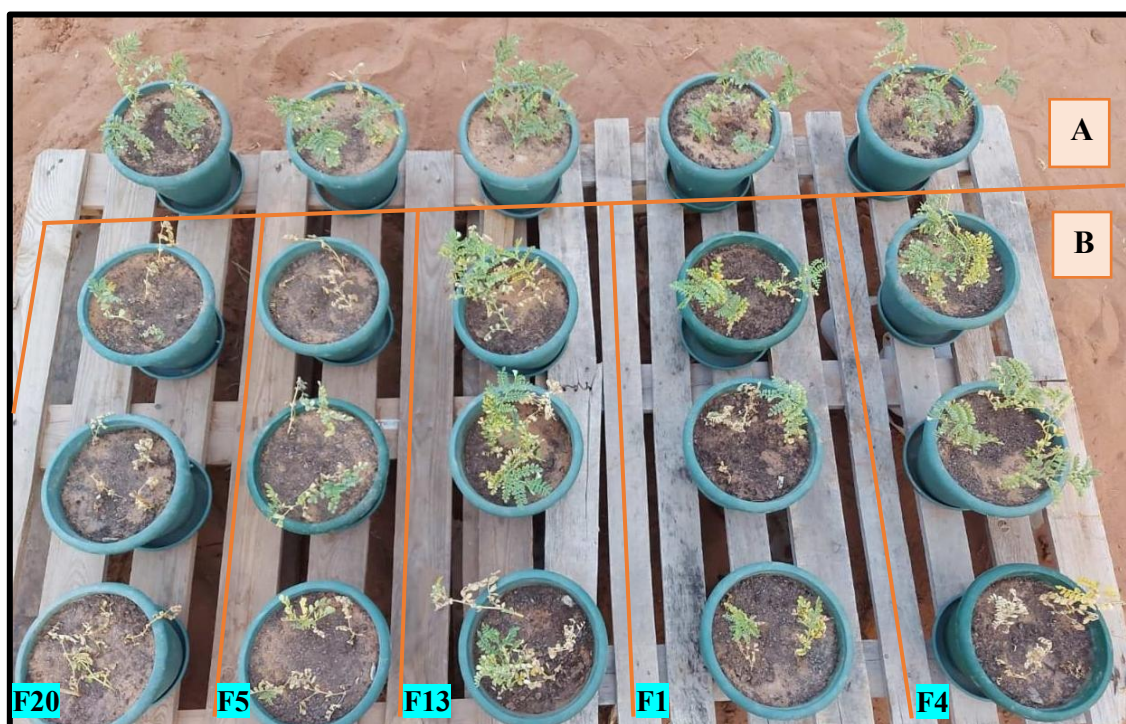


Figure 26 : Flétrissement sévère observé sur des plants de pois chiche (ILC482), 30 jours après inoculation par les isolats de *Fusarium*. **A :** Témoin non inoculé ; **B :** Plants inoculés avec *Fusarium*, F1, F4, F5, F13 et F20 représentent les codes des isolats utilisés.

Des coupes longitudinales des racines primaires des plantules inoculées ont révélé une décoloration brun-noire du xylème, caractéristique des infections vasculaires. Parfois la nécrose est accompagnée d'une pourriture humide de la racine principale (Figure 28).

L'intensité de ces nécroses variait selon les isolats reflétant une hétérogénéité marquée de leur pouvoir pathogène des isolats.



Figure 27 : Symptômes observés chez le pois chiche ILC482, 30 jours après inoculation avec différents isolats de *Fusarium* (A) ; (B), Plantules témoin non inocuées.



Figure 28. Symptômes variés observés dans les racines et les tissus du xylème de la variété de pois chiche ILC482 selon l'isolat. Racine des plantes inoculées (b, c, d, e, f) ; (a) Racine d'une plante non inoculé (Témoin).

Avant d'aborder la partie séquençage, chaque isolat fongique est identifié par un code attribué lors de son isolement initial, puis par un code de séquençage du gène EF1-alpha correspondant à son identification moléculaire.

1.2.4. Séquençage des produits PCR et analyses biostatistiques

L'analyse des séquences du gène EF-1 α de 31 isolats via BLASTn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) a permis d'identifier 3 espèces de *Fusarium* répartis comme suit : 10 isolats de *F. redolens*, 6 *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), 9 *F. oxysporum* (FO), 5 *F. oxysporum* f. sp. *lactuceae* (FOL), et 1 isolat de *F. solani* (FS). Les similarités de séquence avec les souches de référence de GenBank varient entre 94,85% et 100%. Un dendrogramme est construit à partir des séquences du gène EF-1 α , en utilisant la méthode UPGMA (Sneath et Sokal, 1973), afin de visualiser les relations phylogénétiques entre les isolats de *Fusarium* provenant de différentes régions d'Algérie (Figure 29). Les branches du dendrogramme sont appuyées par des valeurs de bootstrap, attestant de la robustesse des relations phylogénétiques observées.

Les pourcentages d'occurrence des groupements de taxons dans les arbres répliqués (test de bootstrap à 1000 répliqués) sont indiqués à côté des branches (Tamura K. et al., 2004). Les distances évolutives sont calculées selon la méthode du Maximum Composite Likelihood (Tamura K. et al., 2021) et correspondent au nombre de substitutions de bases par site. L'analyse a porté sur 31 séquences nucléotidiques. Les positions de codon incluses étaient les 1^{re}, 2^e, 3^e et les régions non codantes. Toutes les positions ambiguës ont été supprimées pour chaque paire de séquences (option de suppression par paire). Le jeu de données final comprend 1042 positions. Les analyses évolutives sont réalisées à l'aide du logiciel MEGA11 (Felsenstein, 1985).

Ainsi, Sur les 15 isolats de *Fusarium* provenant de l'ouest algérien, dix (67 %) appartiennent à *F. redolens*, quatre (27 %) à des *F. oxysporum* f. sp. *lactuceae*, et un seul (6,7 %) à *F. solani*. En revanche, parmi les 16 isolats de la région est, seule l'espèce *F. oxysporum* était présente, représentée par deux forma speciales : f. sp. *ciceris* (06 isolats) et f. sp. *lactuceae* (03 isolats). Les 7 isolats restant n'appartenaient à aucune formae spécialis (Tableau 13).

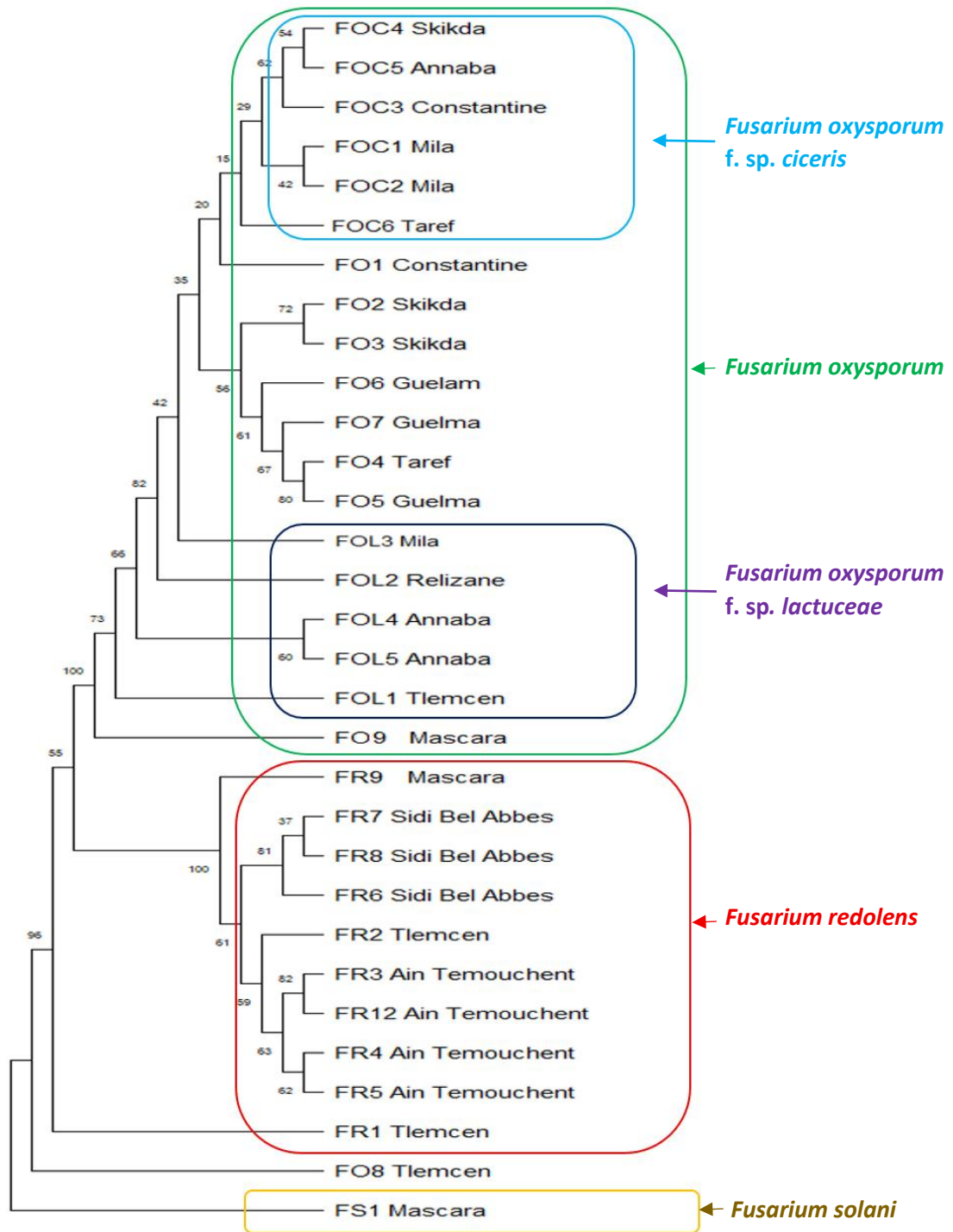


Figure 29 : Dendrogramme des espèces responsables du flétrissement vasculaire obtenu par la méthode UPGMA. L'arbre consensus bootstrap, généré à partir de 1000 réplacats (Tamura et al., 2004), représente l'histoire évolutive des taxons analysés.

Tableau 13 : Identification des isolats de *Fusarium*, similarité de leurs séquences *EF-1α* avec les souches de référence du NCBI, et leurs numéros d'accèsion correspondants.

	Wilaya	Code	Identification	Pourcentage de similarité	Homologie BLAST	Accession NCBI	
						Numéro	Code de séquençage
Region du Nord-Ouest	TLEMCEM	F1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	98,64%	MK801786.1	PQ899234	FOL 1
		F2	<i>Fusarium redolens</i>	94,85%	HQ731060.1	PV388859	FR 1
		F3	<i>Fusarium redolens</i>	99,75%	HQ731060.1	PV388860	FR2
		F4	<i>Fusarium oxysporum</i>	100,00%	ON703236.1	PQ899228	FO8
	AIN	F5	<i>Fusarium redolens</i>	99,16%	HQ731063.1	PV388869	FR12
		F6	<i>Fusarium redolens</i>	99,58%	MT305223.1	PV388861	FR3
	TEMOUCHENT	F7	<i>Fusarium redolens</i>	99,58%	OR270920.1	PV388862	FR4
		F8	<i>Fusarium redolens</i>	99,57%	OR105855.1	PV388863	FR5
		F9	<i>Fusarium redolens</i>	99,79%	OR270920.1	PV388864	FR6
	ABBES	F10	<i>Fusarium redolens</i>	99,79%	OR270920.1	PV388865	FR7
		F11	<i>Fusarium redolens</i>	99,85%	MK172061.1	PV388866	FR8
	MASCARA	F12	<i>Fusarium redolens</i>	99,57%	HQ731060.1	PV388867	FR9
		F13	<i>Fusarium solani</i>	99,57%	HE647956.1	OR234389	FS1
		F14	<i>Fusarium oxysporum</i>	97,53%	MW361989.1	-	FO9
Region du Nord-Est	RELIZANE	F15	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	99,35%	MH412703.1	PQ899235	FOL2
		F16	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	99,55%	FJ538240.1	PQ899229	FOC1
		F17	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	100,00%	FJ538240.1	PQ899230	FOC2
	CONSTANTINE	F18	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	99,85%	OP918954.1	PQ899236	FOL3
		F19	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	100,00%	FJ538241.1	PQ899231	FOC3
		F20	<i>Fusarium oxysporum</i>	98,46%	PP795998.1	PQ613583	FO1
	SKIKDA	F21	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	100,00%	FJ538241.1	PQ899232	FOC4
		F22	<i>Fusarium oxysporum</i>	100,00%	OQ511027.1	PQ613583	FO2
		F23	<i>Fusarium oxysporum</i>	99,85%	OQ511027.1	PQ899231	FO3
	ANNABA	F24	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	98,85%	FJ538241.1	PQ899233	FOC5
		F25	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	99,57%	MW316853.1	PQ899237	FOL4
		F26	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	99,78%	MW316854.1	-	FOL5
	EL TAREF	F27	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	98,81%	FJ538240.1	-	FOC6
		F28	<i>Fusarium oxysporum</i>	99,85%	OQ511027.1	PQ613586	FO4
	GUELMA	F29	<i>Fusarium oxysporum</i>	99,85%	KF537337.1	PQ613587	FO5
		F30	<i>Fusarium oxysporum</i>	100,00%	OQ511027.1	PQ613588	FO6
		F31	<i>Fusarium oxysporum</i>	99,85%	OQ511027.1	PQ899227	FO7

Ces résultats indiquent que *F. redolens* est dominant dans la région ouest de l'Algérie, tandis que *F. oxysporum*, en particulier la forme spéciale *ciceris*, est prédominante dans l'est. Aucun isolat de *FOC* n'a été isolé de la région ouest, et aucun isolat de *F. redolens* n'est isolé de la région est (Figure 30 ; Tableau 13).

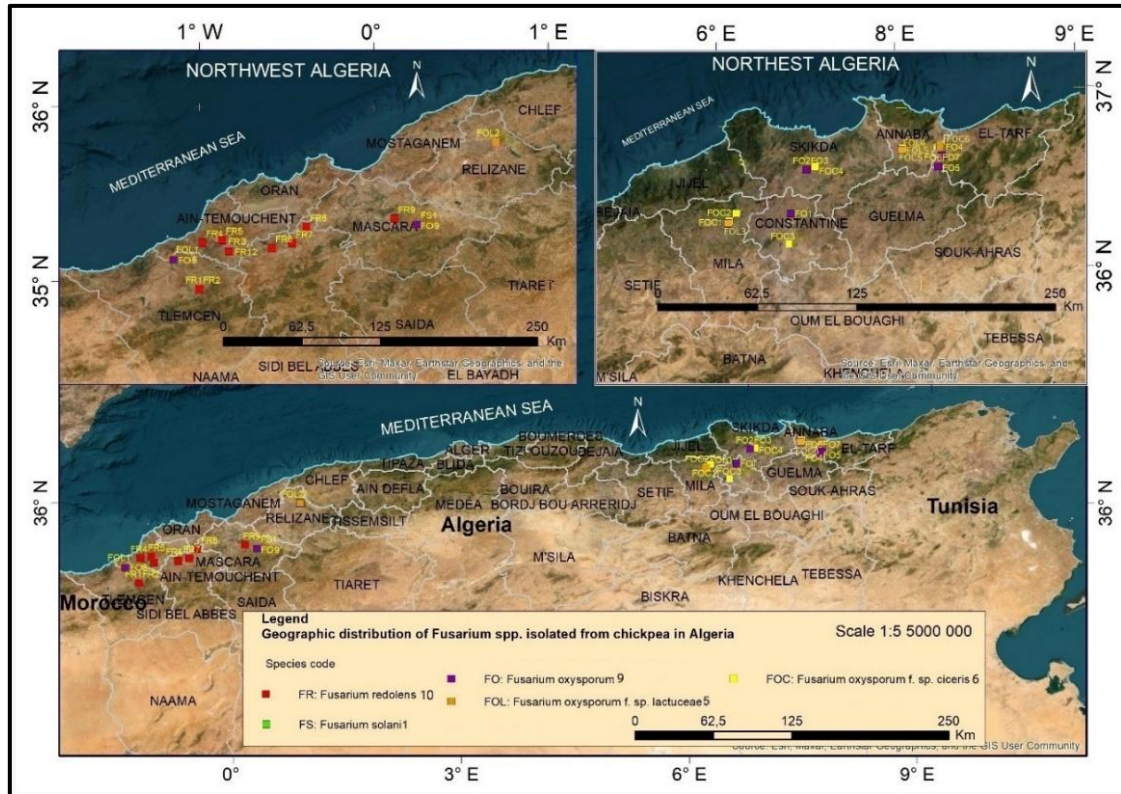


Figure 30 : Répartition géographique des espèces de *Fusarium* isolées à partir du pois chiche en Algérie. Carte réalisée à l'aide du logiciel ArcGIS. Le chiffre indiqué après chaque nom d'espèce de *Fusarium* correspond au nombre d'isolats dans cette espèce.

Jusqu'à présent, le flétrissement du pois chiche dans la région ouest de l'Algérie est attribué à *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, sur la base de caractéristiques morphologiques ou des postulats de Koch appliqués au génotype ILC 482 (Benfreha et al., 2014 ; Tlemsani et al., 2015 ; Zaim, 2016). Cependant, la présente étude démontre l'absence de *FOC* dans cette région. En utilisant les marqueurs ITS et EF-1 α , Zaim et Bekkar (2022) ont identifié uniquement *F. redolens* parmi 20 isolats de *Fusarium* issus du pois chiche de l'ouest. Nos résultats confirment cela, puisque parmi les 15 isolats collectés, dix sont *F. redolens*, un *F. solani*, deux *F. oxysporum* et deux *F. oxysporum* f. sp. *lactuceae*. Bien que seulement 31 des 74 isolats étaient séquencés, nos résultats, ainsi que ceux de Zaim et Bekkar (2022), confirment l'absence de *FOC* dans les champs de pois chiche de l'ouest algérien.

Par ailleurs, les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactuceae* induisent des symptômes de flétrissement chez la lignée ILC 482 lors du test de pathogénicité, bien que cette forme spéciale soit généralement considérée comme hautement spécifique à la laitue (*Lactuca sativa*) et à la mâche potagère (*Valerianella locusta*). Ceci confirme les études récentes suggérant un élargissement du spectre d'hôte au sein du genre *Fusarium*. Edel-Hermann et Lecomte (2019) ont démontré que, que 106 formes spéciales recensées de *Fusarium oxysporum*, seules 53 restaient associées à une seule espèce végétale. Par ailleurs, Ramirez-Suero et al. (2010) ont révélé la sensibilité de *Medicago truncatula* à diverses formes spéciales de *Fusarium* isolées d'hôtes non légumineuses.

Fusarium redolens a déjà été rapporté comme agent causale du flétrissement de la tomate (Edel-Hermann et al., 2012) et de la maladie de fonte des semis du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) (Lazreg et al., 2013) dans le nord-ouest algérien. Son association au flétrissement du pois chiche a été signalée au Maroc, en Espagne, au Liban, au Pakistan (Jimenez-Fernandez et al., 2011), en Saskatchewan (Taheri, 2011), en Tunisie (Bouhadida et al., 2017), en Turquie (Tekeoglu et al., 2017), en Iran (Chehri et Sattar, 2018) et en Algérie (Zaim, 2022). Notre étude confirme la présence de cette espèce mais uniquement dans la région ouest.

Dans cette étude, *F. solani* a également été isolé dans l'ouest algérien. Ce champignon infecte également le pois chiche en Chine, en Inde, en Espagne, au Pakistan, en Iran et dans d'autres pays (Zhuang et al., 2005 ; Jiménez-Fernández et al., 2011). En Algérie, *F. solani* est rapporté comme responsable du flétrissement de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) (Azil et al., 2021), de la tomate (*Solanum lycopersicum*) (Abdeselem et al., 2016), et de la fonte des semis du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) (Lazreg et al., 2014). Nos observations des symptômes de flétrissement vasculaire confirment la pathogénicité de cette espèce sur pois chiche. Nous pensons que, c'est la première fois que *F. solani* est rapporté comme pathogène du pois chiche en Algérie.

Autre constat, *F. redolens* et *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* sont reconnus comme agents responsables du flétrissement vasculaire du pois chiche ; cependant les raisons de leur répartition géographique distincte en Algérie restent inconnues. Plusieurs facteurs pourraient être à l'origine de cette séparation géographique : climat, flore microbienne, antagoniste présente dans le sol, structure de sol. Davantage de recherches seraient nécessaires pour pouvoir étudier l'influence potentielle de ces facteurs.

Il est bien établi que la prévalence des agents pathogènes végétaux est liée aux conditions climatiques, notamment la température et les précipitations, qui varient d'une région à une autre. Par exemple, *F. graminearum* domine dans les zones chaudes comme certaines régions des États-Unis, alors que *F. culmorum* est plus fréquent dans les régions fraîches et maritimes comme le Royaume-Uni (Parry et al., 1995 ; Doohan et al., 2003). De même, la température et l'humidité sont des facteurs critiques pour la sporulation et la dissémination de l'inoculum des *Fusarium* (Rossi et al., 2001), ce qui suggère que les conditions environnementales locales influencent la répartition de *FR* et *FOC*.

Les caractéristiques du sol, telles que l'humidité et le pH, influencent également la croissance des espèces de *Fusarium* et le développement de la maladie. Des études antérieures ont montré que le pH du sol affecte le taux de croissance des champignons et l'intensité des symptômes (Chen et al., 2013 ; Gatch et du Toit, 2017). De plus, certaines propriétés microbiologiques du sol (compétition pour le fer ou le carbone, par exemple) peuvent limiter le développement du flétrissement vasculaire (Elad et Baker, 1985b ; Couteaudier et Alabouvette, 1990).

Pour mieux comprendre la répartition géographique de *FOC* et *FR*, il est nécessaire d'approfondir les recherches sur les propriétés physico-chimiques du sol, la diversité microbienne et les pratiques culturales. Il est aussi probable que *FS* et *FOC* pourraient représenter à terme, de sérieuses menaces pour la culture du pois chiche en Algérie. Il s'avère donc pertinent d'évaluer l'agressivité de ces espèces sur différents cultivars, afin de rechercher d'éventuelles spécificités variétales.

1.2.5. Variabilité culturelle et morphologique de *FOC*

1.2.5.1. Variabilité culturelle sur milieu PDA

Un isolat de *FOC*, en l'occurrence FOC4, a été perdu lors de la conservation ; les travaux suivants ont été poursuivis avec 5 isolats

Après 8 jours d'incubation à 25°C sur le PDA les colonies des 5 isolats du pathogène présentaient une morphologie variable : crémeuse initialement avec un thalle beige clair à beige violacé selon l'isolat, s'assombrissant ensuite (Figure 31). La texture mycélienne est soit cotonneuse soit floconneuse, illustrant ainsi une diversité phénotypique chez *FOC*.



Figure 31 : Aspects cultureux des isolats de *FOC* sur milieu PDA, après 8 jours d'incubation à 25 °C.

Une zonation en cercles concentriques caractérise FOC1 et FOC5, tandis que FOC2 et FOC6 présentent un mycélium homogène, uniforme et peu aérien (Tableau 14).

L'isolat FOC3 se distingue par sa croissance diffuse et rayonnante, un mycélium aérien cotonneux, particulièrement dense et épais en périphérie, indiquant une activité mycélienne plus intense.

Les variations observées dans la pigmentation, la texture et l'organisation du mycélium révèlent une forte variabilité phénotypique entre les isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Ces observations sont en accord avec les travaux de Kaur et al. (2020), Leslie & Summerell (2006) et Jiménez-Díaz et al. (2015) qui soulignent l'importante diversité culturelle et morphologique de *F. oxysporum*.

Tableau 14 : Caractéristiques culturelles des isolats de *FOC* après 8 jours d'incubation à 25°C, en obscurité sur PDA.

Isolat	Couleur de la colonie (mycélium)	Cercles concentriques	Aspect du Mycélium
FOC1	Beige clair à beige au centre,	Présent	Mycélium cotonneux.
FOC2	Beige crème uniforme.	Absent	Mycélium floconneux et homogène.
FOC3	Beige violacé.	Absent	Mycélium cotonneux diffus.
FOC5	Beige clair, légèrement plus dense au centre.	Présent	Mycélium floconneux.
FOC6	Beige clair.	Absent	Mycélium moins floconneux et homogène.

1.2.5.2. Variabilité morphologique sur milieu PDA

1.2.5.2.1. Variation du diamètre des colonies et de la croissance mycélienne

Le diamètre moyen des colonies mesuré après huit jours de culture à 25°C varie entre 78,25 mm (FOC2) et 85 mm (FOC3). FOC3 possède la croissance la plus rapide, FOC5 suit la même tendance, mais avec une croissance légèrement inférieure à FOC3. Les isolats FOC1, FOC2 et FOC6 montrent une courbe de croissance similaire, mais légèrement inférieure à celle de FOC3 et FOC5, surtout à J8 (Figure 32).

FOC3 peut être considéré comme le plus vigoureux, suggérant une possible différence physiologique ou génétique par rapport aux autres isolats.

L'analyse de variance à deux facteurs (Jour $\times$ isolat) montre un effet hautement significatif du jour d'observation sur la croissance mycélienne ($p < 0,001$), confirmant une progression rapide du diamètre colonial entre le 2^{ème} et le 8^{ème} jour d'incubation (Annexe 4). Le test de Tukey confirme une forte variabilité intraspécifique, indiquant des différences nettes de croissance entre les isolats.

Les variations observées entre les isolats dans la vitesse de croissance ont été rapportées par Kaur et *al.* (2020), qui soulignent une forte variabilité morphologique et physiologique parmi les isolats de *FOC*, notamment en termes de croissance mycélienne et vitesse de colonisation du milieu de culture. Selon le même auteur, cette hétérogénéité reflèterait la diversité génétique du pathogène et peut influencer son agressivité et sa capacité d'infection.

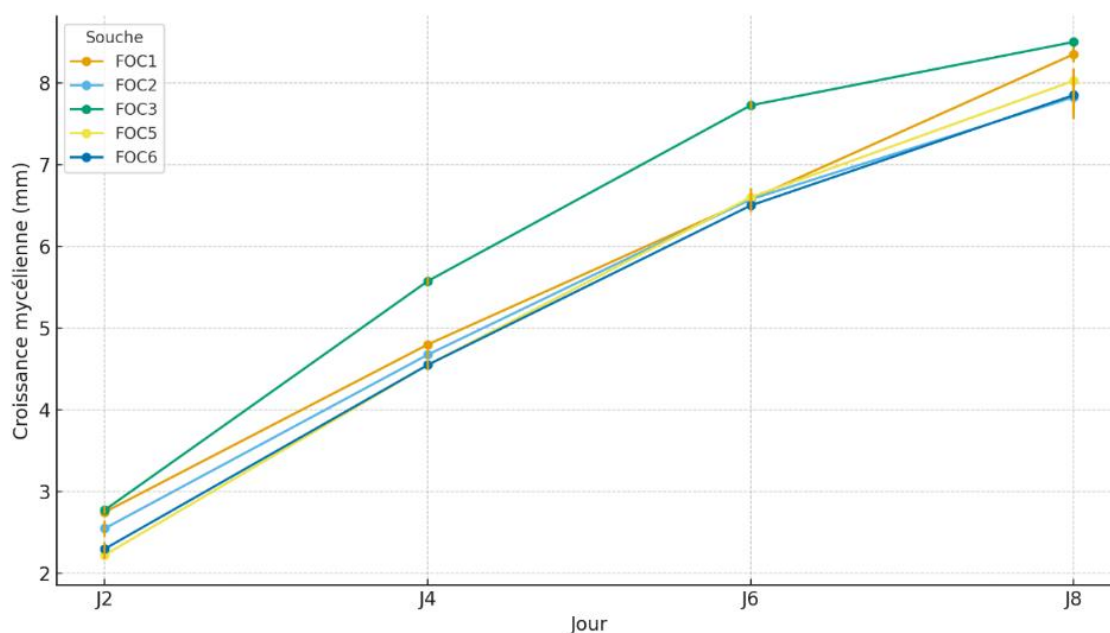


Figure 32 : Croissance mycélienne des isolats de *FOC* sur milieu PDA, à 25°C (moyenne $\pm$ écart-type).

1.2.5.2.2. Analyse morphométrique des conidies

Les dimensions des conidies de *FOC* sont évaluées au 10^{ème} jour, en mesurant la longueur et la largeur de 50 conidies par isolat, incluant les micro- et les macroconidies.

Les macroconidies révèlent une variabilité marquée, tant en longueur qu'en largeur. Le classement décroissant selon la longueur moyenne donne FOC3 (17,2 μm), FOC2 (16,6 μm), FOC5 (15,2 μm), FOC1 (12,9 μm) et FOC6 (12,2 μm). La largeur des macroconidies est également discriminante : FOC2 et FOC3 (2,7 μm), FOC1 et FOC5 (2,6 μm) et FOC6 (1,1 μm) (Tableau 15). Ce dernier isolat se distingue par la longueur et largeur les plus faibles. Les macroconidies sont fusiformes, effilée, aux extrémités. Elles portent 0 à 3 septa, selon l'isolat, ce qui correspond aux descriptions taxonomiques établies pour l'espèce (Nelson et *al.*, 1983).

Les microconidies sont principalement uni- ou bicellulaires (Tableau 16). FOC3 présente les microconidies les plus longues (8,9 μm), suivi de FOC5 (8,3 μm), FOC6 et FOC2 (7,9 μm), puis FOC1 (6,8 μm). La largeur est homogène pour FOC1, FOC2, FOC3 et FOC5 (2,6 μm), alors que FOC6 affiche des microconidies nettement plus étroites (1,0 μm) (Tableau 17). Ces mensurations sont en accord avec les travaux de Kaur et *al.* (2020) et s'inscrivent dans les plages généralement rapportées pour le complexe *Fusarium*

oxysporum où les microconidies sont petites, hyalines et majoritairement non septées (Nelson et *al.*, 1983 ; Leslie & Summerell, 2006 ; Mokhtaria, 2022).

L'analyse de variance de la taille des conidies (Annexe 4) montre des différences hautement significatives entre les cinq isolats ($p < 0,001$).

Tableau 15 : Dimensions des Macroconidies des isolats de *FOC*, après 10 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA.

Macroconidies							
Isolat	Longueur (μm)			Largeur (μm)			Nombre de cloison
	Max	Min	Moy	Max	Min	Moy	
FOC2	23,4	13,0	16,6	3,9	2,6	2,7	0-3
FOC5	19,5	13,0	15,2	2,6	2,6	2,6	0-3
FOC6	20,0	9,0	12,2	2,0	1,0	1,1	2-3
FOC1	15,6	10,4	12,9	2,6	2,6	2,6	0
FOC3	26,0	13,0	17,2	3,9	2,6	2,7	2-3

Max- maximum ; Min- minimum ; Moy- moyenne.

Tableau 16 : Dimensions des Microconidies des isolats de *FOC*, après 10 jours d'incubation à 25°C sur milieu PDA.

Isolat	Microconidies						
	Longueur (μm)			Largeur (μm)			Nombre de cloisons
	Max	Min	Moy	Max	Min	Moy	
FOC2	9,1	7,8	7,9	3,9	2,6	2,6	0
FOC5	10,4	7,8	8,3	3,9	2,6	2,6	0-1
FOC6	10,0	7,0	7,9	1,5	1,0	1,0	0-1
FOC1	9,1	5,2	6,8	3,9	2,6	2,6	0
FOC3	10,4	7,8	8,9	3,9	2,6	2,6	0-1

Max- maximum ; Min- minimum ; Moy- moyenne.

1.2.5.2.3. Variation de la sporulation

Les résultats de la sporulation évaluée après 10 jours d'incubation à 25°C, sur PDA, mettent en évidence des différences entre les isolats de *FOC*. La figure 33 montre que FOC6 et FOC2 possèdent les concentrations sporales les plus élevées, atteignant respectivement 22×10^6 et $19,4 \times 10^6$ spores/mL, traduisant ainsi leur fort potentiel

reproductif. FOC1 et FOC5 présentent une sporulation intermédiaire ($9,8 \times 10^6$ spores/mL) et ($8,2 \times 10^6$ spores/mL) respectivement, sans toutefois que ces isolats ne présentent de différence significative entre eux selon le test de Tukey ($p > 0,05$) (Annexe 4). En revanche, FOC3 se distingue nettement par sa faible sporulation (6×10^6 spores/mL), constituant à lui seul un groupe statistiquement distinct.

Nos observations confirment que la sporulation constitue un caractère discriminant utile pour différencier les isolats de *FOC* comme rapporté par Jiménez-Díaz et al. (2015) et Leslie & Summerell (2006).

L'analyse statistique (Annexe 4) révèle une variabilité hautement significative de la capacité sporulante ($p < 0.001$). Cette dernière reflète une diversité physiologique importante au sein des isolats étudiés.

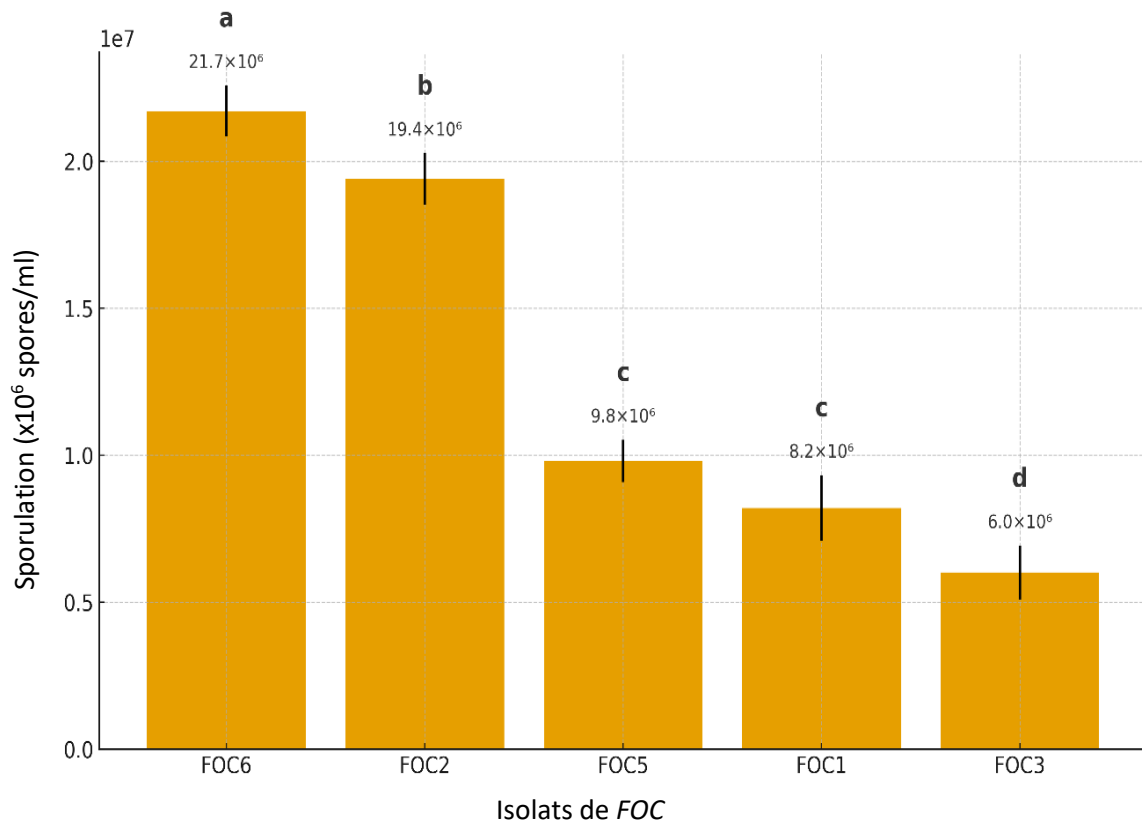


Figure 33 : Sporulation des isolats de *FOC* (Moyenne $\pm$ SD et groupes homogènes) sur milieu PDA, après 10 jours d'incubation à 25°C.

1.2.6. Identification des races physiologiques de *FOC*

1.2.6.1. Électrophorèse et visualisation des bandes d'ADN amplifié

Le gel d'électrophorèse a révélé une amplification spécifique des gènes Foc0-12 (1503 pb) et FocR6-O2 (1000 pb) pour les trois isolats FOC3, FOC5 et FOC6 (Figure 34, 35).

L'amplification par PCR avec les amorces Foc0-12f/Foc012r a produit un fragment unique d'environ 1503 pb chez les isolats FOC3, FOC5 et FOC6, confirmant leur appartenance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* comme rapporté par Jiménez-Gasco et Jiménez-Díaz (2003). Parallèlement, l'amplification d'un fragment d'environ 100 pb avec les amorces spécifiques à la race 6 a validé l'identification de ces isolats à cette race pathogène (Tableau 17 ; Figure 34 ; Figure 35).

Les isolats FOC1 et FOC2 n'ont pas produits d'amplification avec les amorces spécifiques utilisées dans cette étude, excluant ainsi leur appartenance à *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 0, 1A, 1B/C, race 5 et la race 6.

Tableau 17 : Profil d'amplification race-spécifique des isolats FOC3, FOC5 et FOC6.

Isolat	Foc0-12	FocR1B/C-N5	FocR6-O2	FocR0-M15	FocR6-P18f/FocR0-M15r	FocR5-L10	Interpretation
FOC3	+	-	+	-	-	-	Race 6
FOC5	+	-	+	-	-	-	Race 6
FOC6	+	-	+	-	-	-	Race 6

L'étude présente constitue la première identification de races physiologiques de *FOC* responsables du flétrissement vasculaire du pois chiche en Algérie. Cette étude quoique portant sur un nombre limité d'isolats révèle néanmoins la présence de la race 6 non rapportée auparavant.

Historiquement, la race 6 a été signalée pour la première fois par Phillips (1988) en Californie où son identification reposait sur la réaction de résistance du cultivar Chaffa. Par la suite, sa présence a été rapportée dans plusieurs régions du monde, notamment en Espagne (Jiménez-Díaz et al., 1989), en Israël et au Maroc (Kelly et al., 1994), au Mexique (Arvayo-Ortiz et al., 2011) et en Inde (Reddy et Dubey, 2006). Sharma et al. (2014) ont observé que la race 6 représentait environ 29 % des isolats étudiés en Inde sur

un total de 110, aux côtés de la race 1 (47 %), montrant ainsi sa prévalence significative dans ce pays.

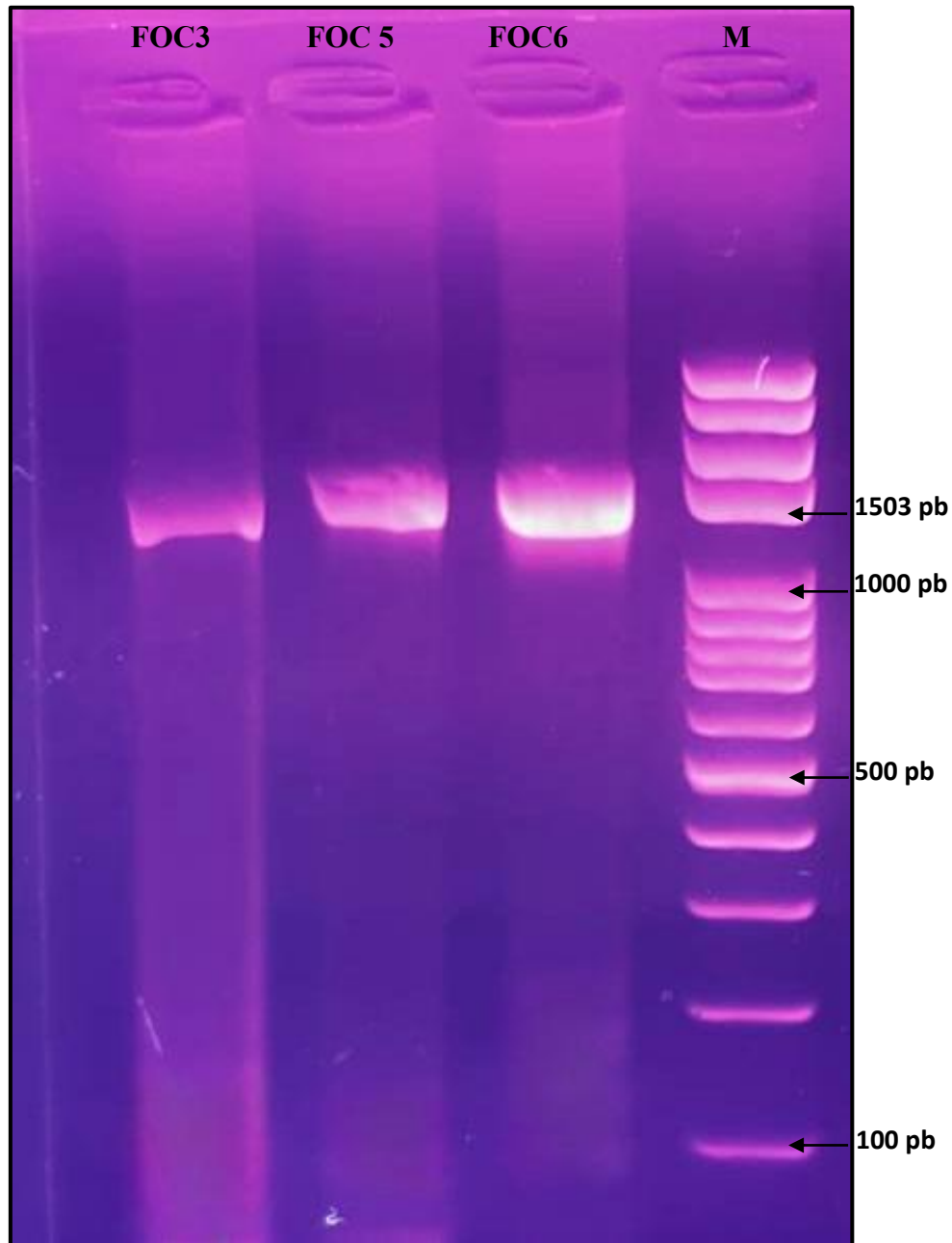


Figure 34 : Amplification PCR avec l'amorce Foc0-12 spécifique à *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. M : échelle d'ADN 100 pb.

La race 6 se distingue par une symptomatologie typique et précoce, caractérisée par l'apparition de jaunissements marginaux sur les feuilles inférieures au douzième jour après l'inoculation, suivis d'un enroulement du limbe, avant l'observation d'un jaunissement généralisé à toute la partie aérienne de la plante, accompagné de nécroses

foliaires et de défoliation. Elle se distingue également par sa capacité à induire un flétrissement sévère pouvant affecter jusqu'à 80 % des plants infectés (Faramarzpour et *al.*, 2025).

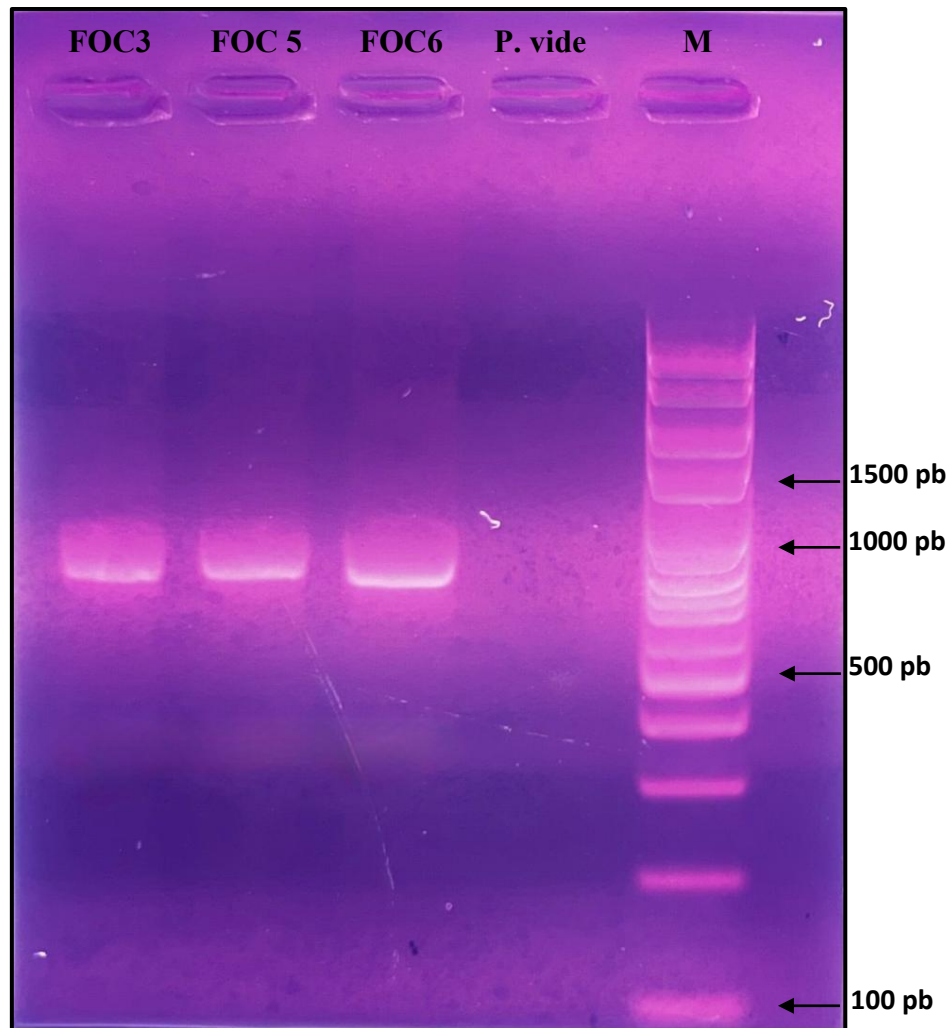


Figure 35 : Amplification PCR avec l'amorce FocR6-O2 spécifique à la race 6. M : échelle d'ADN 100 pb.

1.3. Conclusion

L'identification morphologique de *F. oxysporum* et *F. redolens*, proches et similaires, est délicate. Elle repose sur l'observation de caractères macroscopiques, tels que la pigmentation, la vitesse de croissance et l'aspect du mycélium, ainsi que sur des critères microscopiques comme la forme et la taille des spores. Toutefois, cette approche peut être ambiguë et insuffisante, ce qui explique l'application d'approches moléculaires que nous avons adoptée pour une identification fiable et précise, indispensable à une

caractérisation rigoureuse du pathogène. Ainsi, grâce à ces méthodes d'analyse, nous avons identifié les isolats de *FOC* ainsi que la race à laquelle ils appartiennent, travail indispensable avant d'aborder les parties expérimentales ultérieures.

L'identification précise des espèces pathogènes et des formes spéciales de *F. oxysporum* est essentielle pour une gestion efficace de la maladie, en particulier lorsque le recours à des variétés résistantes constitue l'un des rares moyens de lutte efficaces, comme c'est le cas pour le flétrissement du pois chiche. L'identification de nouvelles espèces ou races pathogènes permettra aux sélectionneurs d'orienter leurs programmes de sélection vers des génotypes résistants. Elle contribuera également à la mise en place de pratiques culturales adaptées pour lutter contre le flétrissement vasculaire, notamment l'utilisation de variétés résistantes, l'ajustement des dates de semis (Jiménez et *al.*, 1991 ; Jalali et Chand, 1992 ; Jiménez et *al.*, 1998 ; Navas-Cortés et *al.*, 1998 ; Navas-Cortés et *al.*, 2000 ; Landa et *al.*, 2004), et la mise en œuvre de rotations culturales appropriées (Landa et *al.*, 2006).

La caractérisation morphologique des cinq isolats de *FOC* a révélé une variabilité conidienne notable, traduisant une diversité phénotypique intra-spécifique cohérente avec ce qui est rapporté dans le complexe *F. oxysporum*. Ces différences, confirmées par les analyses statistiques, constituent une première base discriminante entre les isolats.

L'analyse moléculaire par la RAPD-PCR a permis d'identifier la présence de la race 6 parmi les isolats étudiés. La détection de cette race en Algérie revêt une importance agronomique majeure pour la filière pois chiche. Ces résultats fournissent des informations essentielles pour les futurs programmes nationaux de sélection variétale, en orientant le criblage vers des sources de résistance efficaces contre un large spectre de races.

La présence de la race 6 impose d'adapter les stratégies de gestion du flétrissement vasculaire, en privilégiant la combinaison de cultivars à résistance multi-races, d'agents de biocontrôle et de pratiques culturales durables (rotation, assainissement des semences, gestion hydrique raisonnée). Il est en outre nécessaire de cartographier sa distribution dans les principales zones potentielles de culture du pois chiche, afin d'asseoir des schémas de sélection et des recommandations techniques différenciés selon la composition en races.

Publication internationale



Citation: Sekkal, I., Mahiout, D., Bendahmane, B. S., Farah, T., Bentahar, M.-C. & Rickauer, M. (2025). Isolation and identification of *Fusarium* spp. associated with *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Algeria. *Phytopathologia Mediterranea* 64(1): 87-99. doi: 10.36253/phyto-15328

Accepted: April 24, 2025

Published: May 15, 2025

©2025 Author(s). This is an open access, peer-reviewed article published by Firenze University Press (<https://www.fupress.com>) and distributed, except where otherwise noted, under the terms of the CC BY 4.0 License for content and CC0 1.0 Universal for metadata.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Competing Interests: The Author(s) declare(s) no conflict of interest.

Editor: Diego Rubiales, Institute for Sustainable Agriculture, (CSIC), Cordoba, Spain.

ORCID:

IS: 0009-0004-9143-3123
DM: 0000-0002-1198-1444
BSB: 0000-0001-9959-2859
TF: 0000-0002-5806-4790
M-CB: 0000-0002-4708-4307
MR: 0000-0001-9217-6430

Research Papers

Isolation and identification of *Fusarium* spp. associated with *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Algeria

IBRAHIM SEKKAL¹, DJAMEL MAHIOUT^{1,*}, BOUBEKEUR SEDDIK BENDAHMANE¹, TAHAR FARAH², MOHAMED-CHERIF BENTAHAR³, MARTINA RICKAUER⁴

¹ Plant Protection Laboratory, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, 27000 – Algeria

² Laboratory protection, Valorization of Coastal Marine Resources and Molecular Systematics, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, 27000 – Algeria

³ Animal and Applied Physiology Laboratory, Abdelhamid Ibn Badis University of Mostaganem, 27000 – Algeria

⁴ Research Center of Biodiversity and Ecology, UMR5300, CNRS- Paul Sabatier University- National Polytechnic Institute INP-ENSAT, Avenue de l'Agrobiopole 31326 Castanet-Tolosan, France

*Corresponding author. E-mail: djamel.mahiout@univ-mosta.dz

Summary. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is an important vegetable crop in many Mediterranean countries, and *Fusarium* is known to cause wilt in these crops. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and *Fusarium redolens* are the only species which have been reported as the causes of *Fusarium* wilt in Algeria. *Fusarium* isolates (74) were obtained from roots of chickpea plants showing symptoms of wilting and necroses in xylem tissues. The plants were from 11 eleven principal provinces for chickpea crops in Algeria. Laboratory identifications for 31 isolates were achieved by sequencing their transcription elongation Factor 1- α (*Ef-1 α*) gene regions. Four principal species were identified including *F. oxysporum* (20 isolates), *F. redolens* (ten isolates), *F. solani* (one isolate) based on PCR using species-specific primers, and three *formae speciales* were identified within *Fusarium oxysporum*. *Fusarium redolens* and *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* were dominant in the sampling sites. *Fusarium redolens* was identified in the western region of Algeria, and *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* was not isolated from this region. In contrast, from the eastern region, *F. redolens* was not isolated but *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* was detected. Pathogenicity tests showed that chickpea was susceptible to various *Fusarium* species. Inoculated plants exhibited gradual wilting that eventually affected entire plants. This study provides new knowledge of the distribution of *Fusarium* species causing chickpea wilt in Algeria. Precise identification and the localization of pathogen species is important for developing *Fusarium* wilt management strategies, including development of wilt resistant chickpea cultivars.

Keywords. Koch's postulates, transcription elongation factor 1- α gene.

Abbreviations: FR: *Fusarium redolens*; FS: *Fusarium solani*; FO: *Fusarium oxysporum*; FOC: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*; FOL: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactuceae*. Transcription elongation Factor 1- α gene (EF-1 α).

INTRODUCTION

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is an important pulse crop for human nutrition, and is a major component of food production systems that are resilient to climate change. Chickpea is a preferred food legumes (Siddique *et al.*, 2000) in some regions because of its multiple uses. The high protein content of the seeds (approx. 40% of seed weight), has potential human health benefits, including reduced risk of diabetes, cardiovascular disease, and cancer (Merga and Haji, 2019). Chickpea also contributes to soil fertility by fixing atmospheric nitrogen in the soil through symbiosis with rhizobia, which is especially important in dry climate areas. However, chickpea crops are often affected by telluric diseases such as *Fusarium* wilt, *Verticillium* wilt and those caused by *Sclerotinia* sp. and *Rhizoctonia* sp. (Nene *et al.*, 2012).

Fusarium wilt is now widespread in most chickpea production areas of Africa, southern Europe, the Americas, and Asia. This disease is caused by several *Fusarium* species, and accurate and rapid identification of the responsible pathogens is important for development of appropriate and efficient management of *Fusarium* wilt of chickpea (Tekeoğlu *et al.*, 2017). In Algeria, *Fusarium* wilt of chickpea has been attributed to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), but in January 2022 Zaim and Bekkar (2022) reported a second pathogen, *F. redolens* (FR), causing this disease in the western region of the country.

Formal identification of the pathogen responsible for chickpea-wilt in Algeria was made using classical methods, including morphological characteristics and fulfilment of Koch's postulates. *Fusarium oxysporum* (FO) was defined by morphological criteria, including the shape of the microconidia, macroconidia and conidiophore structure (false head on short phialides formed on hyphae). This morphological identification is problematic, however, because of the diversity of non-pathogenic and saprophytic isolates in soil. *Fusarium* isolates are usually tested on the chickpea ILC-482 genotype, which is susceptible to all races of *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (Jimenez-Diaz *et al.*, 1989), and is supposed to confirm the identity of the pathogen.

Identification of *Fusarium* spp. based only on morphology is difficult, because informative morphological characteristics are limited, and microscopic traits can be influenced by environmental conditions, so that their plasticity and intergradation make them subject to misinterpretation (Leslie *et al.*, 2001). For example, distinguishing *F. redolens* from *F. oxysporum* can be particularly challenging, because this relies on differences in size of their macroconidia (Gordon, 1952), and intermediate conidium forms may occur (Baayen and Gams,

1988). For these reasons, the taxonomic position of *F. redolens* has been problematic. Whereas Booth (1971) considered this fungus to be a variety of *F. oxysporum*, Nelson *et al.*, (1983) considered *F. redolens* and *F. oxysporum* to be synonymous. The use of DNA-based methodologies now makes it possible to differentiate between different species of *Fusarium* (Jimenez-Gasco and Jimenez-Diaz, 2003; Jiménez-Fernandez *et al.*, 2011).

During spring of 2020 and 2021, the present study investigated occurrence of *Fusarium* wilt of chickpea in the north of Algeria. Samples were collected from eleven provinces. Wilting and yellowing symptoms were observed on aerial parts of diseased chickpea plants, and 74 fungal isolates were obtained from roots. To identify these isolates, their translation elongation factor 1- α (EF-1 α) gene regions were sequenced.

MATERIALS AND METHODS

Plant sampling, and isolation and maintenance of fungi

During the chickpea growing seasons of spring 2020 and 2021, chickpea plants with yellowing and wilting symptoms on their areal parts were collected from 23 farmer fields in different areas in north western and eastern Algeria. These areas were in to 11 provinces, five in the western region and six in the eastern region. The major chickpea sowing method in the west is strip sowing, whereas in the east it is broadcast sowing.

Tissue pieces (5 × 5 mm) were taken from diseased tap root tissues of wilted chickpea plants, and were surface-sterilized in 2% sodium hypochlorite for 30 sec, then rinsed three times in sterile distilled water, and dried on sterile paper. Samples were then plated on potato dextrose agar (PDA), and incubated at 27°C in the dark for 7 d. Growing tips of hyphae developing from in cultures were then transferred onto fresh PDA. Monoconidial isolates were prepared from cultures of fungi obtained from each region, and cultures were stored at 4°C.

A total of 74 *Fusarium* sp. isolates were obtained, of which 31 were sequenced using the EF-1 α gene. The 31 isolates were chosen based on macroscopic characteristics (colony colour and appearance on PDA). Two to four representative isolates of the morphotypes from each province were considered.

DNA extractions

The selected fungal cultures were grown on PDA 25 ± 2°C in the dark for 7 d. For each extraction, 100 mg of mycelium was collected by scraping the colonies

from three plates per isolate. DNA of each isolate was extracted using a commercial NucleoSpin Plant II kit (Macherey-Nagel), following the supplier's instructions. The quality and concentration of extracted DNA were verified after 1% agarose gel electrophoresis, using a NanoDrop spectrophotometer (at 260/280 nm).

Molecular characterization of *Fusarium* isolates

The translation elongation factor-1 α (EF-1 α) gene region was amplified by PCR, using the universal primers EF-728F (CATYGAGAAAGTTCGAGAAGG) and EF-2 (GGARGTACCAGTSATCATGTT) (Carbone and Kohn, 1999), in a 25 μ L reaction volume containing 1.5 mM MgCl₂ (Promega), 0.2mM dNTPs (Invitrogen), 2 μ g mL⁻¹ fungal DNA, 0.5 μ M primers each, 1 $\times$ Taq Buffer (Promega), and 1-unit Taq polymerase (Promega).

Amplifications were carried out in a thermal cycler (Icycler Bio-Rad), with an initial denaturation step for 5 min at 95°C, followed by 35 cycles each of 30 sec of denaturation at 95°C, 30 sec at annealing temperature (52°C), and 45 sec at 72°C, and an extension step of 7 min at 72°C. Amplification products were separated by electrophoresis on a 1.5% agarose gels. The gels were stained with MidoriGreen (Nippon), and were visualized under UV light by using the Gel doc system (Biorad). The size marker was a 100 bp DNA ladder (Invitrogen). The PCR products were purified with a NucleoSpin® Gel and a PCR Clean-up kit (Macherey-Nagel), following the manufacturer's instructions. PCR products of the EF-1 α regions were sequenced by Sanger sequencing (Sanger *et al.*, 1977) directly from the PCR products, without a cloning step, using Applied Biosystems BigDye Kit v3.1 and the primers used for PCR amplification of the fragments. Sequencing was performed in the direction (forward/reverse) for each amplicon. Sequencing was carried out by Gene Life Sciences.

The sequences obtained were analyzed and cleaned using the CHROMAS PRO software, and were then compared with those from the GenBank database using the BLAST Program (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast) to identify the isolates based on percentage homology with reference strains. A dendrogram was established using the UPGMA method algorithm to show the genetic diversity of the isolated fungi.

Assessment of Koch's postulates for representative fungi

To verify the pathogenicity of *Fusarium* spp. isolates, five species [*F. redolens* (FR), *F. solani* (FS), *F. oxysporum* (FO), *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), and *F.*

oxysporum f. sp. *lactuceae* (FOL)] were inoculated individually onto plants of cultivar ILC-482 from ICARDA. The seeds were surface sterilized, and then pre-germinated on moist cotton wool, which provided favorable conditions for seedling germination (ISTA, 2015; Korter *et al.*, 2023).

The pre-germinated seeds were then sown in plastic pots (30 $\times$ 20 cm) containing a sterile mixture of potting soil and sand (1:1 v:v). For each *Fusarium* sp., three pots each containing four plants were used. Seven d after sowing (3–4 leaf stage), the plants were removed from soil and their root systems were soaked for 30 min in a conidial suspension (10⁶ conidia mL⁻¹ (Gao *et al.*, 1995; Ficcadenti *et al.*, 2002). Five pots were used as controls, where the plants were soaked in sterile water without inoculum.

RESULTS AND DISCUSSION

In the assayed chickpea fields, diseased plants were spread throughout each field, with incidence up to 30% (Figure 1, a and b). In addition to wilting and yellowing symptoms, the stems and root xylem tissues of the diseased plants had black discolourations (Figure 2 a). Brown necrotic lesions in the tap roots and necroses of lateral roots (Figure 2 b) also occurred on most of the sampled plants from the west of Algeria. The same symptoms were observed by Jimenez-Fernandez *et al.* (2011).

On PDA, colonies of the isolates had different morphotypes (Figure 3), with differences in colour, growth rates, and aspect of mycelium. All colonies initially had white to cream-coloured mycelium, which turned (after 3 to 7 d incubation) to purple and pink for isolates of *F. redolens*, purple tinged or slightly orange for *F. solani*, or cream or purple for *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* and *F. oxysporum*. The mycelium texture was fluffy or appressed.

Microscopic observations of most of the isolates revealed septate mycelium which carried phialides bearing false-headed conidia (Figure 4).

The morphological and cultural characteristics on PDA identified the isolates as *Fusarium* sp., based on the descriptions of Booth (1977).

BLASTn sequence analyses with (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) identified the isolates as follows: ten isolates were *F. redolens*, six were *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, nine were *F. oxysporum*, five were *F. oxysporum* f. sp. *Lactuceae*, and one isolate was *F. solani* (Ascomycota, Pezizomycotina, Sordariomycetes, Hypocreomycetidae, Hypocreales, Nectriaceae) with 94.85 to 100% sequence similarity to the sequences of type isolates from Genbank.

A dendrogram was constructed based on the EF-1 α sequences, using the UPGMA method (Sneath and

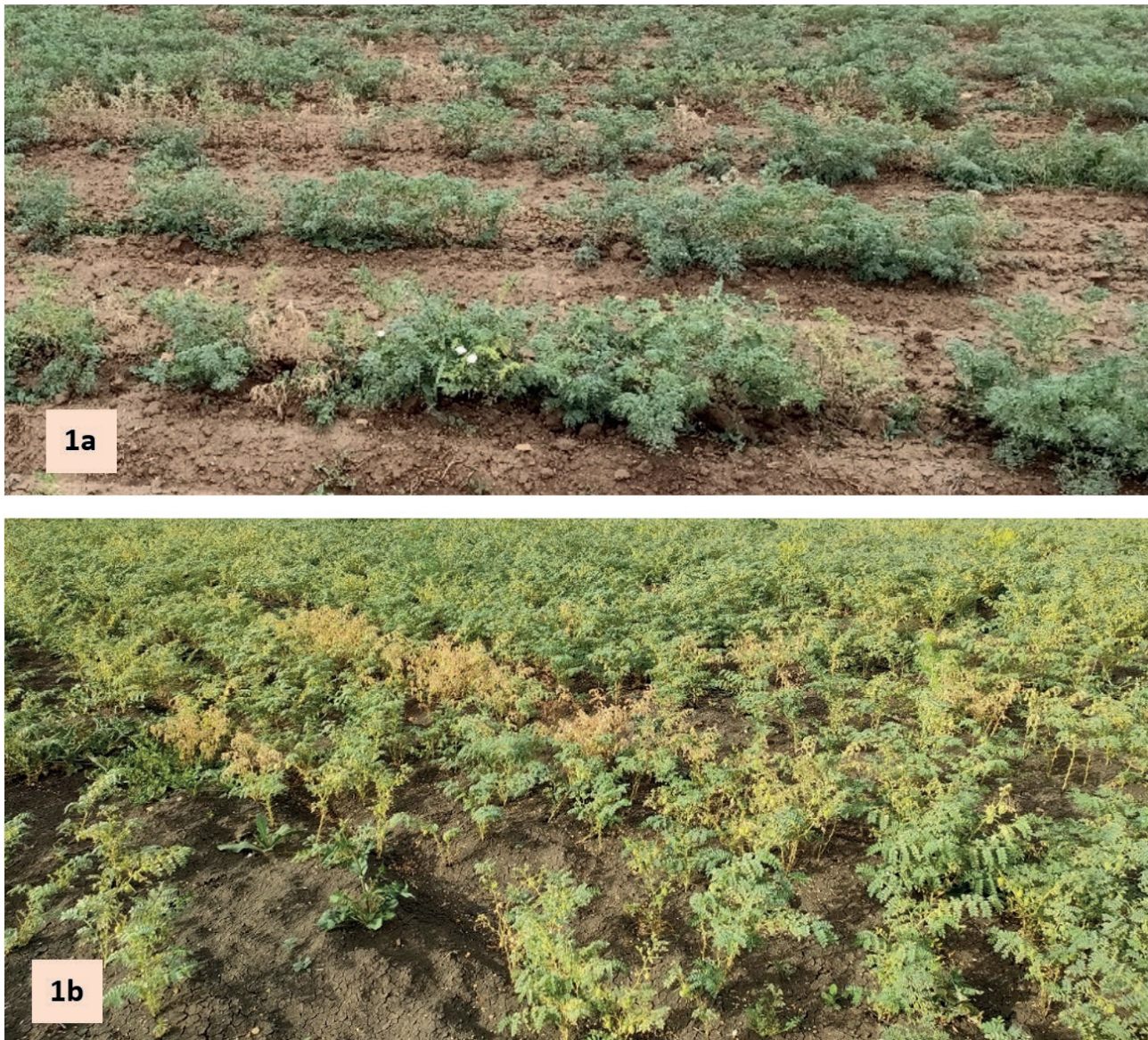


Figure 1. (1a) Typical symptoms of Fusarium wilt caused by *Fusarium redolens* on chickpea plants in the Ain Temouchent region (Western Algeria). (1b) Typical symptoms of Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in chickpea plants in Mila (Eastern region).

Sokal, 1973) to show phylogenetic relationships among the *Fusarium* isolates obtained from different regions of Algeria (Figure 5). The branches of the dendrogram were supported by bootstrap values, demonstrating the robustness of the phylogenetic relationships among these isolates. For 15 isolates from the western region, ten isolates (67%) were FR, four (27%) were FO of one *forma specialis* (*F. oxysporum* f. sp. *lactuceae*), and one isolate (6.7%) was FS. In contrast, among the 16 isolates from the eastern region of Algeria, all were FO, in which two *formae speciales* were identified, six of FOC, and three of FOL (Table 1).

These results indicate that *F. redolens* is dominant in the western region of Algeria, while *F. oxysporum* prevails in the eastern region, where *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* was the most frequently identified *forma specialis* among the isolates collected from the east. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* was not isolated from the western region, and *Fusarium redolens* was not isolated from the eastern region of the country (Figure 6).

Koch's postulates were confirmed by inoculating chickpea cultivar ILC-482 and re-isolating the fungi from the inoculated chickpea roots, which indicates that all the *Fusarium* isolates were infectious agents of

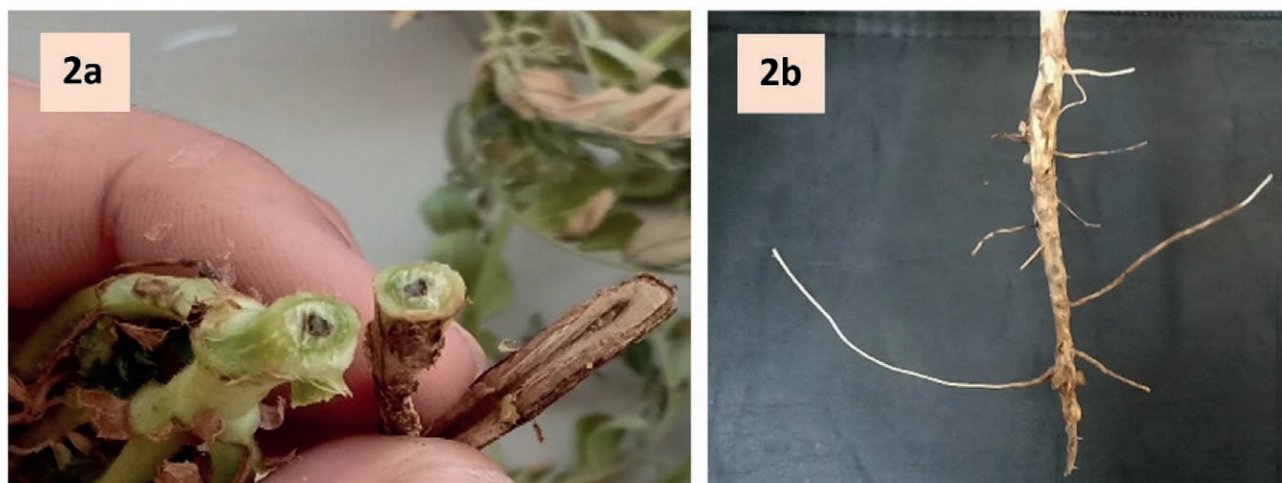


Figure 2. (2a) Cross section of a chickpea stem showing discoloration (black and brown necrosis) of the xylem and pith tissue caused by *Fusarium redolens*. (2b) Brown necrotic lesions in the tap root and necrosis of lateral roots showing on chickpea infected with *Fusarium*.

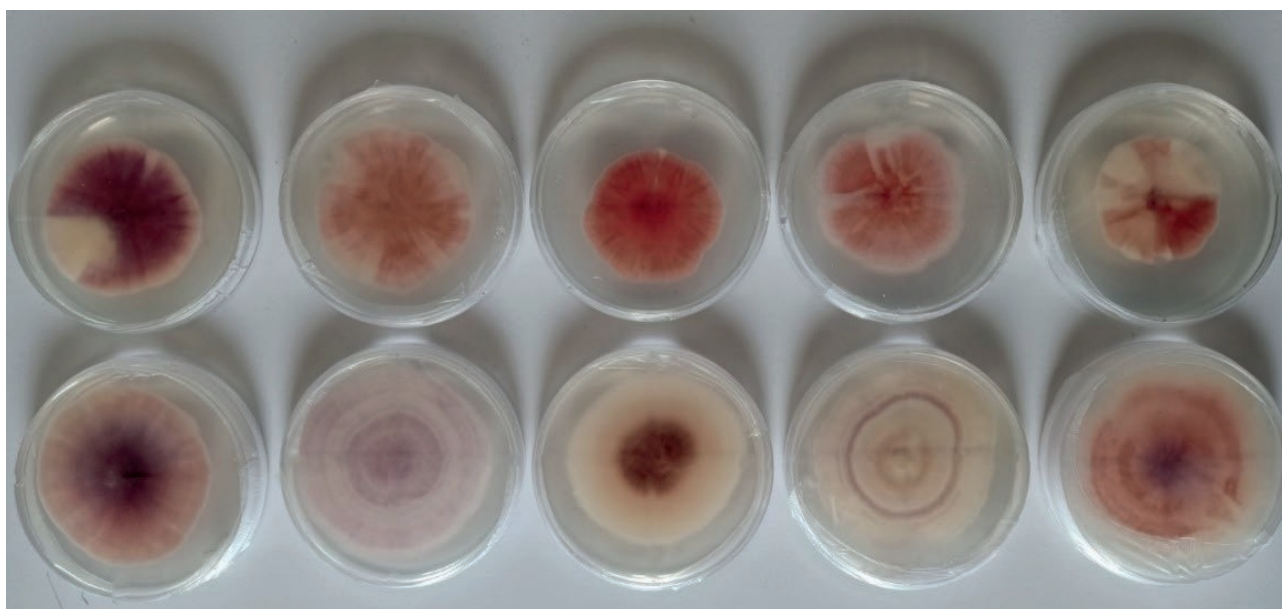


Figure 3. Different morphotypes of *Fusarium* spp. of a colony isolated from chickpea, on PDA medium, after 8 days of incubation.

diseased plants sampled from the chickpea fields. These results show that chickpea culture can be susceptible to different *Fusarium* species, and even to FOL that has been previously shown to be a pathogen of lettuce. All the inoculated plants developed progressive wilting. Although *formae speciales* of *F. oxysporum* are mainly described as highly specific, their host ranges have been found to increase. For example, only 53 of the 106 *formae speciales* listed by Edel-Hermann and Lecomte (2019) remain associated with a unique plant species.

Similarly, Ramirez-Suero *et al.* (2010) showed susceptibility of *Medicago truncatula* to several *F. oxysporum formae speciales*, even from non-legume hosts.

In the present study, wilting symptoms appeared on inoculated plants at 21 d after inoculation for all of the *Fusarium* isolates. Leaves at the base of plants initially showed marginal yellowing before wilting (Figure 7). The symptoms then developed progressively towards the upper leaves, and most rapidly in plants inoculated with *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* and *F. redolens*. Roots of inoc-



Figure 4. Microscopic features of *Fusarium redolens* (isolate FR1). Note the phialide bearing false-headed conidia on a septate hypha (x 100). Bar = 20 μ m.

ulated plants had reduced root hairs and brown/black discolouration, which extended to the plant collars and sometimes caused collar narrowing (Figure 7b).

Longitudinal sections of primary roots of the diseased plants had dark vascular necroses, which were more or less dark according to the inoculated *Fusarium* isolates. Root xylem necroses were sometimes accompanied by wet rots, where plants were inoculated with *F. solani* or *F. redolens* (Figure 8). All non-inoculated (control) plants remained healthy. Symptoms on roots and leaves were more severe on plants inoculated with isolates of FOC or FR than on those inoculated with the other isolates (Figure 7, a and b).

To date, chickpea wilt in the western region of Algeria has been attributed to *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, using morphological characteristics of the pathogenic fungi (Benfreha *et al.*, 2014) or Koch's postulates for the chickpea ILC-482 genotype (Tlemsani *et al.*, 2015; Zaim, 2016). The present study indicates that FOC does not exist in the western region of Algeria. Using ITS and EF-1 α , Zaim and Bekkar (2022) identified only *Fusarium redolens* of 20 *Fusarium* isolates from chickpea in the western region of this country. The present study further confirms the absence of FOC, since among the 15 *Fusarium* isolates that were obtained from the western region, ten were *F. redolens*, and the remaining five were FS (one isolate), FO (two isolate), and FOL (two isolates). Although only 31 of 74 isolates were sequenced in the present study, these results and those of Zaim and Bekkar (2022) confirm that FOC is absent from western Algeria.

Fusarium redolens has been reported to cause wilt of tomato (Edel-Hermann *et al.*, 2012), and damping-off of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) (Lazreg *et al.*, 2013) in the North west of Algeria. Association of *F. redolens* with wilt symptoms of chickpea has been reported in Morocco, Spain, Lebanon, and Pakistan (Jimenez-Fernandez *et al.*, 2011), Saskatchewan (Taheri, 2011), Tunisia (Bou-

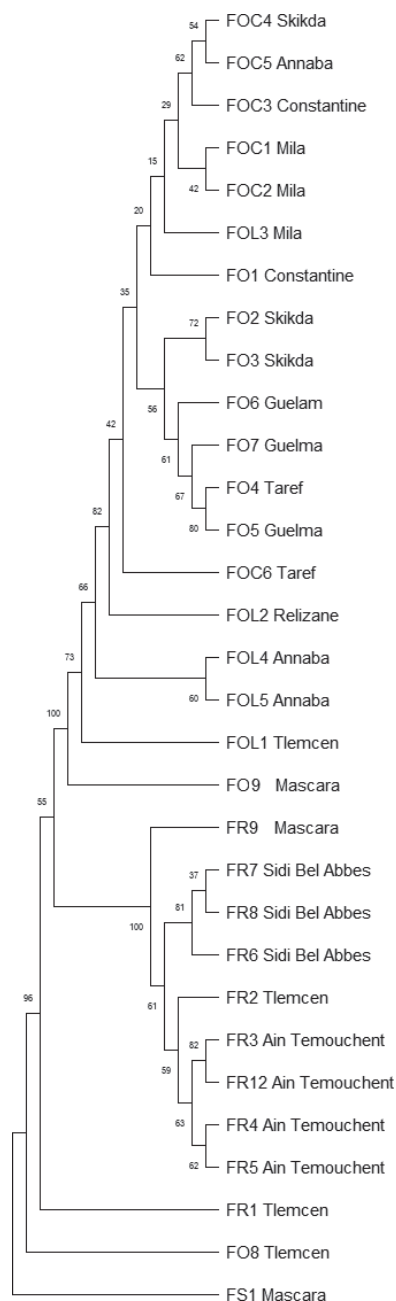


Figure 5. Dendrogram of *Fusarium* wilt species, obtained using the UPGMA method. The bootstrap consensus tree inferred from 1000 replicates (Tamura K. *et al.*, 2004) is taken to represent the evolutionary history of the taxa analyzed (Tamura *et al.*, 2004). The percentages of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1000 replicates) are shown next to the branches (Tamura K. *et al.*, 2004). The evolutionary distances were computed using the Maximum Composite Likelihood method (Tamura K. *et al.*, 2021), and are the numbers of base substitutions per site. This analysis involved 31 nucleotide sequences. Codon positions included were 1st+2nd+3rd+Noncoding. All ambiguous positions were removed for each sequence pair (pairwise deletion option). There were 1042 positions in the final dataset. Evolutionary analyses were conducted in MEGA11 (Felsenstein J., 1985).

Table 1. Identities of *Fusarium* isolates, their sampling site fields, and their EF-1 α sequence similarities with reference strains, for isolates from different regions and provinces in Algeria.

Region	Province	Code	Identification	Field coordinates	Percentage similarity	Blast Best Hit ID	Accession number NCBI
Western region	Tlemcen	FOL1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	35°09'54.3"N+1°26'50.7"W	98.64	MK801786.1	PQ899234
		FR1	<i>Fusarium redolens</i>	34°56'42.5"N+1°14'59.6"W	94.85	HQ731060.1	PV388859
		FR2	<i>Fusarium redolens</i>		99.75	HQ731060.1	PV388860
		FO8	<i>Fusarium oxysporum</i>	35°09'54.3"N+1°26'50.7"W	100.00	ON703236.1	PQ899228
	Ain Temouchent	FR12	<i>Fusarium redolens</i>	35°13'56.7"N+1°20'50.5"W	99.16	HQ731063.1	PV388869
		FR3	<i>Fusarium redolens</i>	35°13'56.7"N+1°20'50.5"W	99.58	MT305223.1	PV388861
		FR4	<i>Fusarium redolens</i>	35°16'36.2"N+1°13'43.1"W	99.58	OR270920.1	PV388862
		FR5	<i>Fusarium redolens</i>	35°17'43.2"N+1°05'10.6"W	99.57	OR105855.1	PV388863
	Sidi Bel Abbes	FR6	<i>Fusarium redolens</i>	35°14'18.9"N+0°43'51.5"W	99.79	OR270920.1	PV388864
		FR7	<i>Fusarium redolens</i>	35°16'15.8"N+0°35'04.5"W	99.79	OR270920.1	PV388865
		FR8	<i>Fusarium redolens</i>	35°23'25.0"N+0°29'03.4"W	99.85	MK172061.1	PV388866
	Mascara	FR9	<i>Fusarium redolens</i>	35°26'56.5"N+0°08'48.9"E	99.57	HQ731060.1	PV388867
		FS1	<i>Fusarium solani</i>	35°24'23.9"N+0°18'27.0"E	99.57	HE647956.1	OR234389
		FO9	<i>Fusarium oxysporum</i>		97.53	MW361989.1	-
	Relizane	FOL2	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	35°59'58.4"N+0°52'33.9"E	99.35	MH412703.1	PQ899235
Eastern region	Mila	FOC1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	36°30'22.9"N+6°16'35.1"E	99.55	FJ538240.1	PQ899229
		FOC2	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	36°27'54.3"N+6°13'21.8"E	100.00	FJ538240.1	PQ899230
		FOL3	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>	36°27'21.7"N+6°12'51.0"E	99.85	OP918954.1	PQ899236
	Constantine	FOC3	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	36°17'58.0"N+6°38'41.8"E	100.00	FJ538241.1	PQ899231
		FO1	<i>Fusarium oxysporum</i>	36.294952, 6.641571	98.46	PP795998.1	PQ613583
	Skikda	FOC4	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	36°43'22.0"N+6°51'29.3"E	100.00	FJ538241.1	PQ899232
		FO2	<i>Fusarium oxysporum</i>	36°42'43.2"N+6°47'47.8"E	100.00	OQ511027.1	PQ613583
		FO3	<i>Fusarium oxysporum</i>		99.85	OQ511027.1	PQ899231
	Annaba	FOC5	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	36°46'38.1"N+7°44'18.4"E	98.85	FJ538241.1	PQ899233
		FOL4	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>		99.57	MW316853.1	PQ899237
		FOL5	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lactuceae</i>		99.78	MW316854.1	-
	El Taref	FOC6	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	36°42'28.4"N+7°44'26.5"E	98.81	FJ538240.1	-
		FO4	<i>Fusarium oxysporum</i>		99.85	OQ511027.1	PQ613586
	Guelma	FO5	<i>Fusarium oxysporum</i>	36°39'03.1"N+7°42'35.2"E	99.85	KF537337.1	PQ613587
		FO6	<i>Fusarium oxysporum</i>		100.00	OQ511027.1	PQ613588
		FO7	<i>Fusarium oxysporum</i>		99.85	OQ511027.1	PQ899227

hadida *et al.*, 2017), Turkey (Tekeoğlu *et al.*, 2017), and Iran (Chehriand Sattar, 2018).

The present study isolated *F. solani* from the western region of Algeria. This fungus was previously reported to infect chickpea in China, India, Spain, Pakistan, Iran, and other countries (Zhuang *et al.*, 2005; Jiménez-Fernández *et al.*, 2011). In Algeria, *F. solani* has been reported to cause wilt of potato (*Solanum tuberosum*) (Azil *et al.*, 2021) and tomato (*Solanum lycopersicum*)

(Abdesselem *et al.*, 2016), as well as damping-off of Aleppo pine (*Pinus halepensis*) (Lazreg *et al.*, 2014). Therefore, the present study is the first to show that *F. solani* is a chickpea pathogen in Algeria.

While *F. redolens* and *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* are known to cause yellowing and wilt of chickpea, the reasons for their distinct geographic distributions in Algeria remains unclear. Several factors could explain this separation of the pathogens, including variations in climate,

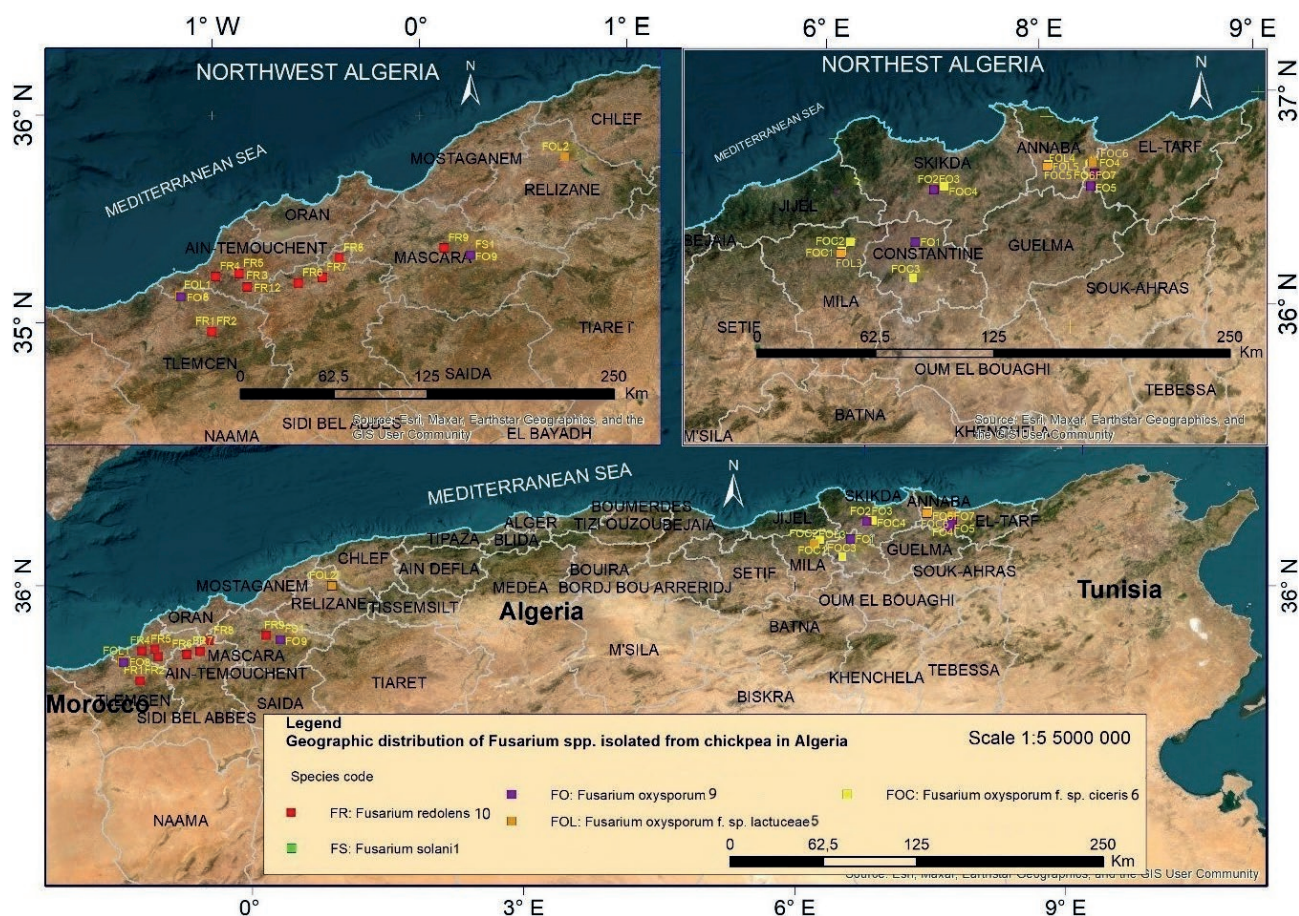


Figure 6. Geographic distribution of *Fusarium* spp. isolated from chickpea in Algeria, recorded with ArcGis software. The numbers after the names of the *Fusarium* species correspond to the numbers of obtained isolates of that species.

soil structure, and cropping systems. Further research is required to confirm these potential influences.

It is well-documented that plant pathogen prevalence can be linked to climatic conditions, such as temperature and rainfall, which differ across geographic regions. For example, *F. graminearum* tends to dominate in warm areas such as parts of the United States of America, while *F. culmorum* is common in cool, maritime regions such as the United Kingdom (Parry *et al.*, 1995; Doohan *et al.*, 2003). Similarly, optimal temperatures and moisture levels are critical for *Fusarium* sporulation and inoculum dispersal (Rossi *et al.*, 2001), suggesting that local environmental factors may play a role in the distributions of FR and FOC.

Soil characteristics, including moisture and pH, also affect *Fusarium* spp. growth and resulting host disease development. Previous studies have shown that soil pH can influence *Fusarium* growth rates and expression of wilt symptoms (Chen *et al.*, 2013; Gatch and du Toit, 2017). Additionally, resistance to *Fusarium* wilt has been

observed in particular soils, with microbiological interactions such as competition for iron and/or carbon playing important roles (Elad and Baker, 1985b; Couteaudier and Alabouvette, 1990).

To fully understand the geographic distributions of FOC and FR, further research is required on effects on the fungi of soil physicochemical properties, microbial communities, and agricultural practices. It remains that FS and FOC could be serious future threats to chickpea cultivation in Algeria. It would also be worthwhile to test the aggressiveness of *Fusarium* spp. on different chickpea cultivars to understand whether those isolates have cultivar specificities.

The use of morphological traits to differentiate morphologically similar *Fusarium* spp., including *F. oxysporum* and *F. redolens*, may lead to incorrect pathogen identifications. However, accurate identification of pathogenic *Fusarium* spp. and *F. oxysporum* formae speciales is important for efficient management of diseases caused by these fungi, particularly when resistant cultivars are



Figure 7. (7a) Wilt symptoms, on chickpea cultivar ILC482 30 d after inoculation with *Fusarium* isolates. **a**, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*; **b**, *F. redolens*; **c**, *F. solani*; **d**, *F. oxysporum*; **e**, *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*; **f**, Inoculation Control. (7b) Symptoms on chickpea cultivar ILC482 inoculated with *Fusarium* isolates, 30 days after inoculation: **a**, *F. redolens*; **b**, *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*; **c**, *F. oxysporum*; **d**, *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*; **e**, *F. solani*; **f**, Inoculation Control.



Figure 8. Symptoms in xylem tissues of chickpea cultivar ILC-482 inoculated with *Fusarium* isolates. **a**, Inoculation Control; **b**, inoculation with *F. oxysporum*; **c**, with *F. oxysporum* f. sp. *lactucae*; **d**, with *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*; **e**, with *F. redolens*; **f**, inoculation with *F. solani*.

one of the few and most effective control measures for these diseases, as is the case for *Fusarium* wilt of chickpea (Nene and Reddy, 1987).

Identification of new pathogen species and races would help plant breeders to select appropriate germplasm for development of resistant crop cultivars. Identification of disease-causing *Fusarium* spp. may also help development of cultural practices for management of *Fusarium* wilt, which can be achieved with use of resistant cultivars and adjustment of sowing dates (Jiménez *et al.*, 1991; Jalali and Chand, 1992; Jiménez *et al.*, 1998; Landa *et al.*, 2004; Navas-Cortés *et al.*, 1998; Navas-Cortés *et al.*, 2000), and appropriate crop rotations (Landa *et al.*, 2006).

LITERATURE CITED

- Abdesselem S.M., Nisserine H.K., Mebrouk K., Jamal E.H., Jos Eacute S., Eduardo G., 2016. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from tomato plants in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 10, 1156–1163. <https://doi.org/10.5897/ajmr2016.8161>
- Azil N., Stefanczyk E., Sobkowiak S., Chihat S., Bouregda H., Sliwka, J., 2021. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. Associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. *European Journal Plant Pathology* 159, 495–509. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02177-5>
- Baayen R.P., Gams W., 1988. The Elegans fusaria causing wilt disease of carnation. I. Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 94: 273–288.
- Benfreha F.Z., Henni D.E., Merzoug A., 2014. *Fusarium* wilt of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Northwest Algeria. *African Journal of Agricultural Research* Vol. 9(1), 168–175, <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.6694>
- Booth C., 1971. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. Reprinted 1977, 237 pp.
- Booth C., 1977. *Fusarium Laboratory Guide to the Identification of the Major Species*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 58 pp.
- Bouhadida M., Jendoubi W., Gargouri S., Beji M., Kharat M., Chen W., 2017. First report of *Fusarium redolens* causing *Fusarium* yellowing and wilt of chickpea in Tunisia. *Plant Disease* 101. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-16-1114-PDN>
- Carbone I., Kohn L.M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91: 553–556. <https://doi.org/10.2307/3761358>
- Chehri K.h., Sattar H.A., 2018. Detection of fumonisin chemotype produced by *Fusarium proliferatum* isolated from nuts in Iraq using specific PCR assays. *Biological Journal of Microorganism* 24: 21–27.
- Chen L.H., Huang X.Q., Yang X.M., Shen Q.R., 2013. Modeling the effects of environmental factors on the population of *Fusarium oxysporum* in cucumber continuously cropped soil. *Communications in Soil Science and Plant analysis* 44: 2219–2232.
- Couteaudier Y., Alabouvette C., 1990. Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation with carbon utilization. *FEMS Microbiology Ecology* 74: 261–268.
- Doohan F.M., Brennan J., Cooke B.M., 2003. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journal of Plant Pathology* 109: 755–768. <https://doi.org/10.1023/A:1026090626994>
- Edel-Hermann V., Gautheron N., Steinberg C., 2012. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* and related species pathogenic on tomato in Algeria and other Mediterranean countries. *Plant Pathology* 61: 787–800. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02551.x>
- Edel-Hermann V., Lecomte C., 2019. Current status of *Fusarium oxysporum* formae speciales and races. *Phytopathology* 109: 512–530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>
- Elad Y., Baker R., 1985b. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospores germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 75: 1053–1059.
- Felsenstein J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Ficcadenti N., Sestili S., Annibali S., Campanelli G., Belisario A., ... Corazza L., 2002. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Race 1, 2 in Muskmelon Lines. *Plant Disease*, 86: 897–900.
- Gao H., Beckman C.H., Mueller W.C., 1995. The rate of vascular colonisation as a measure of the genotypic interaction between various cultivars of tomato various formae or races of *Fusarium oxysporum*. *Physiological Molecular Plant Pathology* 46: 29–43.
- Gatch E.W., du Toit L.J., 2017. Limestone-mediated suppression of *Fusarium* wilt in spinach seed crops. *Plant Disease* 101: 81–94. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0423-RE>
- Gordon W.L., 1952. The occurrence of *Fusarium* species in Canada, II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seeds. *Canadian Journal of Botany* 30: 236–238.
- ISTA, 2015. *International Rules for Seed Testing*. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

- Jalali B.L., Chand H., 1992. Chickpea wilt. In: *Plant Diseases of International Importance.. Diseases of Cereals and Pulses*. Vol. I (Singh U.S., Mukhopadhyay A.N., Kumar J., Chaube H.S., ed). Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, USA. 429–444.
- Jimenez-Diaz R.M., Singh K.B., Trapero-Casas A., 1989. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* infecting chickpeas in southern Spain. In: *Vascular Wilt Diseases of Plants* (Tjamos E.C., Beckman C.H. ed.), NATO ASI Ser., Springer-Berlin, 1989, vol. H28, 515–520.
- Jiménez-Díaz, R.M., Porta-Puglia A., Tivoli B., 1998. New approaches in the integrated management of legume diseases: Toward sustainable crop health. Pages 89–93. In: *European Conference Grain Legumes*, 3rd. Opportunities for High Quality, Healthy and Added-value Crops to Meet European Demands. European Association for Grain Legumes, ed. Valladolid, Spain.
- Jiménez-Díaz R.M., Singh K.B., Trapero-Casas A., Trapero-Casas, J.L., 1991. Resistance in kabuli chickpeas to *Fusarium* wilt. *Plant Disease* 75: 914–918.
- Jimenez-Fernandez D., Navas-Cortes J.A., Montes-Borrego M., Jiménez-Díaz R.M., Landa B.B., 2011. Molecular and pathogenic characterization of *Fusarium redolens*, a new causal agent of *Fusarium* yellows in chickpea. *Plant Disease* 95: 860–870. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0946>
- Jiménez-Gasco M.M., Jiménez-Díaz R.M., 2003. Development of a specific polymerase chain reaction based-assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5 and 6. *Phytopathology* 93: 200–209. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.2.200>
- Korter G.O., Sunday A.A., Ehiagwina F.O., Lawal P.O., Akinola T.E., Kolawole S.K., 2023. Comparative studies of rockwool and cotton wool for tomatoes production: Nutrient balance, plant growth and fruit quality. *International Research Journal of Modernization in Engineering Technology and Science* 5: 19–25.
- Landa B.B., Navas-Cortés J.A., Jiménez-Díaz R.M., 2004. Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea with sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology* 94: 946–960. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.9.946>
- Landa B.B., Navas-Cortés J.A., Jiménez-Gasco M.M., Katan J., Retig B., Jiménez-Díaz R.M., 2006. Temperature response of chickpea cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, causal agent of *Fusarium* wilt. *Plant Disease* 90: 365–374. <https://doi.org/10.1094/PD-90-0365>
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Bayaa B., 2014. Pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with diseases of Aleppo-pine seedlings in Algerian forest nurseries. *Journal of Forest Science* 60:1 15–120.
- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Garrido-Cardenas J.A., Elhaitoum A., 2013. First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria. *Plant Disease* 97: 997. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1169-PDN>
- Leslie J.F., Zeller K.A., Summerell B.A., 2001. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 59: 107–117. <https://doi.org/10.1006/pmpp.2001.0351>
- Merga B., Haji J., 2019. Economic importance of chickpea: production, value, and world trade. *Cogent Food & Agriculture*, vol. 5 (1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1615718>
- Navas-Cortés J.A., Hau B., Jiménez-Díaz, R.M., 1998. Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of *Fusarium* wilt of chickpea. *Phytopathology* 88: 1338–1346. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1998.88.12.1338>
- Navas-Cortés J.A., Hau B., Jiménez-Díaz, R.M., 2000. Yield loss in chickpeas in relation to development of *Fusarium* wilt epidemics. *Phytopathology* 90: 1269–1278. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.11.1269>
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Marasas W.F.O., 1983. *Fusarium species: An illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State University Press, University Park, USA.
- Nene Y.L., Reddy M.V., 1987. Chickpea diseases and their control. In: *The Chickpea*. (Saxena M.C., Singh K.B., ed.). Oxon, UK. CAB-International, 233–270.
- Nene Y.L., Reddy M.V., Haware M.P., Ghanekar A.M., Amin K.S., ... Sharma M., 2012. *Field Diagnosis of Chickpea Diseases and their Control*. Information Bulletin No. 28 (revised). International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 60 pp.
- Parry D.W., Jenkinson P., McLeod L., 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02773.x>
- Ramirez-Suero M., Khanshour A., Martinez Y., Rickauer M., 2010. A study on the susceptibility of the model legume plant *Medicago truncatula* to the soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum*. *European Journal Plant Pathology* 126: 517–530. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9560-x>
- Rossi V., Ravanetti A., Patteri E., Giosuè S., 2001. Influence of temperature and humidity on the infection of wheat spikes by some fungi causing *Fusarium* head blight. *Journal of Plant Pathology* 83: 189–198. <https://doi.org/10.4454/JPPV83I3.1128>
- Sanger F., Nicklen S., Coulson AR, 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings*

- National Academy Sciences USA 74 (12): 5463–7. Bib code: 1977PNAS...74.5463S. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>. PMC 431765. PMID 271968
- Siddique K.H.M., Brinsmead R.B., Knight R., Knights E.J., Paull J.G., Rose I.A., 2000. Adaptation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) to Australia. In R. Knight (Ed.), *Linking Research and Marketing Opportunities for Pulses in the 21st Century* (289–303). Dordrecht: Kluwe Academic Publishers. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4385-1_26
- Sneath P.H.A. and Sokal R.R. 1973. *Numerical Taxonomy*. Freeman, San Francisco. 600 pp.
- Taheri A.E., 2011. First report of *Fusarium redolens* from Saskatchewan and its comparative pathogenicity. *Canadian Journal Plant Pathology* 33: 559. <https://doi.org/10.1080/07060661.2011.620631>
- Tamura K., Nei M., Kumar S., 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101: 11030–11035.
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- Tekeoğlu M., Özkılınç H., Tunali B., Kusmenoğlu İ., Chen W., 2017. Molecular identification of *Fusarium* spp. causing wilt of chickpea and the first report of *Fusarium redolens* in Turkey *Mediterranean Agricultural Sciences* 30 (1): 27–33. <https://doi.org/10.22268/AJPP-39.4.231240>
- Tlemsani M., Bellahcene M., Fortas Z., 2015. Behavior study of chickpeas varieties (*Cicer arietinum* L.) against *Fusarium* wilt. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*.
- Zaim S., 2016. *Essai de lutte biologique contre le Fusarium oxysporum f. sp. ciceris à l'aide des microorganismes de la rhizosphère de la culture du pois chiche*. PhD Thesis, University of Mascara, Mascara, Algeria, 220 pp.
- Zaim S., Bekkar A.A., 2022. First report of *Fusarium redolens* causing *Fusarium* yellows on chickpea in Algeria. *Journal of Plant Pathology* 104(2). <https://doi.org/10.1007/s42161-022-01044-y>
- Zhuang W.Y., Guo L., Guo S.Y., Guo Y.L., Mao X.L., ... Zhang X.Q., 2005. *Fungi of Northwestern China*. Ithaca (NY): Mycotaxon, 430 pp.

2. Lutte biologique contre
Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris
par *Trichoderma* spp.

2.1. Matériels et Méthodes

2.1.1. Zone d'échantillonnage

Des échantillons de sol ont été collectés dans trois régions agricoles emblématiques de la culture du pois chiche à l'est de l'Algérie, à savoir Skikda, Sétif et El Tarf. Les sites de prélèvement du sol étaient cultivés en pois chiche l'année précédant l'échantillonnage (Figure 36 ; Tableau 18).

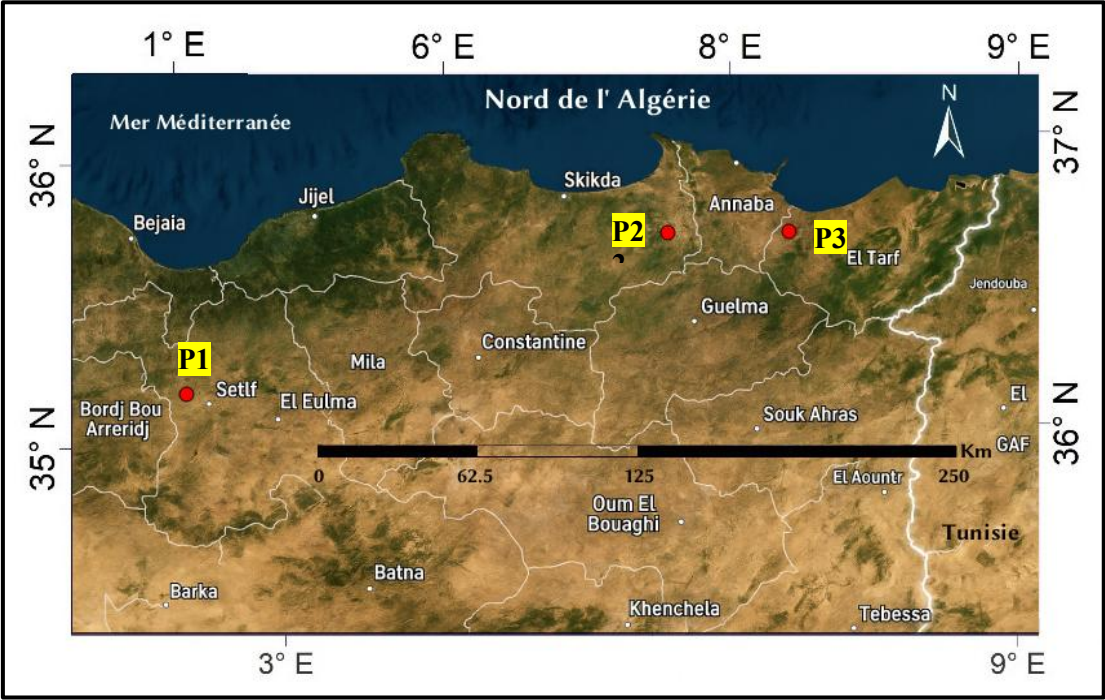


Figure 36 : Sites d'échantillonnage du sol pour l'isolement de *Trichoderma* (Originale, 2025). P1, P2 et P3 : Sites de prélèvement des échantillons de sol.

Tableau 18 : Sites d'échantillonnage du sol pour l'isolement de *Trichoderma* spp.

Région	Site de prélèvement	Code	Coordonnées géographiques	Date d'échantillonnage
Sétif	Aïn Arnat	P1	36°12'28.4" N ; 5°16'56.7" E	Octobre 2024
Skikda	Azzaba	P2	36°44'31.2" N ; 7°09'01.8" E	Octobre 2024
El Tarf	Besbbès	P3	36°46'25.1" N ; 7°48'30.7" E	Octobre 2024

Ces sites ont été choisis pour leur importance agricole et la diversité de leurs

conditions pédoclimatiques :

- La commune de Ben Azzouz, (wilaya de Skikda) au nord-est de l'Algérie, présente un climat méditerranéen à été chaud (type Csa) avec des hivers doux et arrosés et des étés chauds et secs, conforme au régime littoral méditerranéen de la région de Skikda et propice à une forte activité biologique des sols en période humide et tempérée (Climate-Data.org, 2023).

Les sols agricoles de la région, sont principalement de texture argilo-limoneuse à argileuse, affichant un pH neutre à légèrement alcalin (6,8–8), une forte capacité de rétention d'eau ainsi que des teneurs élevées en matière organique, des caractéristiques qui favorisent la prolifération de microorganismes telluriques (Zaidi et *al.*, 2021 ; Bourouh et *al.*, 2023).

- La commune de Aïn Arnat (wilaya de Sétif) se situe sur les Hautes Plaines orientales, un plateau intérieur à ~900 m d'altitude dominé par des sols à forte teneur en carbonates, à réaction alcaline, et des textures fines à moyennes (argilo-limoneuses), ce qui correspond à la caractérisation annoncée pour ce secteur agro-pastoral des hautes plaines (Zemouri et *al.*, 2025). Le climat y est tempéré et relativement humide en hiver, avec des étés chauds et secs. La température moyenne annuelle est de 13,8 °C, tandis que la pluviométrie moyenne annuelle atteint environ 548 mm, concentrée principalement entre novembre et avril (Climate-Data.org, 2024).
- La commune de Besbassa (wilaya d'El Tarf) : Elle présente un climat méditerranéen humide/sub-humide, avec hivers pluvieux et étés chauds, et possède des sols contrastés : limoneux à limono-argileux en terres agricoles, à pH globalement neutre à légèrement alcalin, riches en matière organique favorables à une diversité microbienne élevée (Kherifi, 2017).

2.1.2. Méthode de prélèvement et de traitement des échantillons de sol

Des prélèvements de sol ont été effectués par carottage, à 10–20 cm de profondeur au sein de parcelles laissées en jachère nue suite à une culture de pois chiche la saison antérieure, selon le protocole décrit par Davet et Rouxel (1997).

Pour chaque site d'étude, cinq échantillons composites ont été constitués, chacun résultant de l'agrégation de trois sous-échantillons destinés à assurer la représentativité spatiale du prélèvement.

Les sols ont été conditionnés dans des sachets stériles immédiatement après prélèvement. Ils sont transportés au laboratoire où ils sont séchés pendant 48 h à température ambiante (22–25 °C) avant tamisage à 2 mm et conservation à 4 °C jusqu'à l'analyse (Figure 37) (Carter & Gregorich, 2007).



Figure 37 : Opération de tamisage et sol obtenu (Originale, 2025).

2.1.3. Isolement des *Trichoderma*

2.1.3.1. Préparation des suspensions dilutions et ensemencement des milieux

Diverses formulations de milieux de culture (Annexe 1) peuvent être employées pour l'isolement de *Trichoderma*. Les milieux sont stérilisés par autoclavage pendant 15 minutes à 121 °C, 15 psi, puis refroidis à 50 °C avant d'être versés en boîtes de Pétri.

Le coulage des boîtes et l'ensemble des manipulations subséquentes sont réalisés dans des conditions d'asepsie, après désinfection de la zone de travail à l'éthanol 70%, afin de prévenir toute contamination microbienne.

Pour l'isolement des *Trichoderma* nous avons utilisé la méthode de Mistry et Bariya (2022) :

1. Mettre 1 g de sol dans 9 mL d'eau distillée stérile contenue dans un Erlenmeyer.
2. Agiter doucement pendant 5–10 minutes.
3. Réaliser les dilutions décimales en série :
 - À partir de la suspension 10^{-1} , préparer successivement les dilutions 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} en utilisant de l'eau distillée stérile.
4. Inoculer 100 μ L de chaque dilution dans une boîte de Petri stérile contenant un milieu gélosé PDA ou RBA (Annexe 1). Pour inhiber le

développement de bactéries, la streptomycine (50 mg/L) et le chloramphénicol (50 mg/L) sont incorporés au milieu après stérilisation et refroidissement à environ 50 °C.

5. Étaler l'inoculum à l'aide d'un étaloir en verre stérile.
6. Incuber toutes les boîtes en étuve à 28 ± 1 °C, pendant 5–7 jours.
7. Transférer les colonies de *Trichoderma* sur des boîtes de PDA fraîches afin d'obtenir une culture pure (Figure 38).

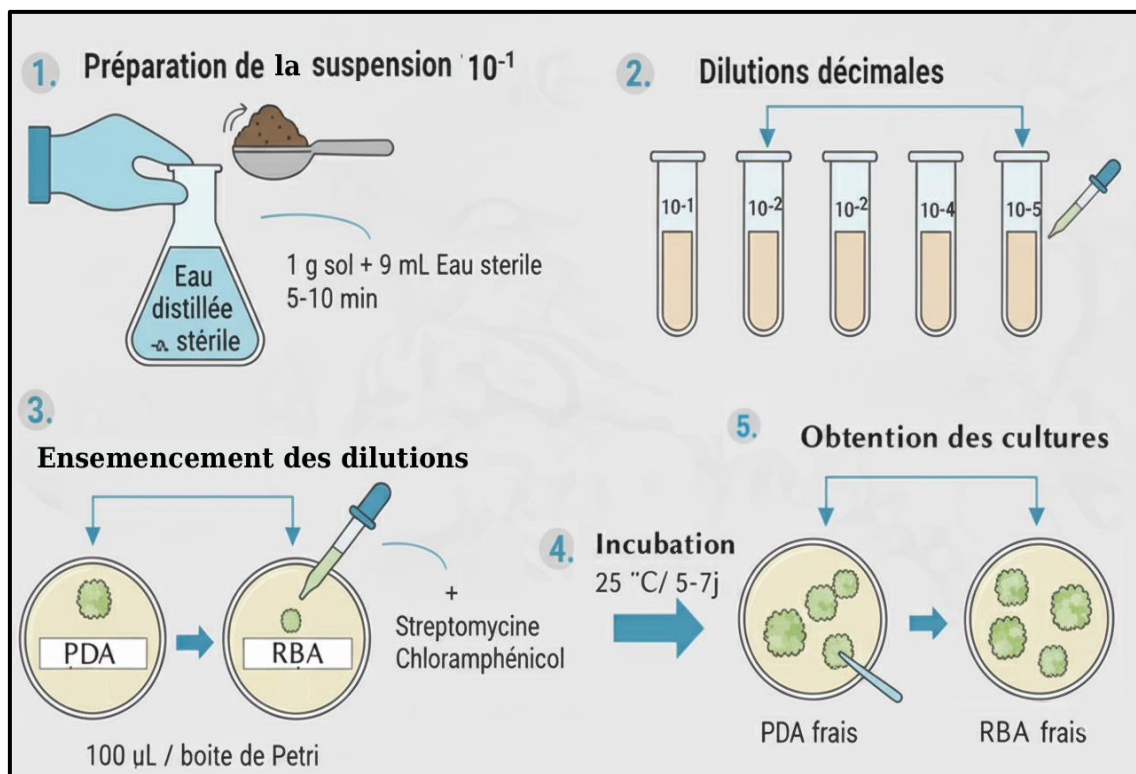


Figure 38 : Protocole d'isolement des *Trichoderma* sur milieu PDA et RBA (Originale, 2025).

Pour chaque dilution de sol, trois boîtes de milieu RBA et trois boîtes de milieu PDA ont été ensemencées. Seules les boîtes présentant un nombre de colonies compris entre 30 et 300 unités formant colonie (UFC) par boîte ont été retenues (Cappuccino & Sherman, 2014). Chaque échantillon a été traité en duplicat.

Lorsque le dénombrement excédait 300 UFC par boîte, une dilution plus élevée (dilution supplémentaire) a été utilisée afin d'obtenir une plage de comptage valide.

Les colonies sélectionnées sont repiquées de manière aseptique sur PDA en prélevant un explant mycélien en périphérie de colonie.

2.1.3.2. Purification des isolats et obtention des cultures monospores

Les colonies de *Trichoderma* ont été cultivées pendant sept jours sur un milieu PDA. Dans chaque boîte de Pétri contenant une colonie, 20 ml d'eau distillée stérile sont ajoutés. À l'aide d'une lame de bistouri stérile, la surface de la colonie est grattée délicatement afin de libérer les conidies.

La suspension conidienne obtenue est filtrée à travers une mousseline, puis ajustée à une concentration de 10^2 spores/ml à l'aide d'une cellule de Malassez. À partir de cette suspension, un volume de 100 μ l est prélevé et étalé sur une nouvelle boîte de Pétri contenant un milieu PDA solidifié à 1,5 % d'agar-agar.

Les boîtes sont incubées à 25 °C pendant 12 à 18 heures. Les conidies germées sont repérées sous loupe binoculaire, prélevées aseptiquement et transférées individuellement sur une nouvelle boîte de Pétri contenant le même milieu. Après une semaine d'incubation, les cultures monospores sont conservées à 4 °C.

2.1.3.3. Conservation des isolats de *Trichoderma*

La méthode consiste à ensemercer le champignon dans les boîtes de Pétri contenant des disques de papier filtre Whatman n°1 imbibé d'une solution nutritive pauvre (Annexe 1), et à incuber les boîtes à 25°C pendant 7 jours. Après le développement du champignon, les boîtes sont disposées dans une étuve réglée à 30°C pendant une semaine pour permettre le séchage des papiers filtre. Ces derniers sont introduits dans des petits tubes Eppendorf stériles qui sont alors hermétiquement fermés et conservés dans une armoire à température ambiante de laboratoire.

Cette méthode de conservation du champignon assure à l'espèce une longévité de plusieurs années (Belabid, 2003).

2.1.4. Identification de *Trichoderma* spp.

2.1.4.1. Identification morphologique

2.1.4.1.1. Caractères microscopiques

L'étude microscopique et la coloration des hyphes est faite conformément à la méthode utilisée par Mistry et Bariya (2022).

Une lame en verre est préparée selon la procédure de coloration au lactophénol bleu coton (Annexe 3), laquelle est observée au microscope à l'objectif $\times 40$.

Les champignons du genre *Trichoderma* présentent des conidiophores ramifiés formant des faisceaux. Les ramifications sont larges et rectilignes ou flexueuses. Les

conidies de *Trichoderma* possèdent des pigments de couleur blanche ou vert vif en apparence (Harman et *al.*, 2004).

2.1.4.1.2. Morphologie générale de *Trichoderma* spp. sur milieu de culture PDA

La croissance des colonies isolées de *Trichoderma* est évaluée après 5 jours d'incubation à 28 ± 2 °C en obscurité. Selon Mistry et Bariya (2022), la croissance des colonies de *Trichoderma* est généralement observée au bout de 5 jours à 28 °C dans l'obscurité avec un à deux anneaux concentriques près de la zone d'inoculum avec une production de conidies très dense.

L'aspect macroscopique est décrit : tels que la teinte de la colonie et son revers sur la boîte de Pétri. L'absence de diffusion de couleur ou de pigments sur l'ensemble de la boîte PDA est ensuite vérifiée.

L'absence d'odeur sucrée de noix de coco et l'absence de mycélium aérien sont confirmées (Mistry et Bariya, 2022).

2.1.5. Etude *in vitro* du pouvoir antagoniste de *Trichoderma* vis-à-vis de *FOC*

2.1.5.1. Matériels

2.1.5.1.1. Matériel fongique

2.1.5.1.1.1. Isolat de *FOC*

Sélectionnée pour sa forte virulence vis-à-vis du pois chiche, la souche FOC 3 a été caractérisée par RAPD ce qui a donné lieu à sa classification dans la race 6. Elle appartient au pathotype de flétrissement (Cunnington et *al.*, 2016).

Elle est utilisée dans l'étude *in vitro* du pouvoir antagoniste de *Trichoderma* spp.

2.1.5.1.1.2. *Trichoderma* spp.

Parmi les onze isolats de *Trichoderma* obtenus à partir des sols, un isolat représentatif de chaque morphotype a été sélectionné pour l'évaluation de son pouvoir antagoniste vis-à-vis de *FOC*. Ainsi, huit morphotypes ont été sélectionnés.

2.1.5.2. Test d'antagonisme *in vitro*

2.1.5.2.2. Test de mycoparasitisme

Deux disques mycéliens de 6 mm de diamètre sont prélevés à la périphérie de colonies âgées de 7 jours de l'antagoniste et du pathogène. Ils sont disposés à 5 cm l'un de l'autre sur des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant un milieu de culture.

Le témoin consiste à placer en boîte de Pétri exclusivement l'explant mycélien du pathogène (Figure 39).

Nous avons utilisé un dispositif expérimental randomisé, constitué de 6 répétitions par antagoniste. Les boîtes de confrontation et les boîtes témoins sont incubées à 25°C pendant 7 jours, en obscurité.

2.1.5.2.2.1. Évaluation de l'inhibition de la croissance mycélienne du parasite

Le rayon de la colonie du pathogène (*FOC*), orienté vers l'antagoniste (*Trichoderma* spp), a été mesuré après 7 jours d'incubation, selon la méthode décrite par Leach (1962) qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale de la colonie en utilisant la formule suivante :

$$L = \frac{D - d}{2}$$

L : Croissance mycélienne du pathogène

D : Diamètre de la colonie du pathogène

d : Diamètre de l'explant initial.

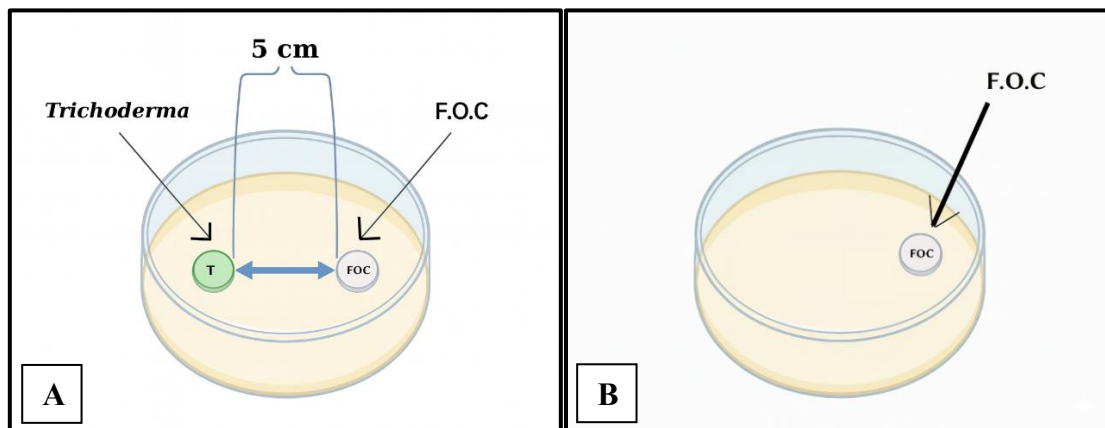


Figure 39 : Confrontation directe entre l'agent pathogène F.O.C et *Trichoderma* sp. sur milieu PDA. T : *Trichoderma* ; FOC : *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Originale, 2025). **A** : (FOC) en confrontation avec *Trichoderma* ; **B** : Témoin, FOC cultivé seul, sans *Trichoderma*.

Le taux d'inhibition de la croissance mycélienne (MGI) est calculé selon l'équation de Ruiz-Gómez et Miguel-Rojas (2021) :

$$\text{MGI (\%)} = (C-T) / C \times 100$$

MGI : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne,

C : Rayon de croissance du pathogène lorsqu'il est seul, et

T : Rayon de croissance du pathogène lorsqu'il est co-cultivé avec l'antagoniste.

Les niveaux d'antagonisme sont classés comme suit : faible, $\text{MGI} \leq 50 \%$; moyen, $50\% < \text{MGI} \leq 60 \%$; élevé, $60\% < \text{MGI} \leq 75 \%$; très élevé, $\text{MGI} > 75 \%$ (Ruiz-Gómez & Miguel-Rojas, 2021).

À la suite de ce test, les isolats ayant révélé un taux d'antagonisme élevé ou très élevé ($\text{MGI} > 60\%$) sont retenus pour l'étude de leur pouvoir antagoniste *in vivo*.

2.1.5.2.2.2. Evaluation du mycoparasitisme

L'évaluation du mycoparasitisme a été réalisée selon l'échelle de notation décrit par Elias et al. (1993), qui classe l'interaction entre *Trichoderma* et *FOC* en fonction de la prolifération mycélienne et de la sporulation de L'antagoniste sur la colonie du pathogène L'activité antagoniste de chaque isolat de *Trichoderma* est classée dans l'une des quatre catégories, à partir d'une échelle visuelle à 5 classes (Tableau 19).

Tableau 19 : Echelle d'évaluation du mycoparasitisme (Elías et al., 1993).

Indice de maladie	Degré d'invasion du pathogène
0	Aucune invasion
1	Invasion d'un quart de la surface de la colonie du pathogène
2	Invasion de la moitié de la surface
3	Invasion totale
4	Invasion totale accompagnée de sporulation

Les isolats présentant un niveau 4 sur l'échelle visuelle de Elias et al. (1993) sont retenus pour les essais *in vivo*, ce phénotype traduisant le plus haut potentiel du mycoparasitisme et la meilleure aptitude de recouvrement du pathogène (Ruiz-Gómez &

Miguel-Rojas, 2021).

2.1.5.2.2.2.1. Microscopie des interactions mycoparasitaires entre *Trichoderma* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

Des observations microscopiques sont réalisées au niveau de la zone d'interaction des cultures duales *Trichoderma*–*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (*FOC*) puis synchronisées avec les mesures de MGI, garantissant la comparabilité phénotypes–inhibition mycélienne (Olowe et al., 2022).

Ainsi, des fragments d'interface sont délicatement prélevés à l'aide d'une aiguille stérile et déposés entre lame et lamelle, dans une goutte de solution de bleu coton lactophénolé (Dennis & Webster, 1971a, b ; Howell, 2003).

Les observations sont effectuées au microscope optique Nikon Eclipse 50i, grossissement x40, afin de caractériser les marqueurs de mycoparasitisme : enroulement des hyphes de *Trichoderma* autour de celles de *FOC*, formation de boucles d'anastomose, contact hyphal intime et lyse ou collapse des hyphes du pathogène (Elad et al., 1983 ; Benítez et al., 2004 ; Zeilinger et al., 2016).

Pour chaque confrontation, au moins trois champs distincts sont analysés le long du front d'interaction. La présence des structures caractéristiques (enroulements, boucles) est notée de manière semi-quantitative (présence/absence) (Howell, 2003 ; Harman et al., 2004).

Des observations complémentaires au grossissement x100 sont effectuées pour confirmer les interactions hyphales fines ; à défaut, les mêmes critères sont validés à x40 avec un contraste renforcé.

2.1.6. Etude *in vivo* du pouvoir antagoniste de *Trichoderma* spp. contre *FOC*

2.1.6.1. Matériels

2.1.6.1.1 Pathogène

La souche *FOC3*, race 6, isolée d'un champ de pois chiche à Constantine, est algérien, lors de la campagne 2021-2022 a été retenue pour le test d'antagonisme *in vivo*. Identifié par analyse morphologique, test de pathogénicité sur plante de pois chiche lignée ILC-482 et séquençage du gène EF1- α (GenBank : PQ899231). Cette race hautement virulente est prévalente dans les zones de production de l'Est algérien et est responsable de pertes de rendements significatives allant jusqu'à 30 %.

2.1.6.1.2 *Trichoderma* spp.

Les isolats de *Trichoderma* notés indice 4 selon l'échelle de mycoparasitisme d'Elías et *al.* (1993) lors des confrontations *in vitro* ont été retenus pour les test antagonistes *in vivo*. Cet indice correspond à une invasion significative de la colonie de FOC avec sporulation abondante de *Trichoderma* sur celle-ci

2.1.6.1.3. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la variété de pois chiche ILC-3279. Elle appartient à la collection de l'ICARDA et est largement cultivée en Algérie pour son potentiel productif, son adaptation aux conditions locales, sa résistance à certaines races d'*Ascochyta rabiei* et son adaptation aux conditions locales. Elle est sensible à la fusariose vasculaire (Debbi, 2009).

2.1.6.2. Méthodes

2.1.6.2.1. Préparation des semences de pois chiche

Les semences de pois chiche ont été obtenues auprès de l'Institut technique des grandes cultures (ITGC). Elles sont désinfectées en surface à l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 10 min, puis rincées trois fois à l'eau distillée stérile avant d'être mises à prégermer pendant 72 h entre deux couches de coton imbibé d'eau distillée stérile, afin d'obtenir des plantules homogènes (ISTA, 2015).

2.1.6.2.2. Préparation du sol

Les pots (Ø 20 cm x h 18 cm) sont désinfectés à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (1 %) pendant 5 minutes, puis rincés abondamment à l'eau distillée stérile.

Ils sont remplis d'un substrat constitué d'un mélange de sable et de tourbe dans les proportions de 1/3 et 2/3 (v/v). Ce mélange a été préalablement stérilisé à l'autoclave à 121 °C, sous une pression de 1 bar pendant 20 minutes.

2.1.6.2.3. Semis des graines

Les graines de pois chiche prégermées sont semées à raison de quatre graines par pot ; l'irrigation est réalisée un jour sur deux pour maintenir l'humidité du substrat à 60% de sa capacité au champ, et les pots sont conservés en serre vitrée à 25 ± 2 °C le jour et

18 ± 2 °C la nuit.

2.1.6.2.4. Préparation de l'inoculum de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

L'inoculum de *FOC* est préparé selon la méthode décrite par Trapero-Casas et Jiménez-Díaz (1985). Les boîtes de Pétri contenant la culture du pathogène âgée de dix jours ont été inondées avec 10 mL d'eau distillée stérile. Les suspensions obtenues ont été filtrées à travers une double couche de mousseline pour éliminer les résidus de gélose et les fragments mycéliens, puis ajustées à 10⁶ conidies mL⁻¹ à l'aide d'une cellule de Malassez.

2.1.6.2.5. Préparation de l'inoculum de *Trichoderma* spp.

L'inoculum de chaque isolat de *Trichoderma* est préparé suivant le protocole utilisé pour *FOC*. Les boîtes de Pétri contenant la culture de *Trichoderma* âgée de dix jours sont inondées avec 10 ml d'eau distillée stérile. Les suspensions obtenues sont filtrées à travers une double couche de mousseline, puis ajustée à 10⁶ conidies mL⁻¹ à l'aide d'une cellule de Malassez.

2.1.6.2.6. Inoculation des plantules

L'inoculation des plantules a été réalisée 8 jours après le semis. Celle-ci sont d'abord soigneusement retirées des pots, leurs racines sont lavées à l'eau distillée stérile, afin d'éliminer les particules du substrat, puis immergées pendant 30 minutes dans la suspension conidienne (10⁶ spores/ml) correspondant à chaque modalité. Après ce traitement, les plantules sont remises dans leur substrat d'origine (terreau et sable). Les plantules sont réparties selon les lots correspondant aux modalités suivantes :

- Lot 1: FOC3 seul,
- Lot 2: Co-inoculation FOC3 avec *Trichoderma* (T1, T5, T13 ou T16).
- Lot 3: Témoin traité à l'eau distillée stérile.

2.1.6.3.7. Dispositif expérimental

L'essai est conduit selon un dispositif en blocs aléatoires randomisés avec sept répétitions ; chaque pot constitue une unité expérimentale contenant quatre plantules de pois chiche.

2.1.6.3.8. Notation de la maladie

La fusariose vasculaire du pois chiche se manifeste sur les plantes par divers troubles physiologiques et métaboliques se traduisant morphologiquement par un jaunissement progressif des folioles, un flétrissement foliaire et un dépérissement général de la plante. Les symptômes sont notés dès leur apparition, puis toutes les 48 h, grâce à une échelle de 0 à 4 fondée sur le pourcentage de tissus foliaires atteints (Jiménez-Díaz et *al.*, 1989b ; 1993a ; Jiménez-Gasco et *al.*, 2004b ; Landa et *al.*, 2004) (Tableau 20).

Tableau 20 : Echelle d'évaluation de la sévérité de la maladie (Landa et *al.*, 2004).

Indice de la maladie	Gravité des symptômes
0	Plante saine, sans symptômes visibles
1	Jaunissement léger des feuilles inférieures
2	Jaunissement modéré accompagné d'un léger flétrissement
3	Jaunissement sévère, flétrissement marqué
4	Plante complètement desséchée ou morte

2.1.7. Mesure des activités enzymatiques des antagonistes et du parasite

2.1.7.1. Production d'acide indole-3-acétique (AIA)

2.1.7.1.1. Production et quantification de l'acide indole-3-acétique (AIA)

F. oxysporum f. sp. *ciceris* (FOC 3) et *Trichoderma* sp. (T5, T1, T16, T13) sont cultivés sur milieu PDA solide pour une croissance mycélienne optimale, d'après une procédure adaptée de Patten et Glick (2002).

A partir de chaque colonie, six disques mycéliens ($\varnothing$ 6 mm) sont transférés dans un Erlenmeyer contenant 100 ml de milieu liquide PDB (Annexe 1) supplémenté de 1 ml de tryptophane, utilisé comme précurseur essentiel dans l'induction de la biosynthèse de l'acide indole-3-acétique (AIA), et préalablement stérilisé par filtration à travers une membrane PES de 0,22 μ m.

En co-culture, trois disques issus de *Trichoderma* (T1, T5, T13 ou T16) et trois de FOC 3 sont inoculés ensemble dans le même volume de PDB enrichi en tryptophane.

Les cultures sont déposées sur agitateur orbital à 180 rpm et à 28 °C pendant 7 jours. En fin d'incubation, les surnageants sont récupérés, transférés dans des tubes de 15 mL et centrifugés à 6000 rpm pendant 40 min pour éliminer les résidus mycéliens ; le

surnageant clarifié est utilisé pour la quantification de l'AIA.

2.1.7.1.2 Dosage colorimétrique

Le réactif de Salkowski forme un complexe coloré rose-orangé avec les composés indoliques, permettant une estimation spectrophotométrique de l'acide indole-3-acétique (AIA) à 530 nm par comparaison à une courbe étalon d'AIA.

La détermination de la concentration en AIA a été effectuée selon la méthode colorimétrique de Salkowski (Annexe 2), laquelle est couramment utilisée pour la détection des auxines (Brick et *al.*, 1991 ; Goswami et *al.*, 2013). Pour chaque mesure, 1ml de surnageant est mélangé avec 1 ml de réactif de Salkowski (Gordon et Weber, 1951). Ce mélange est incubé à température ambiante, pendant 30 minutes en obscurité (Figure 40).

L'absorbance de la solution est lue à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible (Jenway 6715). Une courbe étalon établie à partir de concentrations connues d'AIA permet de quantifier précisément la production de cette phytohormone par les différents isolats fongiques (Annexe 2).

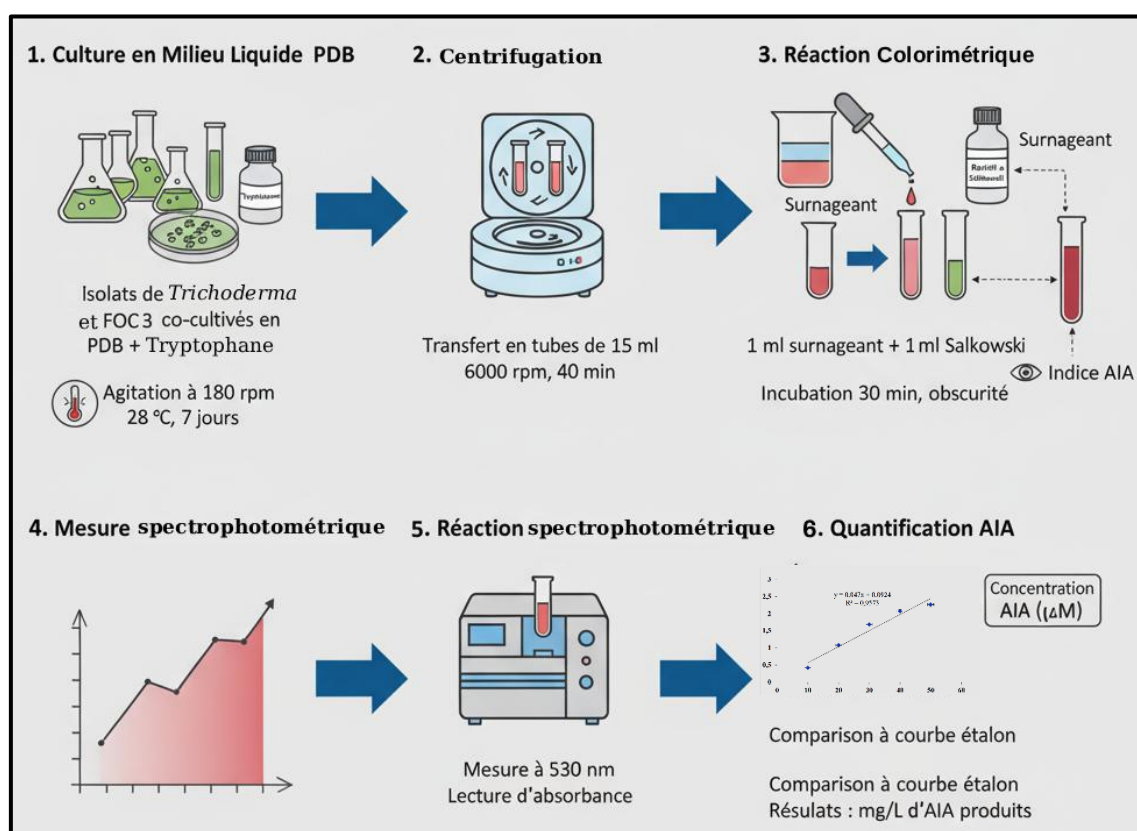


Figure 40 : Protocole de production d'acide indole-3-acétique (Originale, 2025)

2.1.7.2. Activité enzymatique des *Trichoderma*

2.1.7.2.1 Criblage de l'activité cellulasique

L'évaluation de l'activité cellulasique se base sur la formation d'un halo de clarification autour des colonies fongiques cultivées sur un milieu CMC (carboxyméthylcellulose-agar).

Les isolats de *Trichoderma* à indice de mycoparasitisme égal à 4 sont cultivés sur milieu PDA et incubées à 28 °C durant quatre jours. Un explant mycélien (ø 6 mm) est alors prélevé à partir de chaque isolat de *Trichoderma*, lequel est transféré sur un milieu gélosé spécifique contenant 1 % de carboxyméthylcellulose (Annexe 1), conformément à la méthode décrite par Murti et *al.* (2018). Les boîtes sont incubées à 28 °C pendant trois jours (Figure 41). Pour chaque isolat de *Trichoderma* nous avons réalisé 4 répétitions.

L'apparition d'un halo clair autour des colonies est révélée par coloration au rouge Congo à 1 % (Annexe 3) durant 30 minutes, suivie d'une décoloration à l'aide d'une solution de NaCl 1 M (Annexe 3) durant 20 minutes.

La présence d'un halo de clarification indique la dégradation de la carboxyméthylcellulose par les cellulases produites (Septiani et *al.*, 2019).

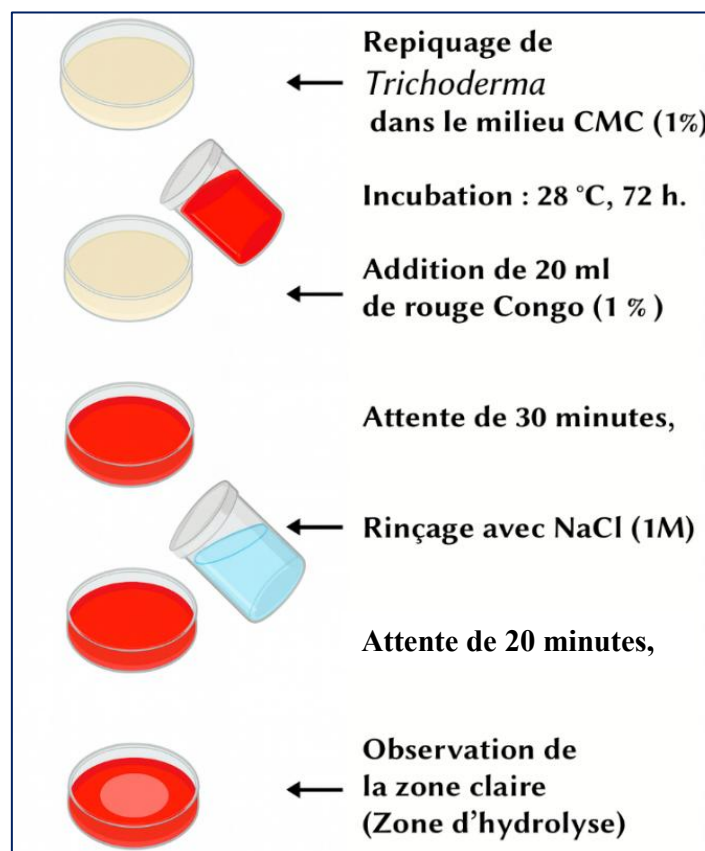


Figure 41 : Étapes de détection de l'activité cellulasique de *Trichoderma* sur CMC-agar à l'aide du test rouge congo (Original, 2025).

2.1.7.2.2. Evaluation de l'intensité de l'activité enzymatique

L'intensité de l'activité enzymatique est mesurée par le calcul du rapport entre le diamètre du halo clair et celui de la colonie (cm), selon la formule de Khokhar et *al.* (2012) :

$$IH = \frac{D_{\text{zone claire}}}{D_{\text{zone colonie}}} :$$

Où $D = \sqrt{L \times l}$ (colonie ovale), avec :

- L : longueur de la zone (ou de la colonie),
- l : largeur de la zone (ou de la colonie).

Ainsi, la formule complète de l'indice d'hydrolyse est :

$$IH = \frac{\sqrt{L_{\text{zone claire}} \times l_{\text{zone claire}}}}{\sqrt{L_{\text{zone colonie}} \times l_{\text{zone colonie}}}}$$

2.1.8. Évaluation du potentiel des *Trichoderma* à stimuler la croissance des plantes

L'objectif de cette étude consiste à évaluer l'efficacité des isolats de *Trichoderma* (T5, T1, T16, T13) sur la stimulation de la croissance et l'amélioration des paramètres biochimiques du pois chiche.

2.1.8.1. Semis des graines

Les graines de pois chiche sont mises à prégermer selon le protocole décrit dans la section 2.1.6.2.3. Elles sont semées, à raison de quatre graines par pot ($\varnothing$ 20 cm x h 18 cm) dans un substrat constitué d'un mélange de sable stérile et de tourbe (1/3 : 2/3, v/v), stérilisé préalablement à l'autoclave (121 °C, 1 bar, 20 min).

2.1.8.2. Inoculation et conditions de culture des plantules

L'inoculation du pois chiche avec *Trichoderma* est réalisée lorsque les plantules possèdent 5 feuilles, soit dix jours après le semis, et lorsque les plantules présentent un système racinaire suffisamment développé. A l'aide d'une micropipette, 2 mL d'une suspension conidienne titrée à 1×10^6 spores $\cdot$ mL⁻¹ est apporté au niveau de la racine de chaque plantule (Rubio et *al.*, 2014) (Figure 42). Les plantules

témoins sont traitées de la même façon mais juste avec 2 ml d'eau distillée stérile, sans inoculum. Cette technique vise à favoriser un contact étroit entre les conidies et la racines afin d'assurer une colonisation efficace de la rhizosphère.

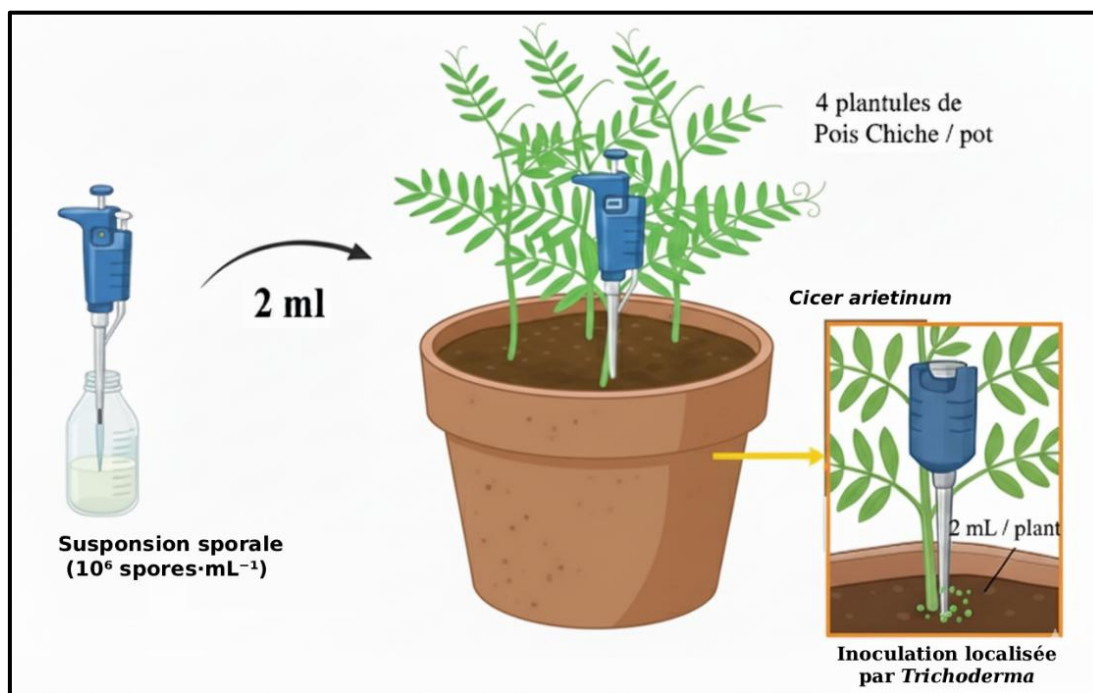


Figure 42 : Méthode d'inoculation des racines de pois chiche par *Trichoderma* (1×10^6 spores /mL) (Originale, 2025)

Durant la période du mois de Mars 2025, les pots ont été maintenus en serre sous des conditions de température moyenne de 25 ± 2 °C le jour et 18 ± 2 °C. L'arrosage est assuré régulièrement pour maintenir l'humidité du substrat à 60% de sa capacité au champ.

2.1.8.3. Dispositif expérimental

L'essai est conduit selon un dispositif en blocs, randomisés comprenant sept répétitions, Chacune est constituée d'un pot contenant quatre plantules de pois chiche. Cinq modalités de traitement sont étudiées :

- **T₀** : Témoin non traité, plantules non inoculées,
- **T₁** : Plantules inoculées avec l'isolat T1,
- **T₅** : Plantules inoculées avec l'isolat T5,
- **T₁₃** : Plantules inoculées avec l'isolat T13,
- **T₁₆** : Plantules inoculées avec l'isolat T16.

2.1.8.4. Évaluation des paramètres biochimiques à l'aide du DUALEX®

2.1.8.4.1. Principe de l'appareil DUALEX®

Le principe de l'appareil DUALEX® repose sur la spectrophotométrie à double excitation : une lumière ultraviolette (UV) excite les flavonoïdes de l'épiderme foliaire, tandis qu'une lumière rouge et proche infrarouge mesure la fluorescence chlorophyllienne, indicatrice de la teneur en chlorophylle. La comparaison des signaux obtenus permet de déterminer les concentrations relatives des pigments foliaires afin déduire l'état nutritionnel et biochimique de la plante.

Le DUALEX® fournit simultanément plusieurs indices : la teneur en chlorophylle (Chl), la teneur en flavonoïdes (Flav) et l'indice de balance azotée (NBI, Nitrogen Balance Index), correspondant au rapport Chl/Flav. Ces paramètres permettent d'évaluer la vigueur biochimique et la réponse au stress des plantes soumises aux différents traitements (figure 43).



Figure 43 : Dispositif DUALEX® permettant la mesure des paramètres biochimiques des plantes.

2.1.8.4.2. Mesure des paramètres biochimiques des plantules inoculées avec *Trichoderma* spp.

Les mesures des paramètres biochimiques sont effectuées sur le limbe foliaire, en notant sur chaque cinétique temporelle la même foliole unique de chaque plantule inoculée avec *Trichoderma*, afin de suivre dans le temps l'évolution des paramètres biochimiques (Figure 44). Les notations concernent la foliole sommitale de la cinquième feuille. Les indices relatifs à la teneur en chlorophylle (Chl), la teneur en flavonoïdes (Flav) et l'indice de balance azotée (NBI, Nitrogen Balance Index), correspondant au rapport Chl/Flav sont relevés hebdomadairement, soit à 7, 14, 21 et 28 jours après l'inoculation.



Figure 44 : Méthode de notation des indices biochimiques à l'aide d'un capteur optique « DUALEX® » (Originale, 2025).

2.1.9. Analyse statistique

L'ensemble des données expérimentales est soumis à une analyse statistique visant à évaluer l'effet des différents traitements étudiés. Toutes les analyses de variance reposent sur un modèle à un facteur (ANOVA à un critère de classification). Les prérequis d'application de l'ANOVA ont été systématiquement vérifiés : normalité des résidus par le test de Shapiro–Wilk et homogénéité des variances par le test de Levene (Zar, 2010 ; McDonald, 2014).

Lorsque l'ANOVA révélait une différence significative entre les traitements ($p < 0,05$), une comparaison multiple des moyennes a été réalisée à l'aide du test de Tukey DHS (Différence Hautement Significative), permettant de regrouper les traitements en classes statistiquement homogènes. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type et annotés par des lettres de comparaison statistique.

2.1.10. Identification moléculaire de *Trichoderma* spp.

Le gène de l'élongation factor 1-alpha (EF-1 α) est utilisé par de nombreux chercheurs pour la discrimination interspécifique au sein du genre *Trichoderma* (Druzhinina et al., 2005 ; Jaklitsch & Voglmayr, 2015).

Ainsi, en raison de leurs performances antagonistes, les isolats T13 et T16 ont fait l'objet d'une analyse moléculaire basée sur l'amplification et le séquençage du gène EF-1 α .

2.1.10.1. Extraction de l'ADN génomique

Des Erlenmeyers contenant 250 ml de milieu liquide PDB sont ensemencées à l'aide de 8 rondelles de mycélium issues de cultures de 7 jours des isolats T13 et T16. Les cultures sont incubées sous agitation orbitale (150 rpm), pendant 72 heures à 25°C, afin d'obtenir une biomasse mycélienne abondante. Le mycélium récolté est ensuite filtré à travers une mousseline, rincé avec de l'eau distillée stérile. L'extraction de l'ADN est réalisée à l'aide du kit Funji DNA WiraSpin® selon les instructions du fabricant.

Le prétraitement des échantillons consiste à ajouter dans un tube Eppendorf 200 μ L de Tampon de liaison (BB7) à 50-100 mg de mycélium, auxquels sont ensuite incorporés 100 mg de billes et 20 μ L de RNase. L'ensemble est vortexé pendant 30 minutes afin d'assurer une homogénéisation complète du matériel. La phase de lyse et de liaison de l'ADN débute par l'ajout de 10 μ L de Lyticase (0,5 mg/mL), immédiatement mélangé avant une incubation de 30 minutes à +37 °C. On ajoute ensuite 20 μ L de Protéinase K reconstituée, suivis d'un mélange immédiat et d'une incubation de 30 minutes à +55 °C. Après cette étape enzymatique, les tubes sont centrifugés pendant 2 minutes à 12 000 g, puis le surnageant est transféré dans un nouveau tube propre. À ce stade, 100 μ L d'isopropanol sont ajoutés et bien mélangés, avant de transférer le mélange dans une colonne à spin. La centrifugation est effectuée à 8 000 g pendant 1 minute, et le filtrat obtenu est jeté.

2.1.10.2. Purification de l'ADN génomique

La purification de l'ADN est réalisée par l'ajout de 500 μL de tampon CB7, préalablement complété en éthanol, dans la colonne à spin, suivie d'une centrifugation à 8 000 g pendant 1 minute ; le filtrat est ensuite éliminé. La même opération est réalisée avec 500 μL de tampon WB7, également préparé avec éthanol, puis la centrifugation à 8 000 g pendant 1 minute est répétée et le filtrat jeté. Cette étape de lavage au tampon WB7 est effectuée une seconde fois afin de garantir l'élimination optimale des impuretés résiduelles.

Une centrifugation supplémentaire de la colonne vide à 13 000 g pendant 1 minute permet d'éliminer toute trace restante de tampon de lavage ; la colonne est ensuite laissée à sécher quelques minutes à température ambiante. Elle est alors transférée dans un tube propre de 1,5 mL, puis 30 à 100 μL de tampon d'élution, idéalement préchauffé à 70 °C pour améliorer le rendement, sont déposés directement au centre de la membrane.

Après un repos de 10 minutes à température ambiante (15–25 °C), la colonne est centrifugée à 12 000 g pendant 2 minutes, permettant la récupération de l'ADN purifié dans le tube de collecte.

2.1.10.3. Etape de PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

2.1.10.3.1. Préparation du Master-Mix

Le fragment ciblé a été amplifié à l'aide des amorces universelles EF-728F (CATYGAGAAGTTCGAGAAGG) et EF-2 (GGARGTACCAGTSATCATGTT), telles que décrites par Carbone et al. (1999). La réaction de PCR est réalisée dans un volume final de 25 μL de master mix-PCR : 1,5 mM de MgCl_2 (Promega), 0,2 mM de dNTPs (Invitrogen), 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ d'ADN fongique, 0,5 μM de chaque amorce et 1 unité de Taq polymérase (Promega).

2.1.10.3.2. Amplification du gène EF1-alpha

Les amplifications sont effectuées dans un thermocycleur (Icycler, Bio-Rad) selon le programme suivant : dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 min, suivie de 35 cycles d'amplification PCR comprenant une dénaturation à 95 °C pendant 30 sec, une hybridation à 52 °C pendant 30 sec, et une élongation à 72 °C pendant 45 sec. Une élongation finale a été effectuée à 72 °C pendant 7 min.

2.1.10.4. Contrôle de la qualité de l'ADN

La qualité et la pureté de l'ADN sont évaluées à l'aide d'un NanoDrop, en mesurant les rapports A260/A280 (pureté vis-à-vis des protéines/ARN) et A260/A230 (contaminants organiques). Une concentration (ng/μL) a également été déterminée pour évaluer le rendement de l'extraction.

2.1.10.5. Electrophorèse sur gel d'agarose

Les produits d'amplification sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5 %. Ils sont colorés à l'aide d'un colorant fluorescent (MidoriGreen, Nippon), puis visualisés sous lumière UV à l'aide du système Gel Doc (Bio-Rad) pour vérifier la présence d'un fragment unique correspondant à la taille attendue (~700 pb). Une échelle de taille de 100 pb (Invitrogen) a été utilisée comme marqueur moléculaire. Les amplicons obtenus ont été purifiés puis envoyés pour séquençage Sanger bidirectionnel.

2.1.10.6. Analyse et alignement des séquences

Les chromatogrammes obtenus après séquençage sont vérifiés, nettoyés et assemblés à l'aide du logiciel BioEdit. Les séquences finales sont comparées à celles de la base de données GenBank via BLASTn (NCBI) pour déterminer l'identité des isolats. Les séquences présentant les plus hauts pourcentages de similarité ont servi à confirmer l'affiliation taxonomique des isolats T13 et T16.

2.2. Résultats et Discussion

2.2.1. Identification des champignons isolés à partir des sols

Les isollements réalisés à partir des échantillons des sols collectés dans les régions de Sétif, Skikda et El Tarf ont permis l'obtention de 39 isolats fongiques. Ces derniers identifiés grâce à la clé de Barnett et Hunter (1972) se répartissent en plusieurs genres comme *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Verticillium*, *Sclerotinia* et *Trichoderma* (Tableau 21).

Tableau 21 : Isolats fongiques obtenus à partir des sols, après isolement sur milieu de culture PDA et RBA.

Genre	Code	Origine	Dilution 10 ⁿ	Date d'isolement	Milieu d'isolement
<i>Trichoderma</i>	T1	El-Taref	-2	05/12//2024	PDA
	R5	Sétif	-2	01/12//2024	PDA
	T5	El-Taref	-2	01/12//2024	RBA
	T6	El-Taref	-1	01/11/2024	RBA
	T7	El-Taref	-2	05/12//2024	PDA
	T12	El-Taref	-2	01/11/2024	RBA
	T13	El-Taref	-2	01/11/2024	RBA
	T16	El-Taref	-2	01/12//2024	RBA
<i>Penicillium</i>	PJ	El-Taref	-2	01/12//2024	RBA
	Pg	Skikda	-3	24/11/2024	RBA
	PT	Skikda	-2	17/12//2024	PDA
	SK-3	Skikda	-3	27/11/2024	PDA
	Sp6	Skikda	-2	17/12//2024	PDA
<i>Sclerotinia</i>	Sc2	Skikda	-2	24/11/2024	PDA
	Sc8	Skikda	-2	17/12//2024	PDA
<i>Aspergillus</i>	AN1	Skikda	-2	24/11/2024	RBA
	AM1	Skikda	-3	24/11/2024	PDA
	AM2	Skikda	-2	24/11/2024	RBA
	AN2	Sétif	-2	02/12/2024	RBA
	As1	El-Taref	-2	02/12//2024	RBA
	As2	Skikda	-5	24/11/2024	RBA

(Suite tableau 21) <i>Aspergillus</i>	Asp3	Sétif	-2	02/12/2024	RBA
	Ar1	El-Taref	-2	02/12//2024	RBA
	Sp1	El-Taref	-2	02/12//2024	PDA
<i>Chaetomium</i>	Sp5	Skikda	-2	17/12//2024	PDA
	Sp2	Sétif	-3	12/12//2024	PDA
<i>Verticillium</i>	R4	Skikda	-4	24/11/2024	PDA
<i>Fusarium</i>	R6	El-Taref	-2	17/12//2024	PDA
Autres champignons	S-4	Skikda	-4	24/11/2024	RBA
	R3	Sétif	-3	09/12//2024	RBA
	Sp4	Skikda	-2	17/12//2024	PDA

Un test préliminaire d'antibiose a été conduit afin de sélectionner, parmi les 39 champignons isolés, des antagonistes potentiels de *FOC*, pour l'évaluation approfondie de leur pouvoir antagoniste. Les résultats ont révélé une inhibition faible du pathogène, caractérisé par des zones d'inhibition comprises entre 0 et 10mm selon les isolats. Le mycoparasitisme le plus marqué, s'est limité au genre *Trichoderma*, orientant ainsi nos investigations ultérieures vers ce dernier mode d'action et 8 isolats de *Trichoderma* (Tableau 22) lesquels sont issus des régions de Sétif et d'El Tarf. Ces isolats sont dénommés T5, T6, T12, T16, T1, R5, T7 et T13. Ils constitueront le matériel de base pour les essais d'antagonisme contre *FOC*. Aucun isolat de *Trichoderma* n'a été obtenu à partir du sol de Skikda. Selon Kredics et *al.*, (2003) les conditions édaphiques défavorables (faible teneur en matière organique, pH acide, faible CEC, faible humidité du sol) ou encore la forte compétition avec d'autres microorganismes telluriques déjà bien établis pourraient expliquer l'absence de *Trichoderma* dans un sol donné. Par ailleurs, Harman et *al.* (2004) et Verma et *al.* (2007) soulignent l'importance de l'équilibre écologique du sol pour le maintien des agents de biocontrôle tels que *Trichoderma* spp.

2.2.2. Caractérisation culturale et microscopique des isolats de *Trichoderma*

La caractérisation préliminaire des huit isolats de *Trichoderma* sélectionnés pour la lutte biologique est réalisée sur la base de critères macroscopiques (couleur, texture et taux de croissance de la colonie) et microscopiques (morphologie des conidiophores et des conidies) (Tableau 22), critères utilisés par Mistry et Bariya (2022) dans l'identification de certaines espèces.

<i>Trichoderma</i> spp.	Conidies	Phialides	Conidiophore	Odeur	Structure du mycélium	Couleur de la gélose /agar	Couleur des conidies	Anneaux concentriques
T5	2-4 µm globuleuses à subglobuleuses	En forme de Flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Pas d' odeur particulière	Mycélium aérien	Blanche	Verte	2
T6	2-4 µm globuleuses à subglobuleuses	En forme de flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Noix de coco	Mycélium aérien	Blanche	Verte	3
T12	2-4 µm globuleuses à subglobuleuses	Flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Noix de coco	Mycélium aérien	Pigment jaune orangé intense et diffusant	Verte foncé	3
T16	2-4 µm globuleuses à subglobuleuses	En forme de Flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Noix de coco	Mycélium aérien	Blanche	Vert clair	3
T1	Globuleuse, 2-4 µm	En forme de Flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Aucune odeur particulière	Absence de Mycélium aérien	Pas de diffusion de couleur	Vert	2
R5	Globuleuses à subglobuleuses ou ovoïdes, 2-4 µm	8 µm, à l' extrémité des branches	Simple, ramifié unilatéralement ou par paires	Noix de coco douce	Mycélium aérien	Blanche	Blanche / verte clair	Aucun
T7	Globuleuses à subglobuleuses ou ovoïde, oblong/ellipsoïd al, 2,5-4 µm	En forme de Flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Noix de coco	Mycélium aérien	Blanche	Jaune / blanche / verte clair	3
T13	Parois lisses, vert pâle, oblongues/ellips oïdales, 2-4 µm	En forme de Flacon court et large, 4-6 µm	Très ramifié et pyramidal	Mûrier blanc ou cocotier	Initialement lisse, blanc aqueux et clairsemé	Pigment jaune orangé intense et diffus	Verte foncée / blanche	1 ou 2

Tableau 22 : Caractères morphologiques et microscopiques des isolats de *Trichoderma* sur milieu de culture PDA.

Sur PDA, les colonies des *Trichoderma* présentent une grande variabilité culturale, notamment la couleur verte des amas de conidies disposés en cercles concentriques, l'aspect du mycélium, la pigmentation du milieu de culture et une odeur parfois proche de celle de la noix de coco (Figure 45). Une telle hétérogénéité justifie une caractérisation systématique des isolats. Par ailleurs, Les variations observées suggèrent la présence de plusieurs espèces parmi les isolats étudiés.

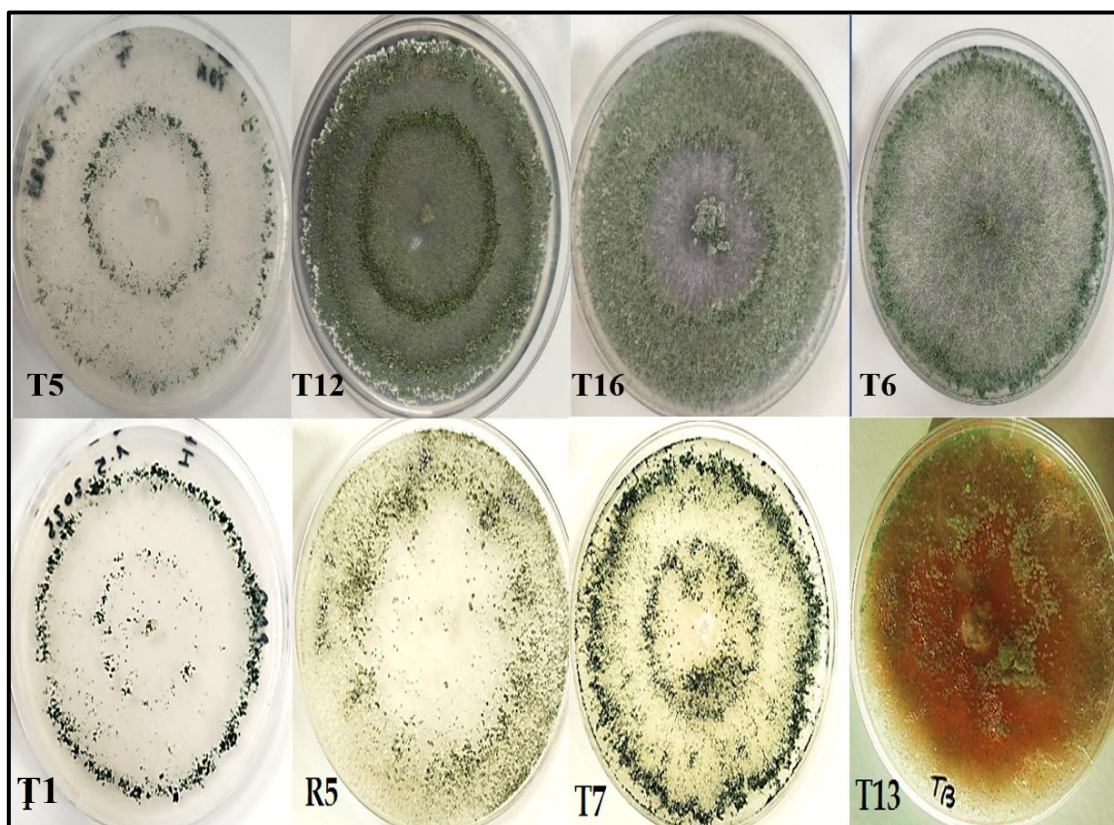


Figure 45 : Aspects morphologiques des colonies de *Trichoderma* spp. sur milieu PDA. (Originale, 2025).

Sur le plan microscopique, les isolats se caractérisent par des conidiophores hyalins fortement ramifiés, souvent en forme de pyramide ascendante, portant des phialides en forme de flacon, courtes et larges (4–6 μm). Les conidies sont globuleuses à subglobuleuses, parfois ovoïdes ou ellipsoïdales, lisses, hyalines à légèrement vertes, avec une largeur variant de 2 à 4 μm (Figure 46). Ces observations sont en parfaite adéquation avec les critères décrits par Mistry et Baria (2022) pour le genre *Trichoderma*, confirmant l'appartenance des isolats étudiés à ce taxon.

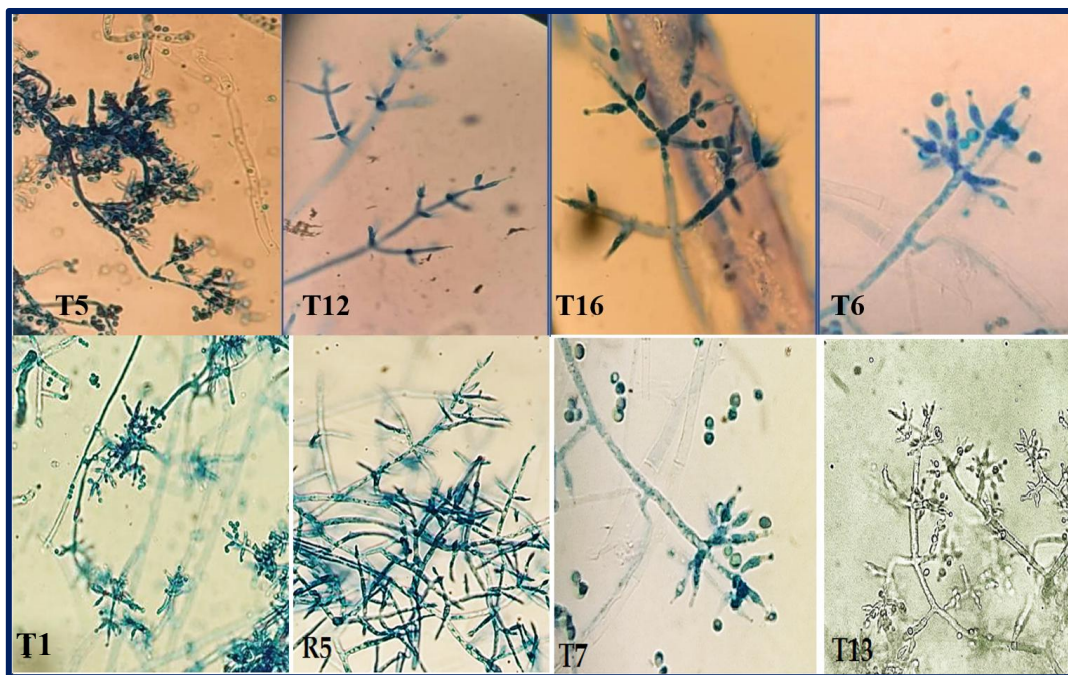


Figure 46 : Aspects microscopiques de *Trichoderma* spp. Les structures du champignon sont colorées au bleu coton (x40) (Originale, 2025).

2.2.3. Activité antagoniste *in vitro* de *Trichoderma* spp. contre *FOC*

2.2.3.1. Inhibition de la croissance mycélienne

Les tests de confrontation directe des isolats de *Trichoderma* avec la souche du pathogène (FOC3) montrent des niveaux variables d'inhibition de la croissance mycélienne de ce dernier (Figure 47).

Au terme de 4 jours de confrontation *in vitro*, le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène (MGI), calculé selon la formule de Ruiz-Gomez et Miguel-Rojas (2021), présente un MGI élevé ($60 \% < \text{MGI} \leq 75 \%$) pour l'ensemble des *Trichoderma*. Les isolats T13 et R5 présentent un taux d'inhibition de 70%, T12 atteint 65,5%, tandis que T1, T7, T5 et T6 affichent des valeurs comprises entre 60 et 65% (Figure 48). Les niveaux d'antagonisme des *Trichoderma* analysés sont qualifiés d'élevés selon les critères de Ruiz-Gomez et Miguel-Rojas (2021).

L'analyse de variance du taux d'inhibition de la croissance mycélienne a révélé un effet hautement significatif ($p < 0,0001$) des traitements sur le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (MGI) du parasite. Le test de comparaison multiple de Tukey HSD a permis de regrouper les traitements en deux groupes homogènes (Annexe 10).

Les isolats T13 et R5 appartiennent au premier groupe, caractérisé par les valeurs de MGI les plus élevées (environ 70 %), tandis que le reste des isolats sont rassemblés dans le second groupe, présentant des valeurs de MGI plus faibles.

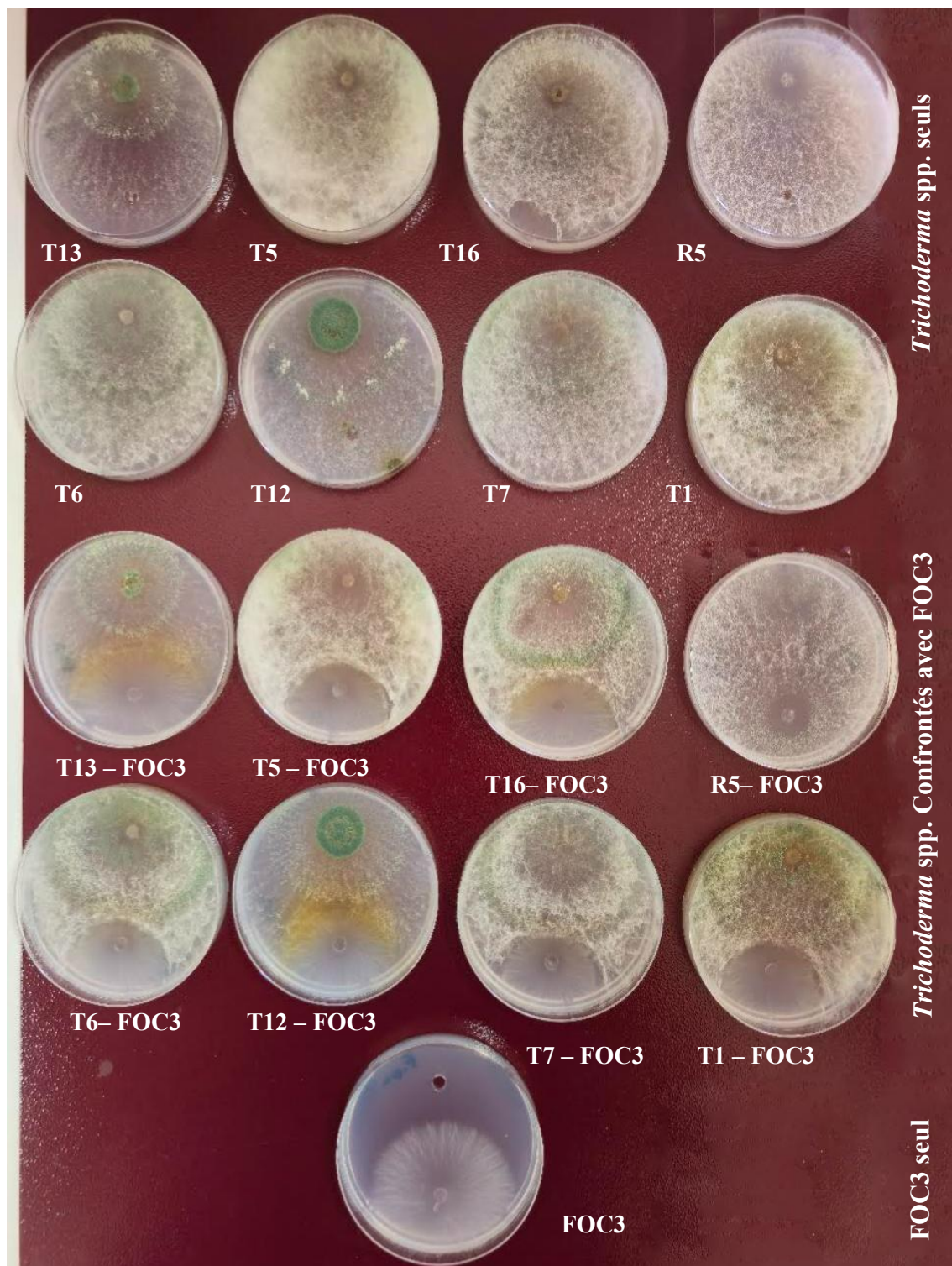


Figure 47 : Efficacité antagoniste de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de FOC 3, après 4 jours de confrontation sur milieu PDA (Originale, 2025).

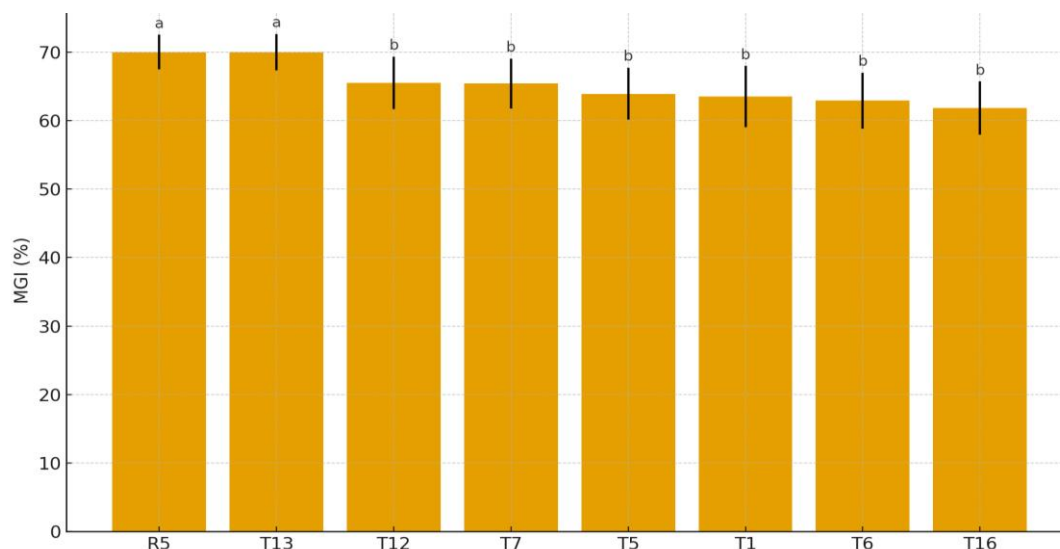


Figure 48 : Evaluation comparative de l'inhibition de la croissance mycélienne (MGI) de FOC3 par les isolats de *Trichoderma*. Les lettres ^a et ^b indiquent la comparaison des moyennes pour l'effet principal des *Trichoderma* sur FOC3. Les isolats portant la même lettre appartiennent au même groupe homogène.

L'analyse de variance de la croissance mycélienne montre des différences hautement significatives entre les isolats ($p < 0,001$). Le témoin (FOC3 seul, non confronté) montre la plus forte croissance mycélienne ($3,85 \pm 0,36$ mm), en revanche, sa co-culture avec les isolats de *Trichoderma* réduit sa croissance de façon significative (Figure 49).

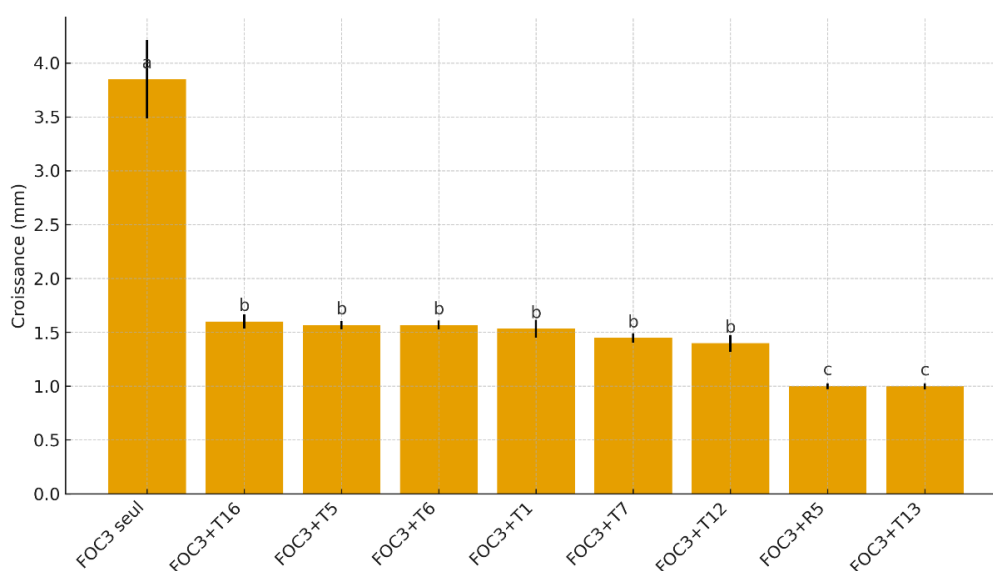


Figure 49 : Effet *in vitro* des isolats de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne de FOC3, 4 jours après confrontation à 25°C. Les barres au-dessus de chaque histogramme représentent l'écart-type. Les lettres différentes indiquent des différences significatives.

Les isolats T16, T5, T6 et T1 exercent sur le pathogène un effet inhibiteur marqué, sans toutefois présenter de différence significative entre eux, alors que R5 et T13 montrent l'activité antagoniste la plus élevée (Figure 49 ; Annexe 5). Ces résultats révèlent un potentiel de biocontrôle notable au sein de la communauté des *Trichoderma* natifs associés au pois chiche. Les niveaux d'inhibition du pathogène observés suggèrent que des mécanismes antagonistes variés pourraient être impliqués selon l'isolat. Dans la littérature scientifique, *Trichoderma* spp. sont connus pour mobiliser plusieurs modes d'action, incluant la compétition pour les nutriments, la production de métabolites antifongiques, la modification des conditions environnementales du substrat, la stimulation des mécanismes de défenses de la plante et le mycoparasitisme (Benítez et al., 2004 ; Vinale et al., 2008 ; Kumari et al., 2024).

2.2.3.2. Évaluation du mycoparasitisme

L'observation des colonies confrontées après 7 jours d'incubation montre que six isolats de *Trichoderma* atteignent le grade maximal (4) de l'échelle de mycoparasitisme de Elias et al. (1993). Ce grade traduit la capacité du champignon antagoniste à recouvrir entièrement la colonie du pathogène et à sporuler à sa surface (Figure 50).

L'isolat R5 atteint le grade 2, indiquant un mycoparasitisme présent mais incomplet, en revanche l'isolat T12 (grade 0) ne montre aucun signe de mycoparasitisme (Figure 48).

Les observations microscopiques mettent en évidence plusieurs structures et interactions typiques du mycoparasitisme : enroulement des hyphes de *Trichoderma* autour de ceux de FOC3, formation de structures d'attachement assimilées à des appressoria et lyse progressive des hyphes du pathogène (Figure 51). Ces phénomènes supposent l'implication d'enzymes hydrolytiques telles que les cellulases, chitinases et β -glucanases, impliquées dans la dégradation de la paroi fongique et favorisant la pénétration du mycoparasite (Benítez et al., 2004 ; Druzhinina et al., 2011).

L'ensemble de ces mécanismes confirme l'efficacité de nos isolats comme agents potentiels de lutte biologique contre le flétrissement vasculaire du pois chiche.

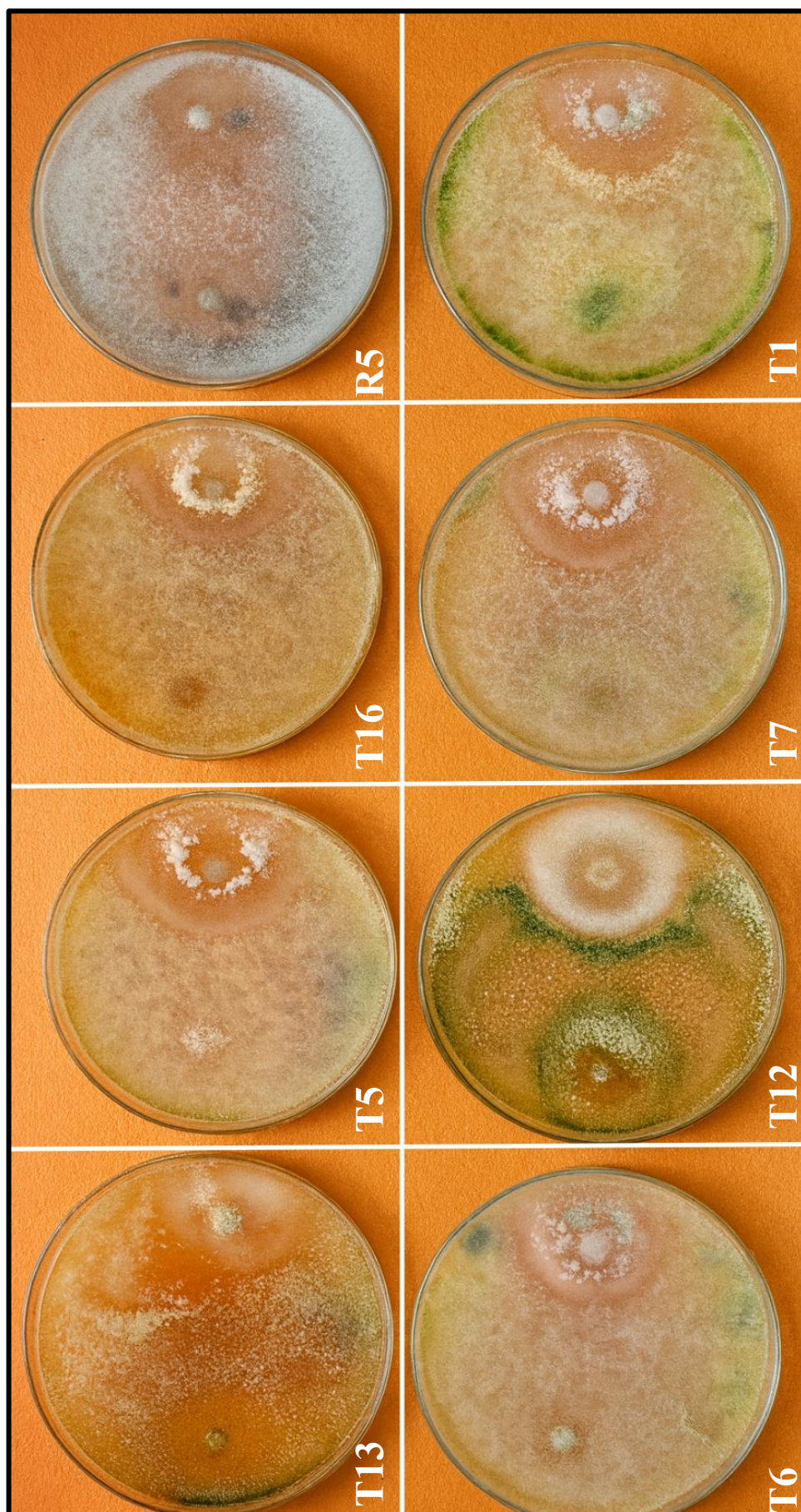


Figure 50 : Activité mycoparasitaire des isolats de *Trichoderma* contre FOC3 (Originale, 2025). (Sur la boîte de Pétri, le *Trichoderma* se trouve à gauche et FOC3 à droite), **Grade 0** : T12 ; **Grade 2** : R5 ; **Grade 4** : T1, T5, T6, T7, T13 et T16.

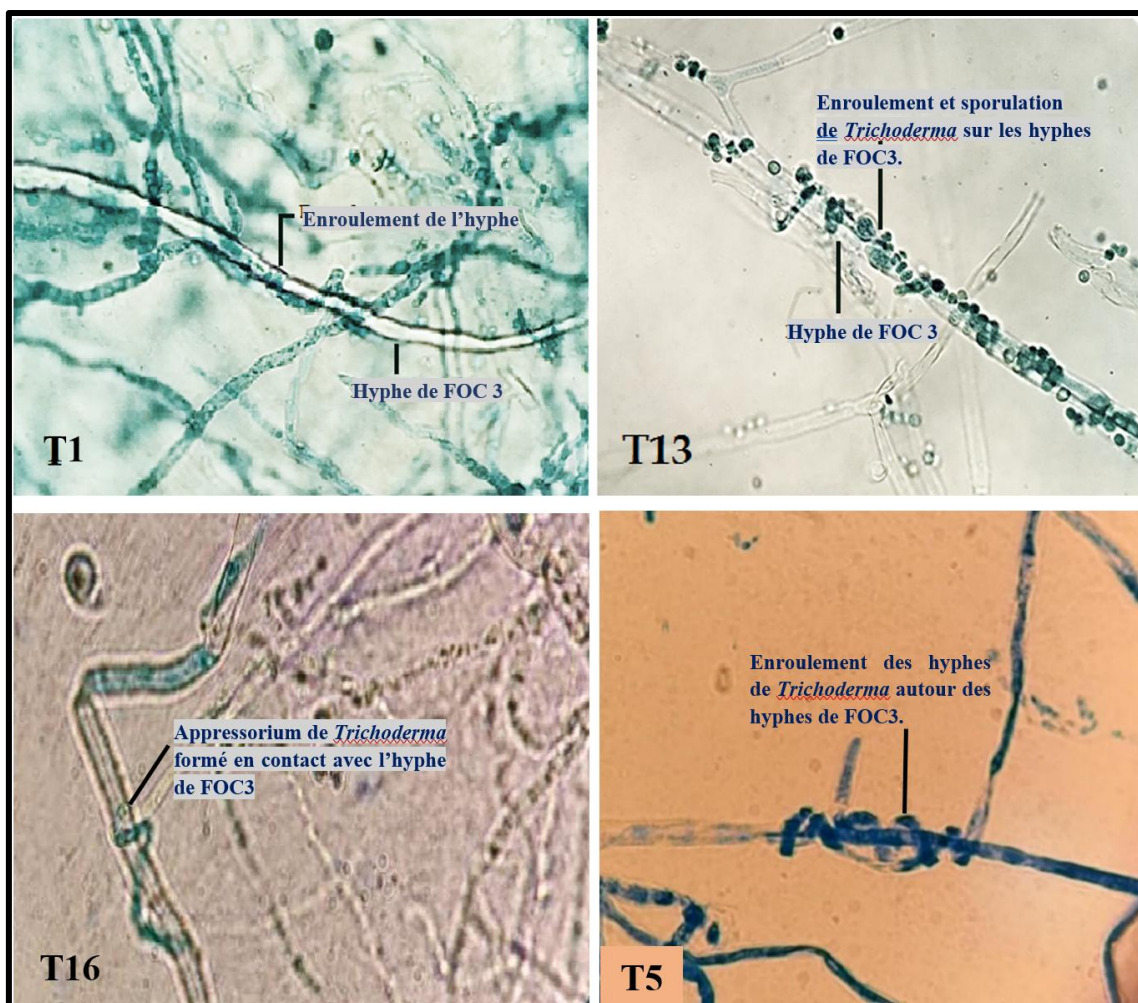


Figure 51 : Manifestations du mycoparasitisme: enroulement et sporulation des hyphes de *Trichoderma* spp. autour de ceux de FOC3, accompagnées de la formation d'appressoria sur le parasite (Originale, 2025).

2.2.4. Évaluation *in vivo* du potentiel antagoniste de *Trichoderma* spp. contre *FOC*

2.2.4.1. Analyse de la sévérité de la maladie et évaluation de l'efficacité des traitements à base de *Trichoderma*

L'évolution des symptômes du flétrissement vasculaire chez les plantes de pois chiche ILC 3279 varie selon les traitements appliqués. Dès le 11^e jour après l'inoculation, les premiers symptômes apparaissent sur l'ensemble des plantes du témoin (T+) ainsi que sur quelques plantes traitées avec T1 et T5. Les plantes malades présentent un jaunissement marginal au niveau de leurs feuilles inférieures. Tandis que les plantes traitées avec T13, T16 et celles du témoin non inoculé (T-) restent asymptomatiques.

Au 13^e jour après inoculation, les plantes témoins (T+) présentent un jaunissement marqué associé à un début de flétrissement, particulièrement visible sur les folioles médianes et supérieures. Dans les lots de plantes inoculés avec T1, T5, T13 et T16 le

jaunissement reste discret. Le témoin négatif (T-) ne montre aucun symptôme.

Au 15^e jour, les plantes T+ présentent un flétrissement sévère et un rabougrissement marqué de la partie aérienne. Des symptômes comparables, bien que moins intenses, sont notés chez certaines plantes des traitements T1 et T5. En revanche, les plantes traitées avec T13 et T16 montrent des symptômes modérés (jaunissement accompagné d'un léger flétrissement). Le témoin négatif (T-) reste sain.

L'analyse de variance à un facteur réalisée sur les scores de sévérité au 17^e jour après inoculation révèle des différences significatives entre traitements ($p < 0,05$). Le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) distingue six groupes homogènes, illustrant la variabilité de la réponse des plantes selon le traitement (Annexe 5). Le témoin infecté (T+) présente le score moyen le plus élevé ($3,75 \pm 0,2$), indiquant un flétrissement complet, suivi des traitements T1 ($3,5 \pm 0,3$), T5 ($3,25 \pm 0,25$), T13 ($2,85 \pm 0,3$) et T16 ($2,75 \pm 0,35$) (Figure 52 ; Figure 53).

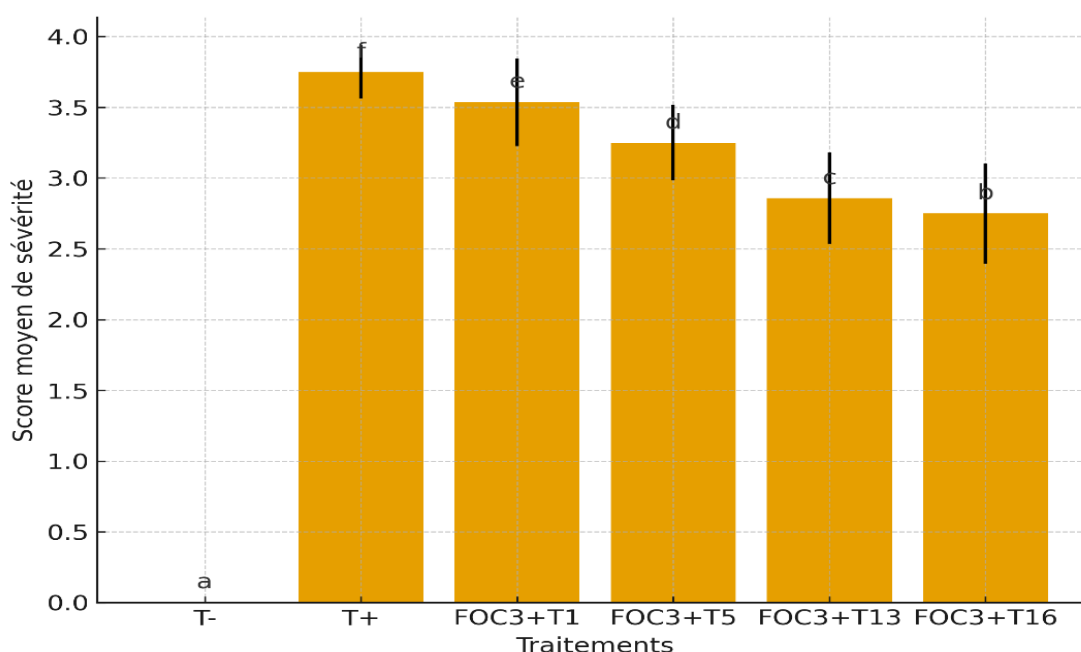


Figure 52 : Sévérité du flétrissement du pois chiche inoculé avec FOC3 seul ou en présence des isolats de *Trichoderma* T1, T5, T13 ou T16, après 17 jours d'inoculation.

Ainsi, les isolats T13 et T16 ont réduit d'environ 25% la sévérité du flétrissement vasculaire. Toutefois, ce taux reste insuffisant pour assurer une protection complète contre la maladie. L'efficacité de *Trichoderma* spp. est tributaire des conditions environnementales, du type de sol et de la pression d'inoculum du parasite. Ces

limitations soulignent la nécessité d'intégrer ces isolats dans une stratégie de lutte intégrée, combinant l'utilisation de cultivars résistants, les pratiques culturales appropriées et d'autres agents de lutte biologique complémentaires. Selon Landa et *al.*, (2004), Jiménez-Díaz et *al.* (2015) ainsi que Kumari et *al.*, (2024), l'approche de lutte intégrée pourrait renforcer leur l'efficacité des antagonistes tout en contribuant à améliorer la durabilité de la gestion du flétrissement vasculaire.



Figure 53 : Symptômes de fusariose vasculaire chez des plantules de pois chiche traitées avec FOC3+T1, FOC3+T5, FOC+T13, FOC3+T16, comparativement au témoin FOC3 (T+) et au témoin sain (T-) 17 jours post-inoculation (Originale, 2025).

2.2.5. Caractérisation biochimique de *Trichoderma* spp.

2.2.5.1. Production d'acide indole-acétique (AIA)

La production d'acide indole acétique (AIA) varie significativement entre les isolats de *Trichoderma* étudiés. L'isolat T13 produit les plus fortes teneurs en AIA (15,96 seul et 16,18 µg/ml en co-culture avec FOC 3), suivi de T1 (11,18 et 12,93 µg/ml), T5 (7,1 et 7,4 µg/ml) et T16 seul (6,8 µg/ml ; 5,5 µg/ml) (Figure 54).

Ces résultats suggèrent que les isolats T13 et T1 possèdent une forte capacité intrinsèque à synthétiser l'acide indole acétique (AIA), une phytohormone impliquée dans la croissance racinaire et la stimulation des défenses végétales (Gravel et *al.*, 2007 ; Contreras-Cornejo et *al.*, 2009). En revanche, les isolats T5, T16 et leurs associations avec FOC3 présentent des niveaux d'AIA significativement plus faibles, indiquant soit une moindre aptitude à la biosynthèse de cette hormone.

Par ailleurs, la souche pathogène FOC3, cultivée seule, produit une quantité élevée (15,9 µg/ml) d'acide indole acétique (AIA), confirmant le potentiel de certains *Fusarium* pathogène à produire cette hormone. Selon Tsavkelova et *al.* (2006) et Khan et *al.* (2020), l'AIA est souvent utilisée par divers pathogènes pour manipuler la physiologie de l'hôte et favoriser l'infection ce qui semble le cas de la souche FOC3.

L'analyse de variance (ANOVA) révèle un effet hautement significatif entre les isolats cultivés seuls ou en co-culture en ce qui concerne la production d'AIA ($F = 136,69$; $p < 0,001$). Le test de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$) a permis de distinguer plusieurs groupes homogènes (Figure 54 ; Annexe 5).

La forte capacité des isolats de *Trichoderma* à produire l'AIA, même en interaction avec le pathogène, souligne leur potentiel de stimulation de la croissance (Jaroszuk-Ścisiel et *al.*, 2019).

La capacité de certains isolats de *Trichoderma* à produire ou à induire la synthèse de l'indole-3-acetic acid (AIA) est désormais bien documentée. Pelagio-Flores et *al.* (2017), ont montré que *Trichoderma virens* induit une acidification précoce du milieu racinaire, activant une voie dépendante des auxines et stimulant la ramification latérale des racines chez *Arabidopsis thaliana*. Contreras-Cornejo et *al.* (2024) ont montré que *T. longibrachiatum* et *T. asperellum* améliorent la croissance et la nutrition des plantes en modulant le métabolisme hormonal, notamment par la voie des auxines.

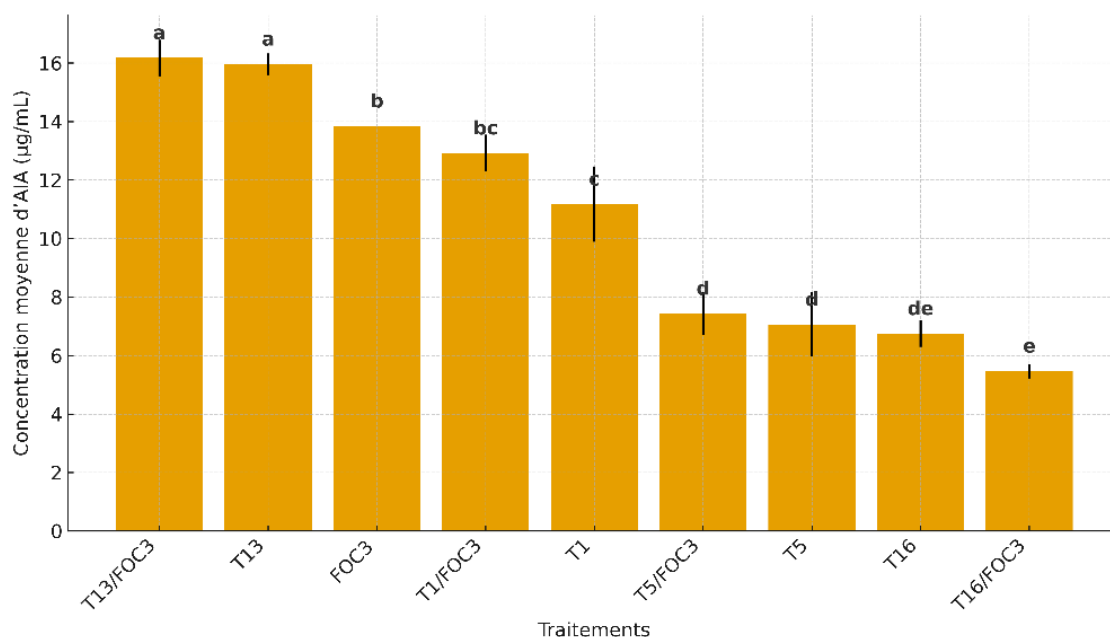


Figure 54 : Production d'acide indole acétique (AIA) par FOC3 cultivé seule sur le milieu PDB et par *Trichoderma* spp. seules ou en co-culture avec FOC3 selon les traitements. Les lettres différentes indiquent des différences significatives entre traitements selon le test de Tukey HSD ($\alpha = 0,05$).

Chalie-U et *al.* (2022) ont montré que l'inoculation des plantes de pois chiche par *Trichoderma viride* augmente le nombre et la biomasse des nodules racinaires ainsi que la teneur en protéines des graines, ces résultats ont suggéré l'implication indirecte des phytohormones telle que l'AIA dans la symbiose rhizobienne.

Ainsi, la forte production d'AIA observée dans la présente étude chez la souche T13 seule ou en co-culture avec FOC3 souligne l'importance de sélectionner des isolats de *Trichoderma* à haut potentiel auxinogène pour renforcer la croissance et la résistance du pois chiche aux stress biotiques.

2.2.5.2. Activité cellulolytique de *Trichoderma* spp.

L'expression de l'activité cellulolytique sur le milieu CMC varie en fonction des isolats de *Trichoderma* : T13 et T16 manifestent une activité marquée, tandis que T1 et T5 n'en présentent pas (Figure 55).

L'isolat T16 marque une zone claire de $74,8 \text{ mm} \pm 2,6$. Selon la formule de Khokhar et *al.* (2012), ce chiffre correspond à un indice d'hydrolyse élevé ($IH = 0,95$) et une forte capacité à dégrader la cellulose. L'isolat T13 présente une activité modérée avec une zone de $15,9 \text{ mm} \pm 0,87$ ($IH = 0,46$), traduisant une aptitude intermédiaire à la dégradation de la cellulose (Figure 56).

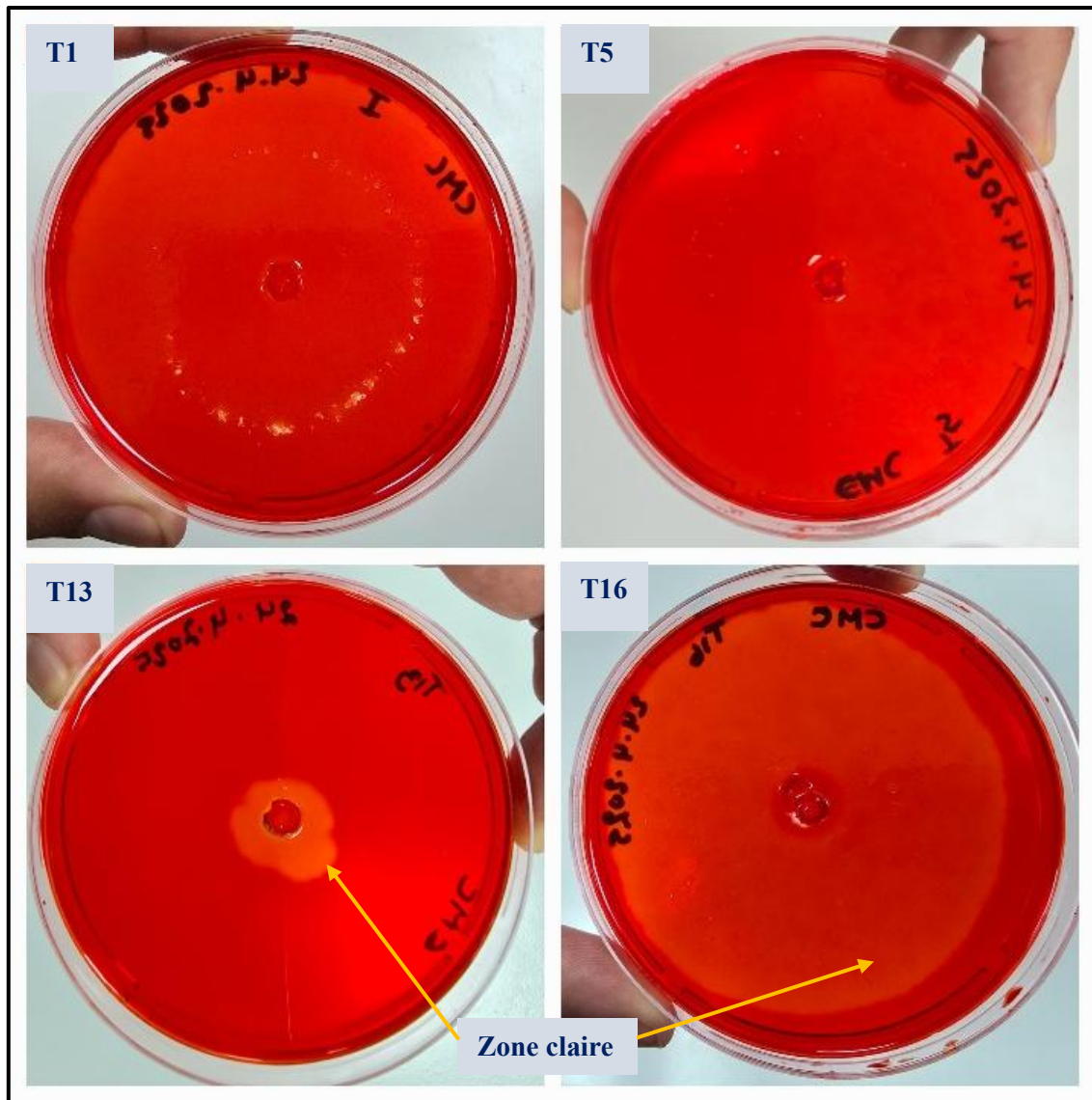


Figure 55 : Zone claire de *Trichoderma* spp. sur milieu CMC-agar, après 3 jours d'incubation à 28°C et coloration au rouge Congo (Originale, 2025).

À l'inverse, T1 et T5 ne montrent aucune activité cellulolytique détectable (Figure 56), suggérant que leurs modes d'action antagonistes vis-à-vis de *FOC* pourraient reposer sur d'autres mécanismes comme la compétition pour les nutriments ou la sécrétion de métabolites antifongiques volatils et non volatils (Harman *et al.*, 2004).

La paroi des champignons, dont *Fusarium oxysporum*, est principalement constituée de chitine, un polysaccharide formé de N-acétylglucosamine, qui assure la rigidité et la protection de la cellule contre de nombreux parasites. Les cellulases produites par *Trichoderma*, ciblent surtout la cellulose, présente en quantité mineure dans la paroi de *Fusarium oxysporum*, mais peuvent aussi avoir un effet indirect sur la structure

de la paroi, facilitant l'accès d'autres enzymes (notamment chitinases) qui dégradent spécifiquement la chitine (Schoffemeer *et al.*, 1999 ; Benítez *et al.*, 2004).

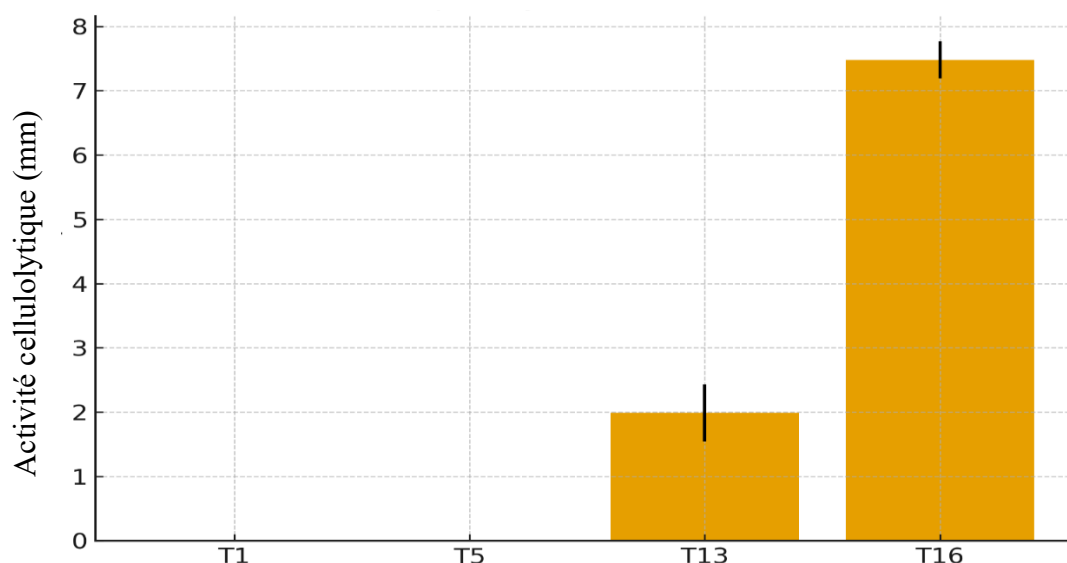


Figure 56 : Activité cellulolytique des isolats de *Trichoderma* (T1, T5, T13, T16) cultivés sur milieu CMC-agar. Les barres représentent les moyennes $\pm$ écart-type de 5 répétitions.

Ainsi, l'activité cellulolytique observée dans le cas de notre étude témoigne d'un mécanisme de dégradation partiel de la paroi de FOC3, qui elle-même dépend de l'action combinée des cellulases et des chitinases produites par *Trichoderma*. Kubicek *et al.* (2009) et Qualhato *et al.* (2013) ont démontré que la sécrétion d'enzymes lytique constitue un élément clé du pouvoir mycoparasitaire de certaines espèces de *Trichoderma*.

2.2.6. Effet de *Trichoderma* spp. sur la croissance et le statut biochimiques des plantules de pois chiche

2.2.6.1. Paramètres morphométriques des plantules

La figure 57 illustre la croissance du système aérien des plantes après 50 jours d'inoculation. Les plantes correspondant aux traitements T1 (41,44 cm) et T5 (40,34 cm) présentent les valeurs les plus élevées, comparés à T13 (39,05 cm), T- (37,78 cm) et T16 (35,38 cm). Toutefois, l'analyse de variance indique qu'aucune différence significative ($p = 0,37$).

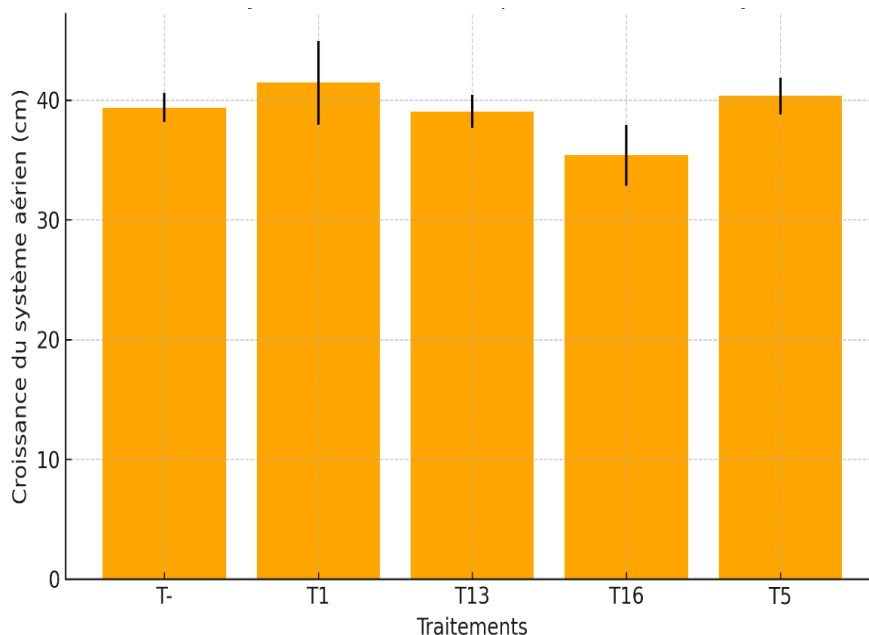


Figure 57 : Croissance du système aérien (cm), 50 jours après l'inoculation avec *Trichoderma*.

En revanche, la croissance racinaire varie significativement selon les traitements (Figure 61). Le test de Tukey HSD confirme les résultats observés et distingue cinq groupes (Figure 58, annexe 5). Les traitements T13 ($11,9 \pm 4,4$ cm) et T16 ($11,4 \pm 3,3$ cm) induisent les plus fortes longueurs racinaires, tandis que T1 ($9,55 \pm 3,7$ cm) et T5 ($8,75 \pm 1,45$ cm) présentent les plus faibles valeurs. Le témoin négatif montre une valeur intermédiaire ($8,75 \pm 3,7$ cm).

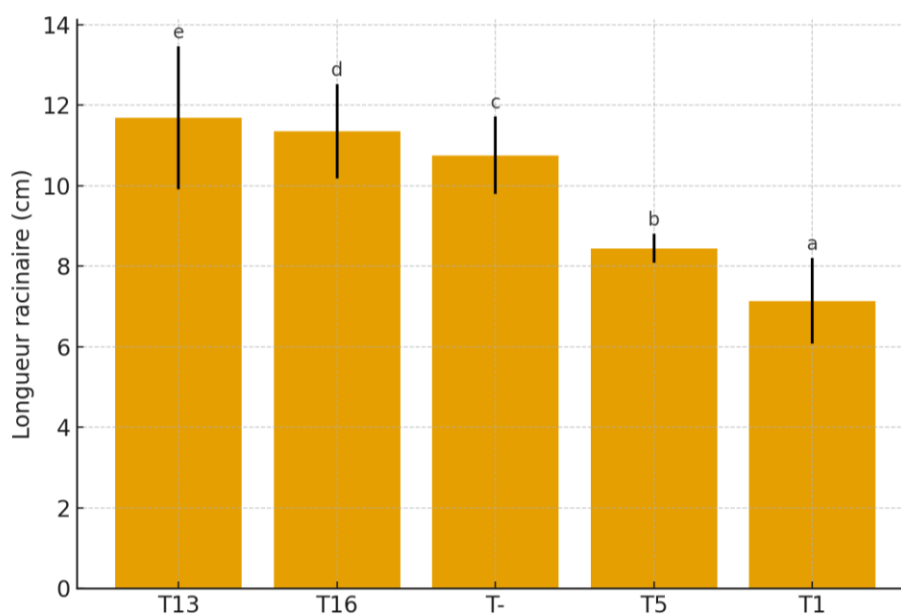


Figure 58 : Longueur de la racine principale (cm), 50 jours après l'inoculation avec *Trichoderma*.

Les différences constatées au niveau de la longueur de la racine principale des lots de plantules inoculées avec différents *Trichoderma* démontrent que l'interaction *Trichoderma*–plante influence fortement le développement du système racinaire. Les isolats T13 et T16 se distinguent par un effet stimulant marqué, probablement lié à une production accrue de composés favorisant la croissance, comme les enzymes lytiques ou les métabolites secondaires bénéfiques. Ces observations concordent avec les travaux de Harman *et al.* (2004) et Vinale *et al.* (2008) qui ont montré que certains isolats de *Trichoderma* améliorent significativement le développement racinaire par la modulation de la physiologie végétale et l'induction d'une stimulation systémique. D'autres études ont mis en évidence la capacité de *Trichoderma* à renforcer la croissance racinaire via la stimulation de l'auxinogenèse endogène et la formation de racines latérales (Contreras-Cornejo *et al.*, 2009 ; Geng *et al.*, 2025).

À l'inverse, les isolats T1 et T5 présentent un effet inhibiteur marqué sur l'allongement racinaire. Cette réponse pourrait résulter d'une colonisation racinaire moins efficace ou d'un potentiel biofertilisant plus faible, en lien avec leurs profils métaboliques respectifs. Une telle variabilité inter-isolats est bien documentée chez *Trichoderma*, chaque isolat disposant d'un arsenal biochimique distinct est capable de moduler différemment la croissance et le métabolisme racinaire (Benítez *et al.*, 2004 ; Hermosa *et al.*, 2012 ; Poveda, 2021).

Les difficultés évidentes à étudier les aspects morphologique ou moléculaires impliqués dans les interactions plante-pathogène-antagoniste ont été soulignée par plusieurs auteurs (Marra *et al.*, 2006 ; Lu *et al.*, 2004). Les interactions moléculaires qui se produisent lors d'interactions à trois nécessitent des expériences qui étudient les changements dans les expressions génique survenant chez chaque partenaire impliqué, individuellement puis dans toutes les combinaisons possibles (Vinale *et al.*, 2018).

2.2.6.2. Indices biochimiques mesurés par capteur optique (Dualux®)

2.2.6.2.1. Nitrogen Balance Index (NBI)

La figure 59 illustre l'évolution de l'indice de balance azotée (NBI) chez le pois chiche inoculé avec *Trichoderma* spp. Le témoin non inoculé (T–) montre une légère diminution de l'indice NBI, mais moins prononcée que la majorité traitements, ce qui témoigne de sa stabilité biochimique.

Les courbes de traitements avec *Trichoderma* spp. présentent des trajectoires différentes. En particulier, les traitements T5 et T13 qui affichent une chute rapide de

l'indice NBI dès la deuxième semaine post-inoculation, passant respectivement de 34,06 et 31,22 à 26,74 et 19,9 à la quatrième semaine, soit une baisse de 7,32 et 11,32. Il y'a aussi T1 et T5 qui entament la chute de cet indice à la même période puisque les valeurs affichées passent respectivement de 28,44 et 34,06 à 25,66 et 26,75 à la quatrième semaine, soit une baisse de 2,78 et 7,31.

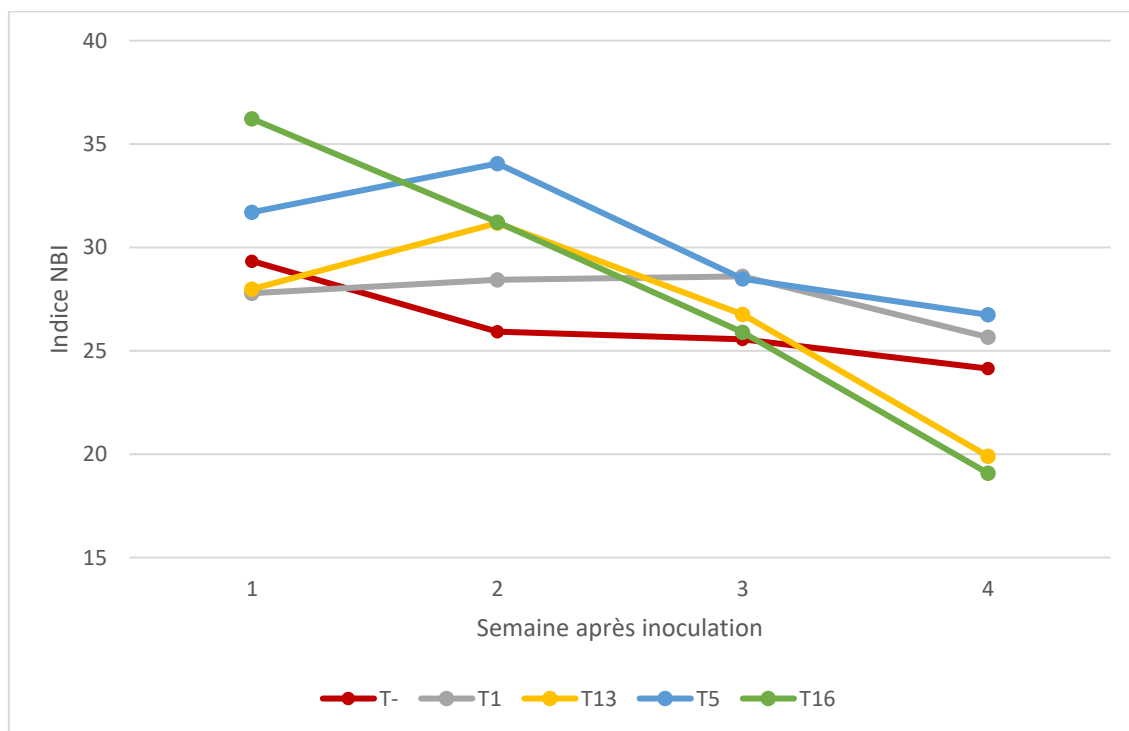


Figure 59 : Variation temporelle de l'indice de balance azotée (NBI) chez le pois chiche selon les traitements (plantules témoins non inoculées (T-) et plantules inoculées avec *Trichoderma*).

Ainsi, suivant nos résultats il s'avère que *Trichoderma* ne se limite pas seulement à son rôle de biocontrôle direct, mais agit aussi comme un modulateur du métabolisme azoté, contribuant à maintenir l'équilibre nutritionnel de la plante.

Les *Trichoderma* sont connus pour améliorer l'absorption et l'assimilation de l'azote et stimuler la synthèse de phytohormones telles que les auxines et les cytokinines, ce qui modifie la répartition et l'utilisation de l'azote dans les tissus végétaux (Shoresh et al., 2010 ; Singh et al., 2018).

La diminution globale du NBI observée dans nos conditions expérimentales s'explique également par l'absence de bactéries nodulatrices d'azote dans le sol, car celui-ci a été stérilisé avant semis, ce qui empêche toute fixation symbiotique de l'azote, une caractéristique bien connue chez les légumineuses (Vincent, 1970 ; Zahran, 1999 ; Hirsch, 2002).

L'analyse des variances (modèle à deux facteurs) confirme ces observations : l'effet du temps est hautement significatif, traduisant une dynamique biochimique évolutive au cours de l'essai. L'effet du traitement est également significatif, montrant que les isolats de *Trichoderma* influencent différemment la teneur foliaire (Annexe 5).

Enfin, l'interaction Traitement $\times$ Temps est significative, indiquant que l'évolution de la chlorophylle dans le temps dépend du traitement appliqué. Autrement dit, les traitements n'induisent pas tous les mêmes trajectoires biochimiques : certains stimulent fortement le NBI au début (T5, T16), tandis que d'autres provoquent rapidement son effondrement (T13, T16) ou montrent une stabilité relative (T1). Contreras-Cornejo et al. (2009) ont démontré que certains isolats de *Trichoderma* renforcent la capacité métabolique des plantes tout en maintenant un statut azoté relativement stable, ce qui correspond exactement à la tendance générale observée dans le cas de l'isolat T1.

2.2.6.2.2. Chlorophylle foliaire (Chl)

La figure 60 présente l'évolution de la teneur en chlorophylle chez le pois chiche au cours des quatre semaines suivant l'inoculation avec différents isolats de *Trichoderma*. Le témoin sain non inoculé (T-) montre une diminution progressive et régulière de la chlorophylle, passant d'un indice 29,34 à la première semaine après l'inoculation à 24,14 la quatrième semaine. Cette baisse graduelle correspond à une évolution biochimique normale du feuillage en l'absence de tout stress biotique ou abiotique.

Chez les plantes inoculées avec *Trichoderma*, la dynamique suit un schéma uniforme : un pic marqué de chlorophylle apparaît à la deuxième semaine, suivi d'une diminution progressive. Ce comportement traduit un effet stimulant initial des isolats sur la biochimie foliaire, avant un réajustement métabolique de la plante au fil du temps (Figure 60).

La chute de chlorophylle est plus accentuée chez T13 et T16, qui passent respectivement d'un indice de 34,9 et 38,32 durant la deuxième semaine à seulement 19,86 et 22,62 à la quatrième semaine. Ces isolats induisent donc une réponse initiale forte mais transitoire, suggérant une modulation biochimique plus intense ou de courte durée.

À l'inverse, les traitements T1 et T5 montrent un profil plus stable : leurs valeurs diminuent de manière moins abrupte, passant respectivement de 31,76 à 27,02 et 36 à 27,68 de la deuxième à la quatrième semaine. Cette décroissance modérée témoigne d'un effet plus durable sur la stabilité du système photosynthétique.

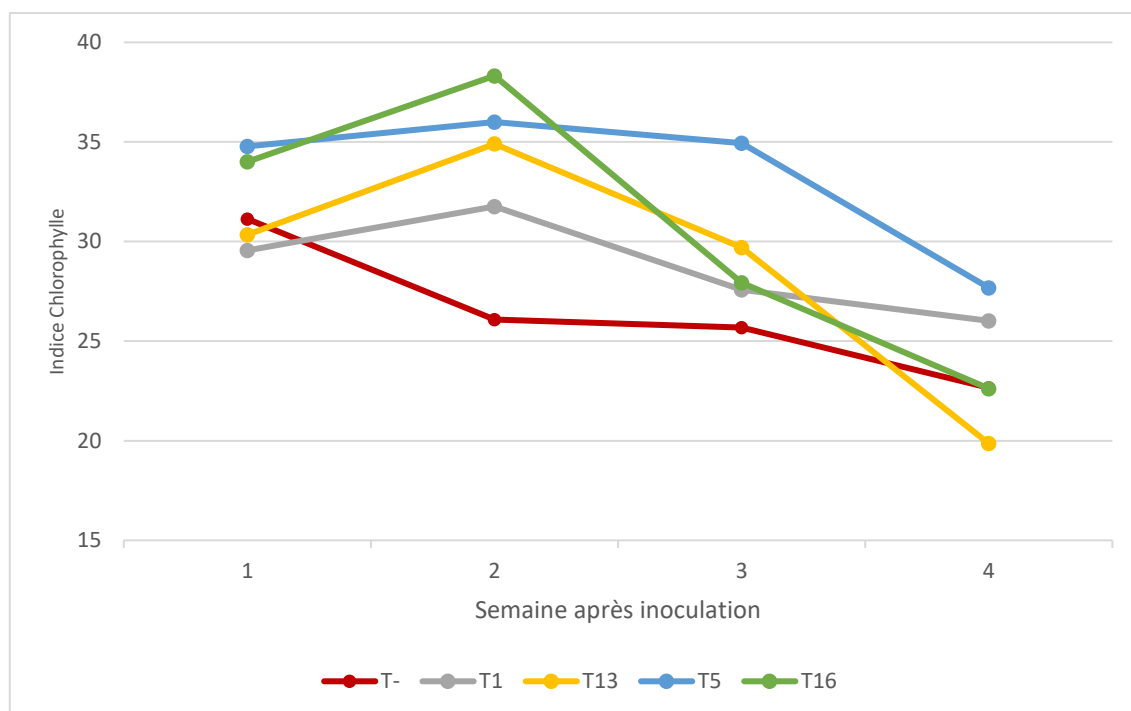


Figure 60 : Variation temporelle de l'indice de chlorophylle (Chl) chez le pois chiche selon les traitements (plantules témoins non inoculées (T-) et plantules inoculées avec *Trichoderma*).

Le maintien relatif de la chlorophylle observé chez T1 et T5 peut être lié à une meilleure protection du système photosynthétique et à une réduction du stress oxydatif. Plusieurs études montrent en effet que *Trichoderma* améliore l'absorption des nutriments et active un métabolisme photosynthétique renforcé (Shores et *al.*, 2010 ; Andrzejak et Janowska 2022 ; Contreras-Cornejo et *al.* 2024). Ces mécanismes expliquent l'augmentation transitoire de la chlorophylle observée à la deuxième semaine pour l'ensemble des isolats testés.

La variabilité observée entre isolats dans la présente étude confirme l'importance d'un choix raisonné des isolats, certaines présentant un effet biostimulant plus stable tandis que d'autres induisent des réponses plus brèves mais plus intenses. Ainsi, les résultats mettent clairement en évidence le double rôle de *Trichoderma*, bio-stimulant au stade précoce et modulateur du métabolisme photosynthétique, avec une efficacité dépendant fortement de l'isolat.

L'analyse statistique montre que l'effet des traitements varie selon la période d'observation (Annexe 5). Aucune différence significative n'est observée à la première semaine, ce qui indique une réponse foliaire similaire entre traitements au stade précoce.

En revanche, à la deuxième et la troisième semaine les différences sont hautement significatives, témoignant d'une influence marquée des isolats de *Trichoderma* sur la

biochimie foliaire durant cette phase. À la quatrième semaine, l'absence de différence significative indique une homogénéisation des réponses et un rééquilibrage biochimique.

La dynamique temporelle apparaît ainsi déterminante, l'action de *Trichoderma* se manifeste principalement par une stimulation transitoire entre la deuxième et la troisième semaine. Ce schéma correspond aux observations de la littérature, qui montrent que *Trichoderma* induit généralement une stimulation biochimique transitoire, caractérisée par une activation rapide du métabolisme suivie d'un rééquilibrage progressif (Shoresh et al., 2010 ; Harman et al., 2019).

L'ANOVA à deux facteurs pour l'interaction entre traitements et le temps, indique un résultat non significatif (Annexe 5). Les isolats suivent des trajectoires similaires, mais avec des amplitudes différentes. Cette variabilité inter-isolats comme indiqué dans la littérature, reflète les capacités contrastées des isolats à moduler le métabolisme végétal (Vinale et al., 2008 ; Hermosa et al., 2012).

2.2.6.2.3. Flavonoïdes (Flav)

La figure 61 montre l'évolution de l'indice foliaire des flavonoïdes des plantules de pois chiche en réponse à l'inoculation par différents *Trichoderma*. Dans l'ensemble, la teneur en flavonoïdes présente un profil temporel similaire pour tous les traitements. Une augmentation progressive est observée entre les semaines 1 et 3, il s'ensuit une diminution après cette période. Les courbes demeurent proches les unes des autres, traduisant l'absence de divergences majeures entre les traitements.

À l'instar du témoin sain non inoculé (T-), les autres traitements affichent des courbes d'évolution régulières et semblables. Cette évolution reflète une dynamique phénologique normale en conditions de non stress.

L'analyse de variance à deux facteurs (Traitement $\times$ temps) révèle un effet significatif du facteur « temps » sur la teneur foliaire en flavonoïdes ($p = 0.039$), indiquant une évolution temporelle du contenu en flavonoïdes au cours du développement des plantes. En revanche, l'effet du traitement n'est pas significatif ($p = 0.10$), et aucune interaction entre les deux facteurs n'a été mise en évidence ($p = 0.97$) (Annexe 5).

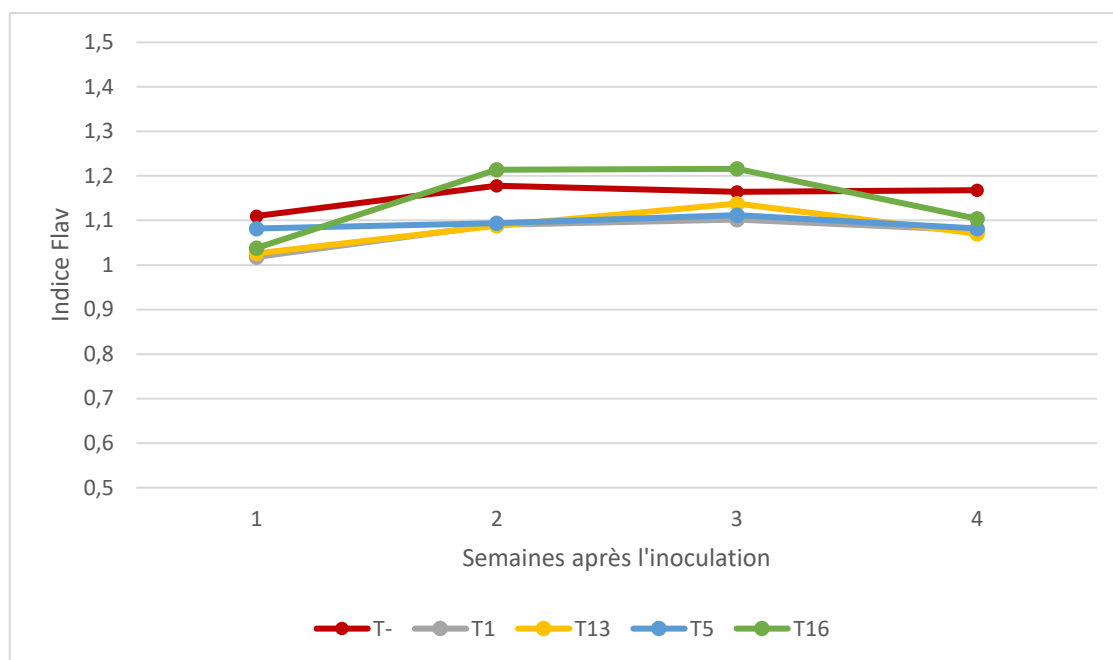


Figure 61 : Variation temporelle de l'indice de flavonoïdes (Flav) chez le pois chiche selon les traitements (plantules témoins non inoculées (T-) et plantules inoculées avec *Trichoderma*).

L'absence de différences significatives entre les traitements peut s'expliquer par le fait que les plantes n'étaient pas soumises à un stress biotique ou abiotique. En conditions non stressées, la biosynthèse des flavonoïdes reste généralement faible, car ces métabolites sont surtout induits en réponse à des signaux de défense déclenchés par des infections, des stress oxydatifs ou des contraintes environnementales (Treutter, 2005 ; Agati et al., 2012).

Selon Shores et al., (2010) et Hermosa et al., (2012), lorsqu'un pathogène est présent, *Trichoderma* stimule principalement les mécanismes de défense, y compris la production de composés phénoliques, grâce à des processus de priming et de résistance systémique induite. En absence de pathogène, l'effet de *Trichoderma* se manifeste surtout par des bénéfices nutritionnels et une stimulation de la croissance, sans activation marquée des voies phénoliques.

2.2.7. Identification moléculaire des isolats de *Trichoderma*

2.2.7.1. Analyse de la pureté de l'ADN des isolats

L'extraction de l'ADN génomique des isolats T13 et T16 a fourni des concentrations adaptées aux analyses moléculaires ultérieures. Les rapports A260/A280 et A260/A230 sont reportés dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Résultats du dosage de la concentration de l'ADN*.

Échantillon	Concentration (ng/μL)	A260/A280	A260/A230
T13	120	1,90	0,118
T16	729,7	2,16	0,529

*Appareil NanoDrop de type laboao.

Les deux isolats présentent des valeurs de A260/A280 comprises entre 1,9 et 2,16, indiquant une bonne pureté vis-à-vis des protéines ou ARN. Cependant, les ratios A260/A230 sont plus faibles que les valeurs attendues (2,0–2,2), suggérant la présence résiduelle de composés organiques ou de sels, phénomène fréquent lors des extractions fongiques utilisant des tampons chimiques.

2.2.7.2. Vérification des produits amplifiés sur gel d'agarose

L'amplification du gène EF-1 α au moyen des amorces EF-728F et EF-2 a généré sur le gel d'agarose un fragment unique d'environ 700 pb, correspondant à la taille attendue pour cette région génétique des deux isolats de *Trichoderma* (Figure 62).

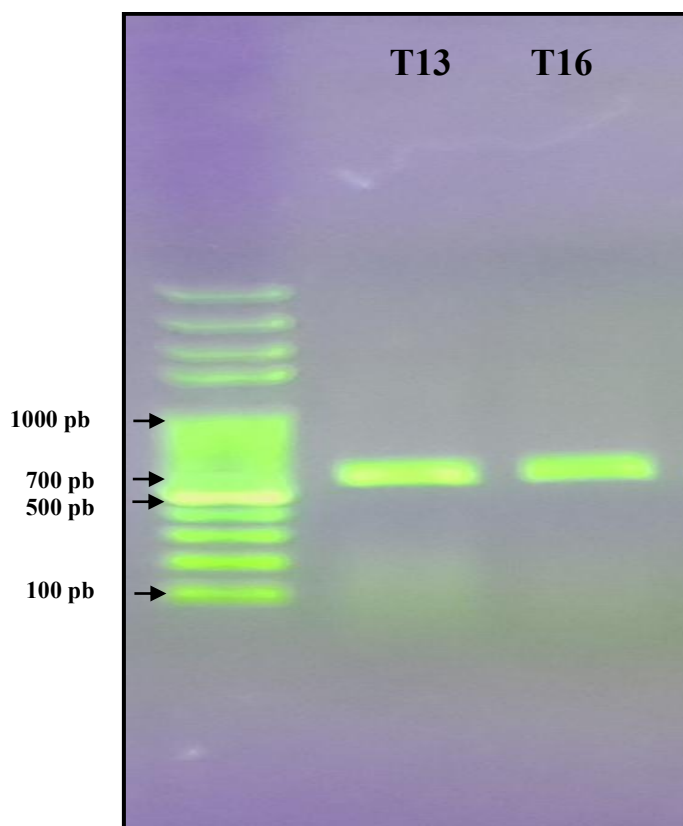


Figure 62 : Profil électrophorétique sur gel d'agarose indiquant l'amplification par PCR des régions EF-728F et EF-2 de l'ADN des isolats T13 et T16. M= marqueur moléculaire 100 pb.

2.2.7.3. Identification moléculaire de T13 et T16 par séquençage du gène EF-1 α

L'analyse BLASTn des séquences EF-1 α des isolats antagonistes T13 et T16 a révélé une identité nucléotidique élevée (99,8–100%) avec des séquences de référence de *Trichoderma harzianum* (ex. : FJ463352.1 pour T13 ; ON892783.1 pour T16). Ces résultats confirment que T13 et T16, sélectionnés pour leurs performances *in vitro* et *in vivo*, appartiennent à *T. harzianum* tout en étant génétiquement distincts.

L'espèce *T. harzianum* est largement documentée comme agent de lutte biologique efficace contre les champignons telluriques, notamment les espèces du genre *Fusarium*, grâce à une combinaison de mécanismes d'antagonisme incluant le mycoparasitisme, la compétition pour les nutriments et l'espace, ainsi que la production d'enzymes hydrolytiques et de métabolites antifongiques (Lorito *et al.*, 2010 ; Harman *et al.*, 2004). Plusieurs travaux ont spécifiquement rapporté l'efficacité de *T. harzianum* vis-à-vis de *FOC* (Chohan *et al.* 2024 ; Younesi *et al.* 2021).

Bien que les isolats T13 et T16 appartiennent à la même espèce, les différences observées dans leurs niveaux d'activité antagoniste suggèrent l'existence d'une variabilité fonctionnelle intra-spécifique, phénomène largement décrit chez *T. harzianum*, reflétant des différences génétiques et biochimique entre isolats, influençant leur aptitude à coloniser la rhizosphère, à produire des enzymes lytiques ou à induire les mécanismes de défense chez la plante hôte (Vinale *et al.*, 2008 ; Benítez *et al.*, 2004).

Dans le contexte de notre étude, l'identification moléculaire a été intentionnellement limitée aux isolats T13 et T16, qui ont présenté les performances biologiques les plus élevées et les plus constantes au cours des essais *in vitro* et *in vivo* contre *FOC*. Cette approche ciblée est couramment utilisée dans les études de lutte biologique où les outils moléculaires sont utilisés pour valider l'identité taxonomique de souches élites sélectionnées à l'issue d'un criblage multi-critères, plutôt que pour caractériser l'ensemble des isolats collectés. Une telle stratégie permet d'optimiser les ressources analytiques disponibles tout en renforçant la pertinence scientifique des isolats retenus pour des applications agronomiques potentielles.

Dans le contexte spécifique de ce travail, la concordance entre l'identification moléculaire fondée sur le gène EF-1 α et l'efficacité antagoniste démontrée contre *FOC* (race 6) renforce la pertinence du choix des isolats T13 et T16 comme candidats prometteurs pour le développement de stratégies de lutte biologique durable contre le flétrissement vasculaire du pois chiche. L'identification fiable des agents de biocontrôle constitue ainsi une étape clé pour leur valorisation agronomique et pour leur intégration

potentielle dans des programmes de gestion intégrée des maladies, combinant agents biologiques, pratiques culturales adaptées et variétés tolérantes (Zaim *et al.* 2018 ; Harman *et al.* 2004).

2.2.8. Conclusion

Les isolats de *Trichoderma* issus de sols de cultures de pois chiche de l'Est algérien ont montré une activité antagoniste significative vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (race 6), pathotype hautement virulent responsable du flétrissement vasculaire du pois chiche. Cette activité repose sur la combinaison de plusieurs mécanismes complémentaires, incluant le mycoparasitisme, l'activité enzymatique et des traits de stimulation de la croissance végétale. Les isolats T13 et T16, identifiés par méthode moléculaire comme appartenant à l'espèce *Trichoderma harzianum*, se sont distingués par une réduction significative de la sévérité de la maladie dans l'essai que nous avons réalisé en serre.

Bien que la protection observée demeure partielle, la cohérence des réponses obtenues *in vitro* et *in vivo* confirme la pertinence biologique de ces deux isolats face à un pathogène particulièrement agressif. Leur adaptation locale et leur comportement multifonctionnel en font des candidats prometteurs pour leur intégration dans des stratégies durables et intégrées de gestion du flétrissement vasculaire du pois chiche.

3. Etude des interactions de
Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris
avec *Medicago truncatula*

3.1. Introduction

Le flétrissement vasculaire du pois chiche, principalement induit par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (*FOC*), cause d'importantes pertes de rendement en Algérie et dans le monde. Cette maladie affecte le xylème, ce qui perturbe la circulation de l'eau et provoque la mort précoce des plants. La lutte génétique reste limitée pour conférer une résistance durable et étendue, en raison de la diversité des races pathogènes et des facteurs environnementaux. Par ailleurs, à ce jour, aucune plante modèle spécifique n'a été développée pour étudier la résistance au (*FOC*) chez le pois chiche, bien que *Medicago truncatula* serve de référence pour les mécanismes de défense contre d'autres formes spéciales de *F. oxysporum* chez les légumineuses (Rispaïl et al., 2015 ; Batnini et al., 2021 ; Batnini et al., 2023).

L'utilisation d'une plante modèle permet d'approfondir la compréhension des mécanismes de résistance aux agents pathogènes, qui peuvent ensuite être extrapolés à d'autres espèces végétales. En raison de leurs gènes de résistance bien caractérisés, de leurs séquences génomiques disponibles et de leurs réponses immunitaires bien étudiées, les plantes modèles servent de référence pour identifier les gènes, les voies de signalisation et les molécules impliquées dans la défense.

Dans ce contexte, *Medicago truncatula* représente un modèle d'étude particulièrement pertinent. Son génome séquencé, la disponibilité de lignées contrastées et la richesse des ressources génétiques en font un système idéal pour l'analyse des interactions plante–pathogène et la dissection des réponses immunitaires (Rispaïl et al., 2007 ; Young & Udvardi, 2009). Les connaissances développées chez ce modèle seront utilisées pour éclairer les mécanismes de résistance chez le pois chiche.

Ce chapitre vise donc à établir l'existence d'un pathosystème *FOC/M. truncatula*, à caractériser les interactions et évaluer leurs niveaux de sensibilité ou de tolérance de deux lignées de *M. truncatula*, en l'occurrence A17 et F83005.5.

3.2. Matériels et Méthodes

3.2.1. Matériels

3.2.1.1. Matériel Fongique

La souche FOC3, isolée de pois chiches, collectés dans la région de Constantine, est utilisée dans cette étude. Cette souche a été caractérisée par analyse RAPD ; elle appartient à la race 6, selon les critères établis par Jiménez-Gasco et al. (2003). La race 6 se distingue par sa virulence élevée sur de nombreux cultivars de pois chiche, avec une capacité à induire un flétrissement vasculaire rapide.

3.2.1.2. Matériel Végétal

3.2.1.2.1. *Medicago truncatula*

Le matériel végétal comprend deux lignées de *M. truncatula* : A17 et F83005.5 (Figure 63). Ces deux génotypes ont été obtenus auprès du laboratoire d'Ecolab appartenant à l'ENSAT (Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse, France).



Figure 63 : Semences de *M. truncatula*.

3.2.1.2.2. Pois chiche

La variété de pois chiche ILC-3279, issue de la collection de l'ICARDA, utilisée dans les expérimentations à titre de témoin. Elle est fournie par la station régionale de l'ITGC (Institut Technique des Grandes Cultures) de Sidi Bel Abbès. Cette variété est largement cultivée en Algérie pour son bon potentiel de rendement et sa bonne adaptation aux conditions agroclimatiques locales. Elle présente une sensibilité à la fusariose vasculaire (Debbi, 2009).

3.2.2 Méthodes

3.2.2.1. Préparation des semences de *Medicago*

Les graines des lignées *M. truncatula* A17 et F83005.5 sont pré-germées selon un protocole standardisé. Elles ont d'abord subi une scarification mécanique à l'aide de papier de verre abrasif fin afin de perforer le tégument imperméable et faciliter ainsi l'imbibition de la graine. Les graines ont été ensuite trempées pendant 30 minutes dans de l'eau distillée stérile. Elles sont déposées sur du papier filtre humidifié, dans des boîtes de Pétri, pour assurer une germination homogène.

Les boîtes de Pétri sont hermétiquement scellées avec du parafilm pour prévenir toute déshydratation, puis recouvertes de papier aluminium afin d'assurer des conditions d'obscurité totale. Elles sont maintenues à $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 4 jours pour induire une vernalisation et lever la dormance physiologique caractéristique de *M. truncatula*.

Après ces étapes, les boîtes sont transférées à température ambiante de laboratoire ($22 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$) pendant 3 à 4 jours, jusqu'à l'apparition des premières racelles (longueur $\geq 2\text{ mm}$), marquant le stade de pré-germination et assurant une synchronisation optimale des plantules pour les inoculations ultérieures (Mahiout, 2017).

3.2.2.2. Préparation des semences de pois chiche

Les semences de pois chiche (ILC 3279) sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium à 1% pendant 10 min. Elles sont rincées trois fois à l'eau distillée stérile, pour éliminer les résidus chimiques, puis mises à prégermer pendant 72 à 96 h entre deux couches de coton imbibé d'eau distillée stérile, afin d'obtenir des plantules homogènes.

3.2.2.3. Préparation du sol

Des pots en plastique ($\varnothing 7\text{ cm} \times h 9\text{ cm}$) sont remplis d'un substrat stérile composé d'un mélange sable : tourbe (1:2, v/v). Ce mélange a été préalablement stérilisé à l'autoclave ($121\text{ }^{\circ}\text{C}$, 1 bar, 20 min) pour éliminer toute contamination microbienne endogène et éviter les interférences lors des inoculations par *FOC*.

3.2.2.4. Semis des graines

Les graines de pois chiche et *M. truncatula* prégermées sont semées à raison d'une graine par pot. Les plantules sont arrosées un jour sur trois, jusqu'à 60-70% de la capacité au champ, selon les besoins des plantules. Les pots sont déposés dans une serre, à une température de $25 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ le jour, $18 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ la nuit. Ils sont mis dans une mini serre afin

de maintenir une humidité élevée et constante autour des plantules. Cette condition favorise une germination uniforme, limite le stress hydrique et protège les jeunes plantules des fluctuations rapides de température et d'humidité.

3.2.2.5. Préparation de l'inoculum de *FOC*

L'inoculum de FOC3 est préparé selon la méthode décrite par Trapero-Casas et Jiménez-Díaz (1985). Après dix jours sur PDA, les cultures sont inondées avec 10 ml d'eau distillée stérile. Les suspensions obtenues sont filtrées à travers une double couche de mousseline stérile afin d'éliminer les résidus de gélose et les fragments de mycélium. La concentration conidienne est ajustée à 10^6 conidies mL^{-1} à l'aide d'une cellule de Malassez (Figure 64).

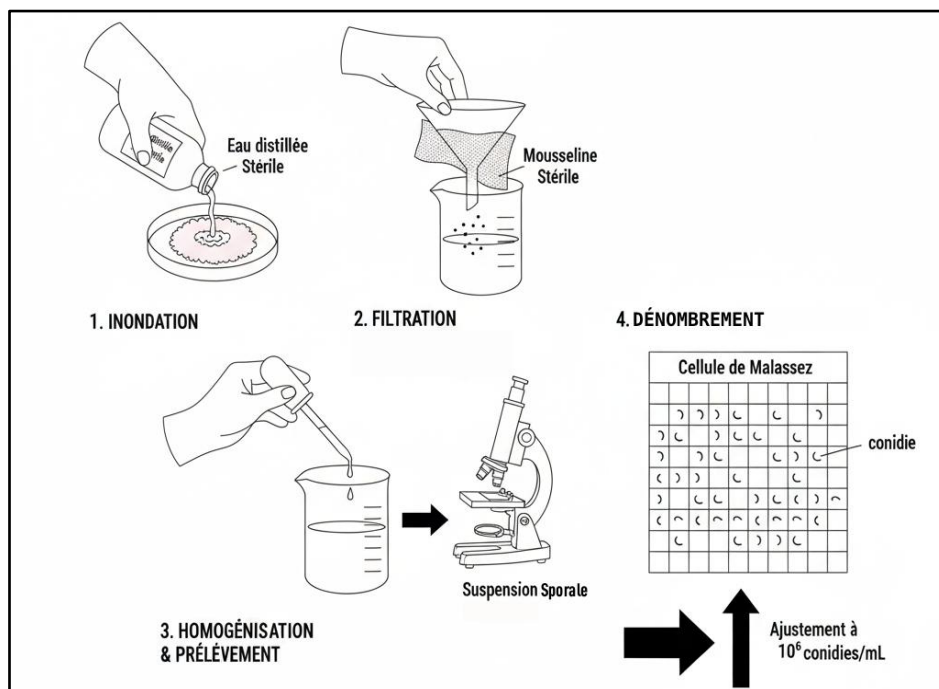


Figure 64 : Protocole de préparation de l'inoculum de *FOC* pour l'inoculation des plantules.

3.2.2.6. Inoculation des plantules

Les plantules âgées de 10 jours sont délicatement déracinées et leurs racines immergées pendant 30 min dans la suspension conidienne de la souche FOC3 (1×10^6 spores/mL) additionnée de Tween 20 à 0,01% (v/v) (Figure 65). Les racines des plantules témoins sont immergées dans l'eau distillée stérile additionnée de Tween 20. Les plantules inoculées et les plantules témoins sont ensuite replantées dans leurs pots respectifs. Elles sont alors exposées en serre à $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ le jour et $18^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ la nuit.



Figure 65 : Inoculation en laboratoire des plantules de pois chiche et de *M. truncatula* avec l'inoculum de *FOC3*.

3.2.2.7. Dispositif expérimental

L'essai est conduit selon un dispositif en blocs aléatoires, comprenant 18 répétitions. Chaque répétition est constituée d'un pot contenant une plantule de pois chiche ou l'une des lignées de *M. truncatula*. Six modalités de traitement sont étudiées :

Lot 1 : Témoin 1- plantules de pois chiche (ILC 3279) traitées à l'eau distillée stérile ;

Lot 2 : Pois chiche (ILC 3279) inoculé avec *FOC3* ;

Lot 3 : Témoin 2 - lignée A17 traitée à l'eau distillée stérile ;

Lot 4 : Lignée A17 inoculée avec *FOC3* ;

Lot 5 : Témoin 3 - lignée F83005.5 traitée à l'eau distillée stérile ;

Lot 6 : Lignée F83005.5 inoculée avec *FOC3*.

3.2.2.8. Suivi des symptômes et notation de la maladie

Les plantules sont observées régulièrement jusqu'au 28^{ème} jour après l'inoculation. Les symptômes sont notés dès leur apparition, toutes les semaines, en utilisant une échelle de 0 à 4 (Tableau 24).

Tableau 24 : Echelle d'évaluation de la sévérité de la maladie

Indice de maladie	Gravité des symptômes sur	
	<i>Medicago truncatula</i> (Originale)	Pois chiche Jiménez Díaz et al., 1989b
0	Plante saine, sans symptômes visibles	Plante saine, sans symptômes visibles
1	Jaunissement et nécroses des cotylédons	Jaunissement léger des feuilles inférieures
2	Jaunissement des feuilles	Jaunissement modéré accompagné d'un léger flétrissement
3	Flétrissement des feuilles	Jaunissement sévère, flétrissement marqué et rabougrissement de la plante
4	Plante desséchée ou morte	Plante desséchée ou morte

3.2.3. Analyses statistiques

Les indices de maladie obtenus à partir des trois génotypes (ILC 3279, A17 et F83005.5) sont soumis à une analyse statistique afin d'évaluer l'effet du génotype et du temps sur la sévérité du flétrissement vasculaire.

Une analyse de variance (ANOVA) à un facteur est réalisée séparément pour chaque date d'observation (J11, J14, J21, J28) afin de tester l'effet du génotype. Une ANOVA à deux facteurs (Jour, Génotype) est appliquée aux données pour analyser simultanément l'effet du temps, l'effet du génotype et leur interaction. Lorsque les différences sont significatives ($p < 0,05$), un test de comparaison multiple de Tukey HSD est utilisé pour identifier les groupes homogènes.

Les résultats sont représentés graphiquement sous forme de moyennes $\pm$ écart-type, via des courbes d'évolution et des diagrammes en barres. L'ensemble des analyses est réalisé sous Python en utilisant les bibliothèques *statsmodels*, *scipy* et *matplotlib*. Le seuil de significativité retenu est $p < 0,05$.

3.3. Résultats et discussion

3.3.1. Evaluation de la maladie chez *M. truncatula*

Les plantules de *Medicago truncatula* (A17 et F83005.5) et de pois chiche (ILC 3279) inoculées par FOC3 ont exprimé des symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire.

Les premiers signes apparaissent chez le pois chiche et cela dès le 11^e jour après l'inoculation, un léger jaunissement des feuilles inférieures (indice 1). Au 14^e jour, le jaunissement s'intensifie et s'accompagne d'un flétrissement des trois premières feuilles de la base (indice 2). À ce stade, les lignées A17 et F83005.5 demeurent asymptomatiques (indice 0) (Figure 67).

A 21 dpi, les plantules de pois chiches sont atteintes d'un jaunissement sévère, un flétrissement, plus un retard de croissance (indice 3). A la même période on note les premiers symptômes chez *M. truncatula* : A17 montre un jaunissement et un flétrissement de la feuille unifoliée, tandis que ses deux premières feuilles brunissent (indice 2). La lignée F83005.5 présente des symptômes plus modérés, limités à quelques nécroses cotylédonaire et à un jaunissement discret des feuilles (indice 2). Les témoins sains (T) des deux espèces restent indemnes (Figure 67).

A 28 dpi, les symptômes atteignent leur maximum chez le pois chiche ; les plantules sont totalement desséchées et mortes (indice 4) (Figure 66). Chez *M. truncatula*, l'intensité varie selon le génotype : A17 présente un jaunissement, des nécroses et un flétrissement quasi complet des feuilles (indice 3), tandis que F83005.5 affection s'est limitée à un jaunissement léger de la plante et quelques nécroses localisées sur la partie supérieure (indice 2), ce qui traduit chez ce génotype une meilleure tolérance à l'infection (Figure 67). Les témoins non inoculés des deux espèces restent exempts de symptômes maladiers.

L'analyse statistique menée sur les indices de sévérité du flétrissement vasculaire met en évidence des différences marquées entre le pois chiche ILC 3279 et les lignées de *M. truncatula* inoculés avec FOC3.

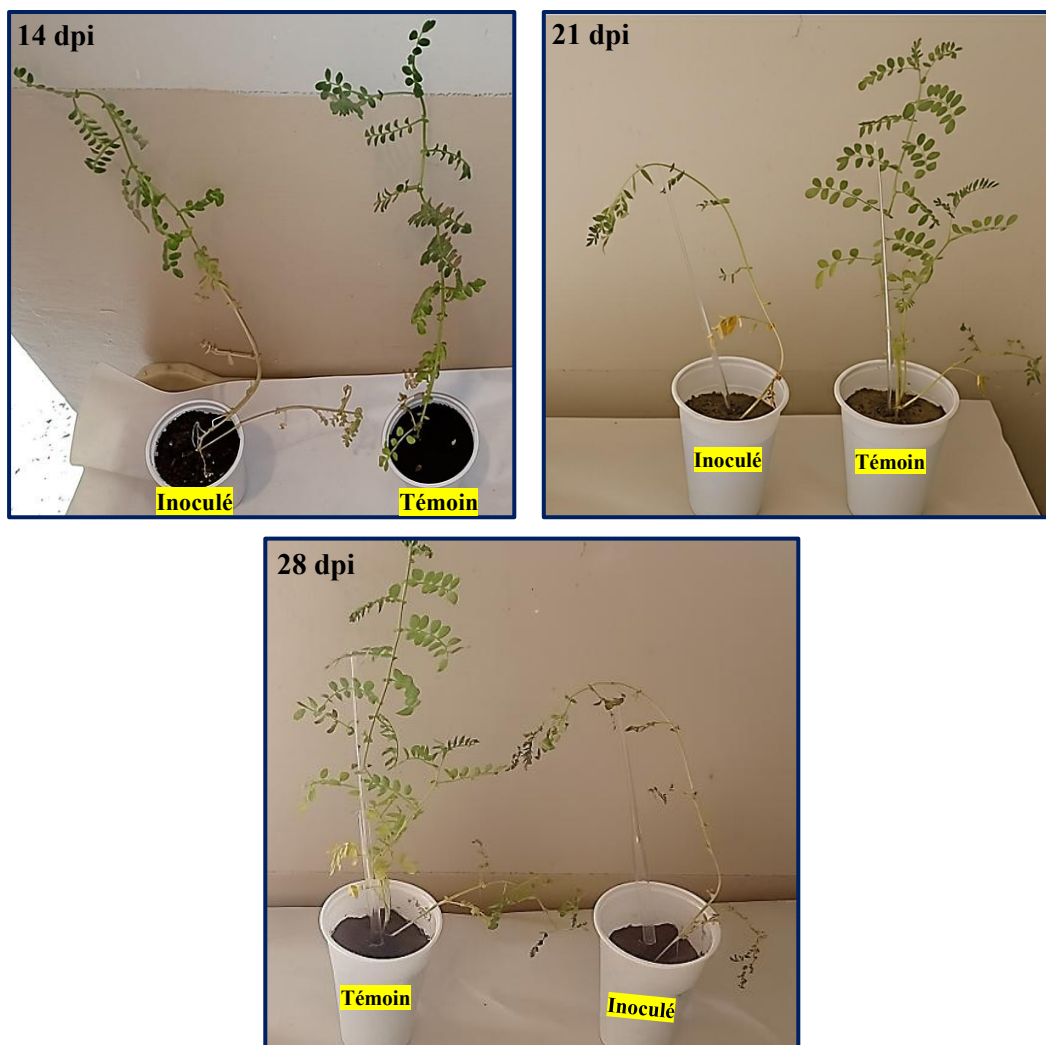


Figure 66 : Evolution dans le temps des symptômes de la fusariose vasculaire chez les plantules de pois chiche (ILC 3279) inoculées avec FOC3 comparativement au témoin non inoculé.

Les analyses de variance monofactoriels (Annexe 6) réalisées pour chaque date de notation des symptômes montrent un effet hautement significatif du facteur espèce dès le 11^e jour après l'inoculation ($p < 0,001$), révélant une divergence précoce dans la réponse des génotypes. À ce stade, le pois chiche présente déjà des symptômes perceptibles, A17 exprime des signes extrêmement légers et F83005.5 demeure totalement asymptomatique (Figure 68).

Cette différenciation s'accroît progressivement aux 14^e et 21^e jours, périodes durant lesquelles les trois génotypes se séparent nettement : le pois chiche manifeste une sensibilité marquée, la lignée A17 a une réaction intermédiaire pendant que F83005.5 se montre tolérant à la maladie (Figure 68).

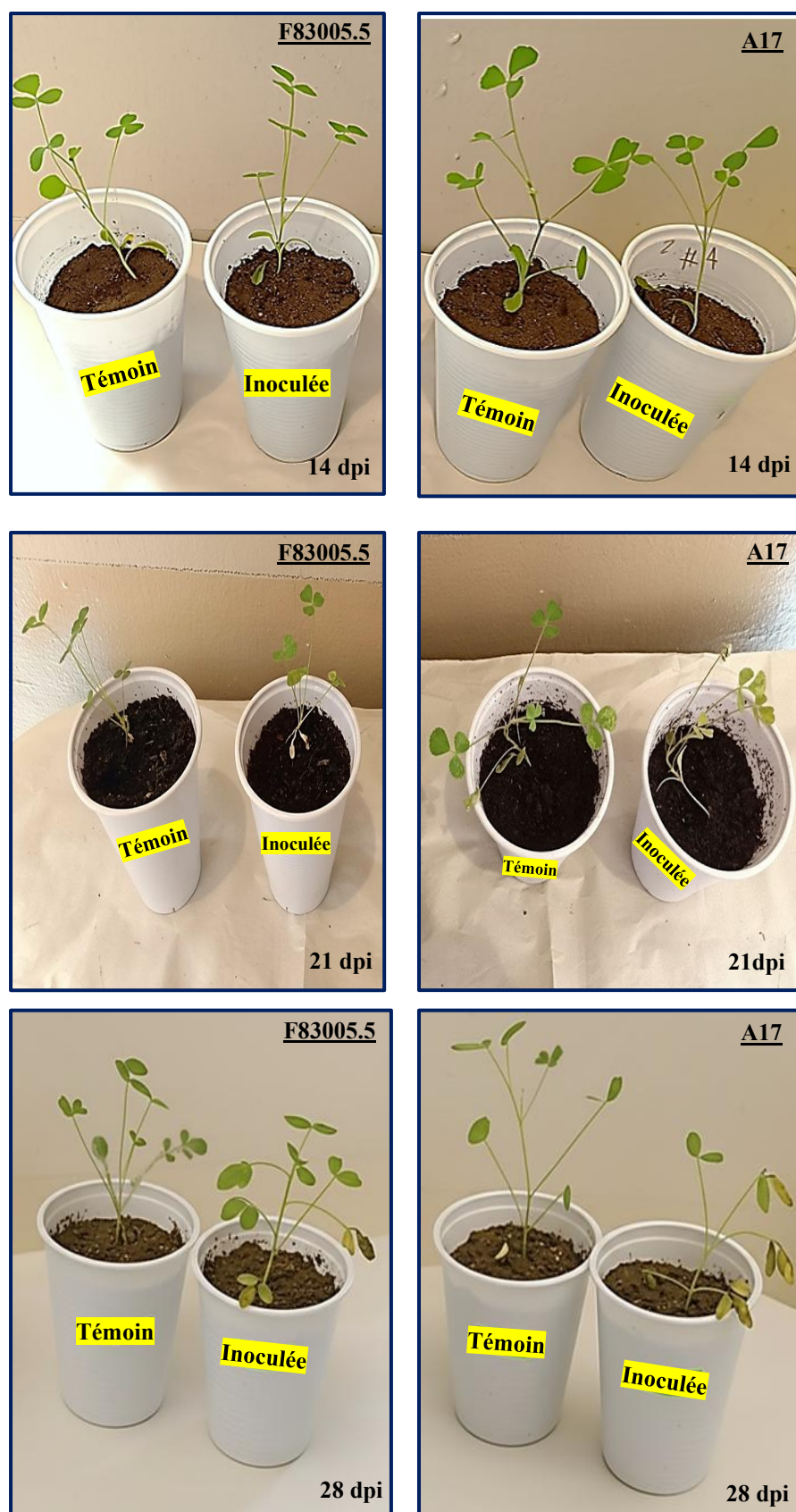


Figure 67 : Evolution dans le temps des symptômes de la fusariose vasculaire chez deux lignées de *M. truncatula* (A17 et F80005.5) inoculées avec FOC3.

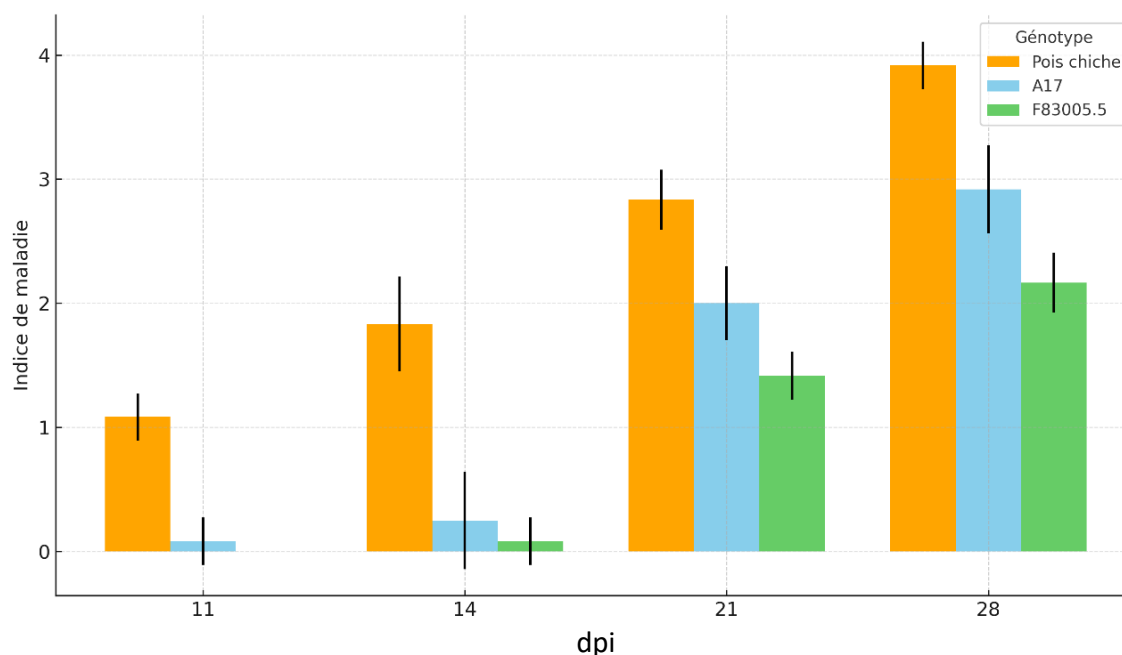


Figure 68 : Comparaison en fonction du temps de l'indice de maladie chez la lignée de pois chiche (ILC 3279) et les lignées de *Medicago* (A17 et F83005.5) inoculées par FOC3 (moyenne $\pm$ Ecart-type).

Ces résultats sont consolidés par l'ANOVA bifactorielle (Annexe 6), qui montre des effets hautement significatifs du Jour ($p < 0,001$) et du Génotype ($p < 0,001$) traduisant respectivement la progression temporelle normale de la maladie et l'existence d'une variabilité génétique marquée dans la sensibilité à FOC3. L'interaction Jour $\times$ Espèce est également significative ($p = 0,0017$), indiquant une dynamique d'évolution de la maladie différente selon le génotype (Figure 69). Tandis que le pois chiche évolue rapidement vers des niveaux élevés de sévérité jusqu'à la mort complète des plantules, la sévérité progresse de manière plus lente chez F83005.5 relativement à la lignée A17. Ces différences dans l'évolution de la cinétique de la maladie confirment que ce ne sont pas seulement les niveaux finaux de sévérité qui varient entre les génotypes, mais probablement leur capacité à freiner ou à ralentir la colonisation fongique au niveau vasculaire.

Sur le plan biologique, la forte sensibilité du pois chiche à FOC3 est cohérente avec la virulence reconnue de cette race dans les régions méditerranéennes (Jiménez-Díaz et al., 2015). A l'inverse, les réponses observées chez *M. truncatula* confirment que cette espèce possède des réponses contrastées au niveau de ses deux génotypes. La tolérance à la maladie se manifeste chez F83005.5, cependant A17 se montre sensible.

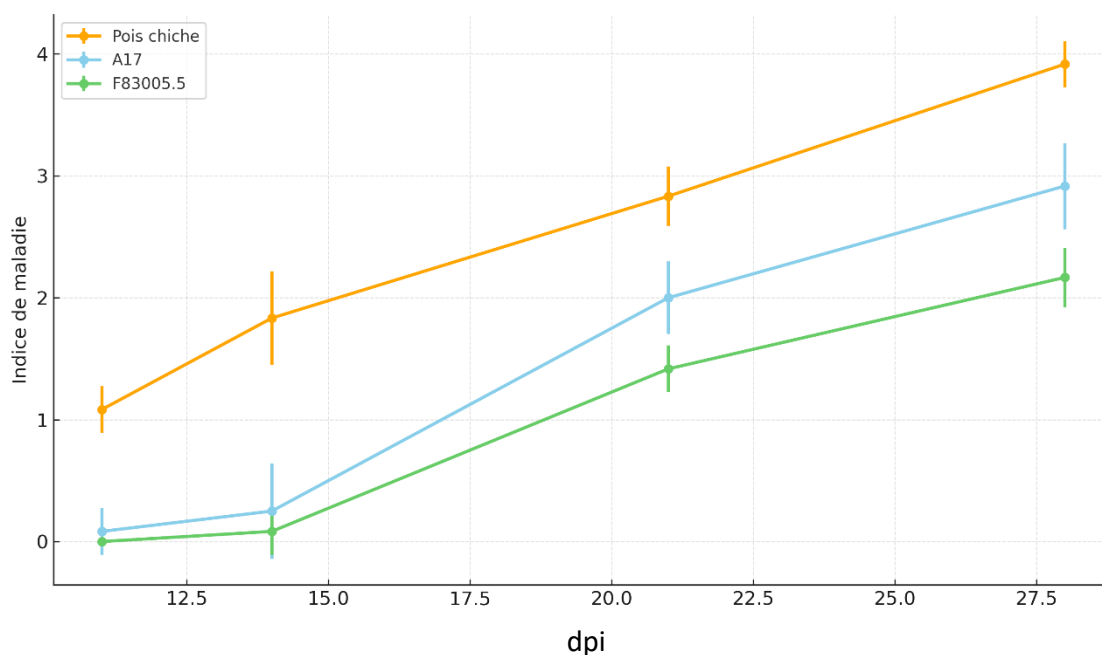


Figure 69 : Dynamique de la maladie induite par FOC3 chez le pois chiche ILC3279 et *Medicago* (A17 et F83005.5).

Des études antérieures (Ramirez-Suero et al., 2010 ; Ben et al., 2013) ont montré que *M. truncatula* réagit précocement aux pathogènes vasculaires en induisant l'accumulation de composés phénoliques, la lignification des parois au niveau des tissus vasculaires et l'expression rapide des PR protéines, limitant ainsi l'installation des pathogènes dans le xylème. Dans notre cas, les réponses contrastées observées entre A17 et F83005.5 s'inscrivent probablement dans ce cadre mais des analyses plus approfondies des mécanismes de défense de *M. truncatula* sont nécessaires pour la compréhension des phénomènes observés.

3.4. Conclusion

Les résultats présentés dans ce chapitre permettent d'établir un pathosystème fonctionnel entre *FOC* et *M. truncatula*. En effet, l'analyse comparative des génotypes infectés met en évidence deux comportements distincts face à l'infection : une sensibilité marquée chez la lignée A17 et une tolérance notable chez la lignée F83005.5.

Cette variabilité phénotypique confirme la pertinence de *M. truncatula* comme modèle d'étude du flétrissement vasculaire. Elle offre la possibilité d'examiner, au sein d'un même système, des réponses contrastées à l'infection.

La tolérance observée chez F83005.5 suggère l'implication de mécanismes de défense efficaces, limitant l'établissement et la progression du pathogène, tandis que la

sensibilité de A17 constitue une référence utile pour caractériser les étapes clés de la colonisation vasculaire.

M. truncatula est une légumineuse modèle, dotée d'un génome bien annoté, de ressources génétiques étendues, ainsi que d'outils de transformation performants. En outre, de nombreuses données omiques (génomiques, transcriptomiques, protéomiques et métabolomiques) sont déjà disponibles pour cette espèce, ceci facilite l'étude approfondie des mécanismes de défense et d'adaptation chez les Fabacées et en particulier chez le pois chiche.

Les connaissances développées chez le modèle *FOC/M. truncatula* seront utilisées pour éclairer les mécanismes de résistance chez le pois chiche.

III. Conclusion générale et Perspectives

Conclusion générale

L'insuffisance de moyens de lutte efficaces contre le flétrissement vasculaire du pois chiche a motivé la présente thèse. Ainsi, deux approches complémentaires ont été développées. La première utilisant des moyens de lutte biologique, vise la recherche et l'étude du pouvoir antagoniste de souches de *Trichoderma*, la seconde relève de la lutte génétique, via l'étude des interactions de *Medicago truncatula* avec *FOC*, afin de mieux élucider les mécanismes de défense impliqués. Les connaissances obtenues sur ce pathosystème *FOC-M. truncatula* pourront être extrapolées au pois chiche et contribuer à l'élaboration des stratégies de lutte intégrée.

Ainsi dans un premier temps, nous avons réalisé des prospections et des prélèvements d'échantillons de plants de pois chiche présentant des symptômes de flétrissement dans la région Nord-Ouest de l'Algérie, où plusieurs travaux antérieurs ont déjà signalé la présence de *FOC*, principalement sur la base des critères morphologiques et de tests de pathogénicité réalisés sur un cultivar sensible. Nous avons donc réalisé des isollements à partir des plantes malades, purifié les isolats obtenus et effectué un test de pathogénicité sur des plantules de pois chiche. Les isolats collectés ont reproduit le symptôme de flétrissement sur les plantules inoculées. L'identification moléculaire et l'analyse de séquences du gène EF1- α via BLASTn a révélé une réalité inattendue : aucun isolat ne correspond à *FOC*. Les isolats appartenaient à deux espèces du genre *Fusarium*, en l'occurrence *F. redolens*, dominante dans les échantillons et *F. solani* ; en plus de la forme spéciale *lactuceae* (*F. oxysporum* f. sp. *lactuceae*).

Confronté à l'absence de *FOC* dans le Nord-Ouest, il était nécessaire d'élargir la prospection vers d'autres régions du pays. La seconde phase d'échantillonnage a été menée dans l'Est algérien. Dans cette région nous avons isolé et identifié après études moléculaires *FOC* à partir du gène EF1- α , *Fusarium oxysporum* et *F. oxysporum* f. sp. *lactuceae*. Fait notable, aucun isolat de *F. redolens* ou *F. solani* n'ont été obtenus, révélant ainsi une structuration géographique nette des populations de *Fusarium* pathogènes du pois chiche.

La cartographie obtenue — établie pour la première fois en Algérie à partir d'isolats caractérisés à la fois morphologiquement et moléculairement — met ainsi en évidence une répartition contrastée : *F. redolens* prédomine dans le Nord-Ouest, absent à l'Est, tandis que *FOC* est majoritairement présent dans l'Est et absent dans l'ouest. Par

ailleurs l'identification pour la première fois de la race 6 de *FOC* en Algérie constitue un résultat majeur au regard de la virulence élevée de cette race.

L'évaluation du potentiel de *Trichoderma* dans la lutte biologique contre *FOC* révèle des résultats intéressants. En effet, les tests réalisés *in vitro* ont mis en évidence la capacité notable de certains isolats à inhiber la croissance mycélienne du pathogène allant pour certains jusqu'à 70 %. Nos résultats ont montré que certains isolats sont dotés de plusieurs mécanismes d'action : inhibition de la croissance, aptitude mycoparasitaire et activité enzymatique marquée chez T13 et T16, notamment via la production de cellulases impliquées dans la dégradation des parois fongiques. Par ailleurs, la forte capacité de T13 à produire de l'acide indole acétique suggère un rôle additionnel dans la stimulation de la croissance des plantules de pois chiche. Ces observations ont justifié la poursuite des tests par des essais *in vivo*, afin de vérifier la transposition de cette efficacité sous serre.

En serre, les isolats de *Trichoderma* T13 et T16 ont réduit la sévérité du flétrissement vasculaire et amélioré l'état physiologique des plantules de pois chiche, par une augmentation de l'indice NBI et de l'indice Chll et la stimulation de leur croissance racinaire.

L'identification moléculaire des isolats T13 et T16 révèle leur appartenance à *T. harzianum*. Cette dernière est largement documentée comme agent de lutte biologique efficace contre les champignons telluriques, notamment les espèces du genre *Fusarium*. Dans l'ensemble, les souches T13 et T16 disposent de mécanismes complémentaires de biocontrôle, faisant d'eux des candidats prometteurs pour la mise en place de stratégies de lutte biologique durables et adaptées aux conditions locales. Dans l'avenir, il serait intéressant de tester ces souches par la méthode d'enrobage de semences ou de Biopriming.

L'analyse des réactions de *M. truncatula* vis-à-vis de *FOC* a permis de mettre en évidence un pathosystème fonctionnel et d'explorer les réponses contrastées de deux génotypes : A17 qui s'avère sensible à l'infection, et F83005.5 qui montre une tolérance. Cette variabilité phénotypique confirme la pertinence de *M. truncatula* comme modèle d'étude du flétrissement vasculaire et offre un système expérimental permettant d'analyser, dans un même cadre, les étapes de colonisation du pathogène ainsi que les stratégies de défense mises en place par la plante.

Bien que les investigations n'aient pas pu être étendues aux analyses moléculaires avancées, telles que l'expression génique ou la RT-qPCR ciblant des gènes clés des voies de défense (PR-protéines, enzymes de renforcement pariétal, voies SA/JA/ET), en raison de contraintes techniques, et la non disponibilité du matériel nécessaire à leur réalisation, les résultats obtenus à l'échelle phénotypique constituent une base solide pour de futurs travaux visant à décrypter plus finement les mécanismes de résistance. Nous avons mis en place une échelle de notation de la maladie grâce à laquelle le suivi des symptômes et les notations de la sévérité ont été réalisées. Nous avons établi l'existence d'un pathosystème d'étude simple et fonctionnel pour les futures recherches sur la compréhension des mécanismes de défense du pois chiche.

Les résultats obtenus s'inscrivent dans la perspective de développer des stratégies innovantes de gestion du flétrissement vasculaire, en favorisant une protection durable et respectueuse de l'environnement, contribuant ainsi à la valorisation durable de la culture du pois chiche en Algérie, dans une approche d'agriculture durable.

Perspectives

Les résultats obtenus dans ce travail ouvrent plusieurs perspectives de recherche visant à approfondir la compréhension du flétrissement vasculaire du pois chiche et à renforcer les approches de lutte durable. Il serait tout d'abord pertinent d'étendre la prospection à une échelle plus large afin de mieux cartographier la diversité des espèces et des races de *Fusarium* présentes dans les principales zones de production, en intégrant des paramètres agro-écologiques tels que les types de sol, les systèmes de culture et les variétés cultivées. Une caractérisation génomique approfondie des isolats identifiés permettrait d'affiner la compréhension de la structure des populations pathogènes et de leurs dynamiques évolutives.

Dans la pratique, la mise en œuvre d'essais de lutte biologique *in situ* contre *FOC* avec les isolats de *Trichoderma* à grande échelle en conditions de champ constitue une étape essentielle pour valider le potentiel des isolats les plus performantes identifiées dans ce travail. Il serait également important de caractériser sur la base biomoléculaire l'ensemble des isolats de *Trichoderma* présentant une action sur les souches de *FOC*, afin d'obtenir une identification précise des espèces impliquées, d'évaluer leur diversité génétique et de sélectionner les génotypes présentant le plus fort potentiel de biocontrôle.

Dans cette même logique, il serait pertinent de tester différentes doses de l'inoculum ainsi que plusieurs modes de positionnement des isolats de *Trichoderma* (enrobage de semences, application au sol, inoculation en pré- ou post-levée), afin d'optimiser leur efficacité en fonction des conditions pédoclimatique et des stades de développement du pois chiche.

Pour l'exploitation optimale du potentiel des souches T13 et T16 dans la lutte contre la fusariose vasculaire du pois chiche, leur application combinée en une même formulation pourrait conduire à des effets synergiques, renforçant à la fois la suppression du pathogène et la stimulation de la croissance de la plante hôte. Une telle approche mérite d'être explorée dans de futurs travaux afin d'évaluer le potentiel accru de biocontrôle résultant de l'association de souches aux modes d'action complémentaires.

Ces essais multi-sites permettraient d'évaluer leur efficacité réelle dans des environnements contrastés, ainsi que leur impact sur la vigueur, la physiologie et le rendement du pois chiche.

Par ailleurs, l'étude des mécanismes de défense de la plante face au *FOC* pourrait être approfondie grâce à des analyses d'expression génique par RT-qPCR, ciblant des gènes clés des voies de défense (PR-protéines, enzymes de renforcement pariétal, voies SA/JA/ET). L'exploration de l'expression différentielle de ces gènes chez *Medicago truncatula* offrirait la possibilité d'identifier des orthologues correspondants chez le pois chiche et d'extrapoler les mécanismes mis en évidence à l'espèce cultivée.

IV. Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbo S, Gopher A (2020) Plant domestication in the Neolithic Near East: The humans-plants liaison. *Quaternary Science Reviews* 242: 106412

Abbo, S., Berger, J., & Turner, N. C. (2003). Evaluation of cultivated chickpea: Four bottlenecks limit diversity and constrain adaptation. *Functional Plant Biology*, 30(11), 1081–1087.

Abdel-Monaim MF, 2010. Integrated management of damping-off, root and/or stem rot diseases of chickpea with sowing date, host resistance and bioagents. *Egyptian Phytopathology* 38: 45-61.

Abdelguerfi, A., & Laouar, M. (1999, septembre). Aspect of the variability of *Medicago* intertexta populations and their relations with factors of the origin environment. Communication présentée au XIII Eucarpia *Medicago* spp. Group Meeting: Lucerne and Medics for the XXI Century, Pérouse, Italie, 13–16 septembre.

Abdesselem S.M., Nisserine H.K., Mebrouk K., Jamal E.H., Jos Eacute S., Eduardo G., 2016. Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from tomato plants in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* 10, 1156–1163. <https://doi:10.5897/ajmr2016.8161>

Agarwal, D. K., Kulshreshtha, M., Bhalla, K., & Sarbhoy, A. K. (2003). *Peronospora ciceris* — a new species on *Cicer arietinum*. *Journal of Mycopathological Research*, 41(1), 71-73.

Agati, G., Azzarello, E., Pollastri, S., & Tattini, M. (2012). Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science*, 196, 67–76.

Akbari, S. I., Prismantoro, D., Permadi, N., Rossiana, N., Miranti, M., Mispan, M. S., Mohamed, Z., & Doni, F. (2024). Bioprospecting the roles of *Trichoderma* in alleviating plants' drought tolerance: Principles, mechanisms of action, and prospects. *Microbiological Research*, 283, 127665.

Akritidis, P., Mylona, P. V., Tsaftaris, A. S., & Polidoros, A. N. (2009). Genetic diversity assessment in Greek *Medicago truncatula* genotypes using microsatellite markers. *Biologia Plantarum*, 53(2), 343–346.

Alabouvette, C., Olivain, C., & Steinberg, C. (2009). Biological control of plant diseases: the soil suppressiveness perspective. *Annual Review of Phytopathology*, 47, 143–172.

Althaf HSK, Srinivas P (2013) Association of arbuscular mycorrhizal fungi and other rhizosphere microbes with different medicinal plants. *Res. J. Biotechnol* 8(6):24–28.

Altieri, M. A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 74(1–3), 19–31. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00028-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00028-6)

Altomare, C., Norvell, W. A., Björkman, T., & Harman, G. E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 2926–2933.

Ameline-Torregrosa, C., Cazaux, M., Danesh, D., Chardon, F., Cannon, S. B., Esquerré-Tugayé, M.-T., Dumas, B., & Young, N. D. (2008a). Genetic dissection of resistance to anthracnose and powdery mildew in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 21(1), 61–69.

Ameline-Torregrosa, C., Wang, B.-B., O’Bleness, M. S., Deshpande, S., Zhu, H., Roe, B., Young, N. D., & Cannon, S. B. (2008). Identification and characterization of nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes in the model plant *Medicago truncatula*. *Plant Physiology*, 146(1), 5–21.

Andrzejak, R., & Janowska, B. (2022). *Trichoderma* spp. improves flowering, quality, and nutritional status of ornamental plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), 15662.

Aouar, L. (2012). Contribution à l’étude de la lutte biologique contre le flétrissement fusarien chez la tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) au moyen de *Trichoderma harzianum*. [Mémoire de magister, Université de Mostaganem].

Arraouadi, S., Badri, M., Abdelly, C., & Aouani, M. E. (2011). Variability of salt stress response among Tunisian natural populations of *Medicago truncatula* (Fabaceae) using the salt response index (SRI) ratio. *African Journal of Biotechnology*, 10(54), 11186–11195.

Arvayo-Ortiz, R. M., Esqueda, M., Acedo-Félix, E., Sánchez, A., & Gutiérrez, A. (2011). Morphological variability and races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* associated with chickpea (*Cicer arietinum*) crops. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6, 114–121.

Aware, M. P., & Nene, Y. L., & Natarajan, M. (1996). Survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathologia Mediterranea*, 35(1), 9–12. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-15035

Ayana, A., Hailu, N., & Taye, W. (2019). Screening desi and kabuli chickpea varieties against *Fusarium* wilt resistance in West Gojam, Northwestern Ethiopia. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, 10(2), 474.

- Azil N., Stefanczyk E., Sobkowiak S., Chihat S., Boureghda H., Sliwka, J. 2021. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. Associated with tuber dry rot and wilt of potato in Algeria. *European Journal Plant Pathology*. 159, 495–509. doi: 10.1007/s10658-020-02177-5
- Baayen RP., Gams W., 1988. The Elegans fusaria causing wilt disease of carnation. I. Taxonomy. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 94: 273-288.
- Balasubramanian V, Sinha SK. Nodulation and nitrogen fixation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salt stress. *J Agric Sci*. 1976;87(3):465-6.
- Ban, G., Akanda, S., & Maino, M. (2022). Efficacy of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* on bean and tomato plants. *Annals of Tropical Research*, 44(1). <https://doi.org/10.32945/atr4413.2022>
- Barbetti, M. J. (1995). Resistance in annual *Medicago* species to *Phoma medicaginis* and *Leptosphaerulina trifolii* on herbage under field conditions. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 35(2), 209–214.
- Barker, D. G., Bianchi, S., Blondon, F., Dattée, Y., Duc, G., Essad, S., Flament, P., Gallusci, P., Génier, G., Guy, P., Muel, X., Tourneur, J., Dénarié, J., & Huguet, T. (1990). *Medicago truncatula*, a model plant for studying the molecular genetics of the Rhizobium–legume symbiosis. *Plant Molecular Biology Reporter*, 8(1), 26–41.
- Barker, D. G., et al. (1990). *Medicago truncatula*, a model plant for studying the molecular genetics of legume biology. *Plant Molecular Biology Reporter*, 8(1), 26–31. <https://doi.org/10.1007/BF02668879>
- Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4th ed.). Burgess Publishing Company.
- Bar, I., Sambasivam, P., Davidson, J. A., & Ford, R. (2021). *Ascochyta blight of chickpea: Biology, pathogenicity, and disease management*. *Phytopathology*, 111(6),
- Batnini, M., Haddoudi, I., Taamali, W., Djebali, N., Badri, M., Mrabet, M., & Mhadhbi, H. (2021). *Medicago truncatula* in interaction with *Fusarium* and *Rhizoctonia* phytopathogenic fungi: Fungal aggressiveness, plant response biodiversity and character heritability indices. *The Plant Pathology Journal*, 37(4), 315–328.
- Batnini, M., López-Gómez, M., Hidalgo-Castellanos, J., Palma, F., Jiménez-Jiménez, S., Marín-Peña, A. J., & Mhadhbi, H. (2023). *Medicago truncatula*–*Sinorhizobium meliloti*–*Fusarium oxysporum* tripartite interaction alters nodulation and nitrogen fixation. *Journal of Plant Growth Regulation*, 42, 7151–7163.

Bazzano, L. A., Thompson, A. M., Tees, M. T., Nguyen, C. H., & Winham, D. M. (2011). Non-soy legume consumption lowers cholesterol levels: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 21(2), 94–103.

Belabid, A. (2003). Étude de la variabilité de *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*, agent du bayoud du palmier dattier, et de quelques aspects de la résistance variétale chez le palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L.) [Thèse de doctorat]. Université d'Oran, Algérie.

Ben, C., Toueni, M., Montanari, S., Tardin, M.-C., Fervel, M., Negahi, A., Saint-Pierre, L., Mathieu, G., Gras, M.-C., Noël, D., Prospéri, J.-M., Pilet-Nayel, M.-L., Baranger, A., Huguet, T., Julier, B., Rickauer, M., & Gentzbittel, L. (2012). Natural diversity in the model legume *Medicago truncatula* allows identifying distinct genetic mechanisms conferring partial resistance to *Verticillium* wilt. *Journal of Experimental Botany*, 64(2), 695–709.

Benbrook, C. M., Groth, E., Halloran, J. M., Hansen, M. K., & Marquardt, S. (1996). Pest management at the crossroads. Consumers Union of United States, Yonkers, NY.

Benfreha F.Z., Henni D.E., Merzoug A., 2014. Fusarium wilt of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Northwest Algeria. *African Journal of Agricultural Research*. Vol. 9(1), pp. 168-175, [https://doi: 10.5897/AJAR2013.6694](https://doi.org/10.5897/AJAR2013.6694).

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7(4), 249–260.

Berg, G., Zachow, C., Lottmann, J., Götz, M., Costa, R., & Smalla, K. (2005). Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8), 4203–4213. Haut du formulaire

Berger, J. D. (2011). Chickpea evolution has selected for contrasting phenological mechanisms among different habitats. *Euphytica*, 180(1), 1–15.

Berger, J. D. (2014). An evolutionary perspective on the role of phenology in the specific adaptation of chickpea. *Legumes Perspectives*, 3, 8–11.

Besancon, 2009. Crdp2.ac-besancon.fr/.../medicago_truncatula.htm.

Bissett J, Gams W, Jaklitsch W, Samuels GJ. 2015. Accepted *Trichoderma* names in the year 2015. *IMA Fungus* 6(2):263-95.

Bogale, M., Wingfield, B. D., Wingfield, M. J., & Steenkamp, E. T. (2007). Species-specific primers for *Fusarium redolens* and a PCR-RFLP technique to distinguish among three clades of *Fusarium oxysporum*. *FEMS Microbiology Letters*, 271(1), 27–32.

Booth C., 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK. Reprinted 1977. 237pp.

Booth C., 1977. *Fusarium* Laboratory Guide to the Identification of the Major Species. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, 58 pp.

Bos, L., Hampton, R. O., & Makkouk, K. M. (1988). Viruses and virus diseases of pea, lentil, faba bean and chickpea. Plant Virus Disease of Legumes. ICARDA, Aleppo, Syria.

Botkin, J. R., Curtin, S. J., Jaiswal, P., Wu, G. A., Chen, J., & Town, C. D. (2024). Genome assembly of *Medicago truncatula* accession SA27063 provides insight into spring black stem and leaf spot disease resistance. BMC Genomics, 25,204.

Bouhadida M., Jendoubi W., Gargouri S., Beji M., Kharrat M., Chen W., 2017. First report of *Fusarium redolens* causing Fusarium yellowing and wilt of chickpea in Tunisia. Plant disease 101. [https://doi: 10.1094/PDIS-08-16-1114-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-08-16-1114-PDN).

Bourouh, L. N., Chamekh, N., Benazzouz, A., & Harkat, F. (2023). Study on the diversity of genotypic varieties of durum wheat in the sub-humid region of El Harrouch (Algeria). Algerian Journal of Agricultural Sciences and Technology, 4(1), 45-54.

Bouslama, M. (1980). Chickpea improvement in Tunisia. In Proceedings of the International Workshop on Chickpea Improvement (pp. 277–280). Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

Brewer, J. G. (1960). The use of the agar plate method for measuring the linear growth of fungi. Phytopathology, 50, 195–198.

Brick, J. M., Bostock, R. M., & Silverstone, S. E. (1991). Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. Applied and Environmental Microbiology, 57(2), 535–538

Brotman, Y., Landau, U., Cuadros-Inostroza, Á., Takayuki, T., Fernie, A. R., Chet, I., Viterbo, A., & Willmitzer, L. (2013). *Trichoderma*-plant root colonization: Escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance. PLoS Pathogens, 9(3), e1003221.

Burgess, L. W., Summerell, B. A., Bullock, S., Gott, K. P., & Backhouse, D. (1994). Laboratory manual for *Fusarium* research (3rd ed.). Sydney, Australia: *Fusarium* Research Laboratory, Department of Crop Sciences, University of Sydney & Royal Botanic Gardens. ISBN 0867588497

Burns, M., Epstein, B., & Burghardt, L. T. (2021). Comparison of nodule endophyte composition, diversity, and gene content between *Medicago truncatula* genotypes. Phytobiomes Journal, 5(4), 400–407. <https://doi.org/10.1094/PBIOMES-10-20-0077-R>

Butler, E. J. (1918). Fungi and disease in plants: An introduction to the diseases of field and plantation crops, especially those of India and the East. Calcutta, India: Thacker, Spink & Co.

Calatayud, P.-A. (2013, janvier). La lutte biologique, stratégie durable. Montpellier, France : CIRAD.

Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). Microbiology: A Laboratory Manual (10^e éd.). Pearson Education.

Carbone I., Kohn L.M., 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91:553–556. [https://doi. Org / 10. 2307 / 3761358](https://doi.org/10.2307/3761358)

Carter, M. R., & Gregorich, E. G. (Eds.). (2007). Soil Sampling and Methods of Analysis (2^e éd.). CRC Press/Taylor & Francis.

Cervantes-Pérez, S. A., Thibivilliers, S., Laffont, C., Farmer, A. D., Frugier, F., & Libault, M. (2022). Cell-specific pathways recruited for symbiotic nodulation in the *Medicago truncatula* legume. *Molecular Plant*, 15(12), 1868–1888.

Chabaud, M., de Carvalho-Niebel, F., & Barker, D. G. (2003). Efficient transformation of *Medicago truncatula* cv. Jemalong using the hypervirulent *Agrobacterium tumefaciens* strain AGL1. *Plant Cell Reports*, 22(1), 46–51.

Chabaud, M., Genre, A., Sieberer, B. J., Faccio, A., Fournier, J., Novero, M., Barker, D. G., & Bonfante, P. (2011). Arbuscular mycorrhizal hyphopodia and germinated spore exudates trigger Ca²⁺ spiking in the legume and nonlegume root epidermis. *New Phytologist*, 189(1), 347–355.

Chalie-U, R., Jakhar, S. R., Mitra, N. G., Baghel, S. S., Sahu, R. K., & Dwivedi, B. S. (2025). Impact of *Trichoderma viride* as bio-stimulator on nodule enumeration, nutrient quality and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Central India. *Legume Research*, 48(3), 456–461.

Chattopadhyay, S. B., & Sen Gupta, P. K. (1967). Studies on wilt diseases of pulses I: Variation and taxonomy of *Fusarium* spp. associated with the wilt disease of pulses. *Indian Journal of Mycological Research*, 5, 45–53.

Chaverri, P., Branco-Rocha, F., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T., & Samuels, G. J. (2015). Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. *Mycologia*, 107(3), 558–590.

Chehri K.h., Sattar H.A., 2018. Detection of fumonisin chemotype produced by *Fusarium proliferatum* isolated from nuts in Iraq using specific PCR assays. *Biological Journal of Microorganism*. 24:21-27.

Chen L.H., Huang X.Q., Yang X.M., Shen Q.R., 2013. Modeling the effects of environmental factors on the population of *Fusarium oxysporum* in cucumber continuously cropped soil. *Communications in Soil Science and Plant analysis*. 44: 2219-2232.

Chohan, S. A., et al. (2024). *Trichoderma*-based formulations control the wilt disease of chickpea (*Cicer arietinum* L.) caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* better when inoculated as bio-priming. *PeerJ*, 12, e17835 <https://doi.org/10.7717/peerj.17835>

Climate-Data.org. (2023). Climat de Skikda (Algérie) – Classification Csa selon Köppen. Consulté sur <HTTPS://FR.CLIMATE-DATA.ORG>

Climate-Data.org. (2024). Climat : Aïn Arnat, Algérie. Consulté en octobre 2025, sur <HTTPS://FR.CLIMATE-DATA.ORG/AFRIQUE/ALGERIE/SETIF/AIN-ARNAT-43589/>

Climates to Travel. (2024). Climate of Skikda, Algeria. Consulté sur <HTTPS://WWW.CLIMATESTOTRAVEL.COM>

Colditz, F., & Braun, H.-P. (2010). *Medicago truncatula* proteomics. *Journal of Proteomics*, 73(10), 1974–1985.

Compant, S., et al. (2005) Use of Plant Growth-Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Diseases: Principles, Mechanisms of Action, and Future Prospects. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4951-4959. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>

Conrath, U., Beckers, G. J. M., Langenbach, C. J. G., & Jaskiewicz, M. R. (2015). Priming for enhanced defense. *Annual Review of Phytopathology*, 53, 97–119.

Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 149(3), 1579–1592.

Contreras-Cornejo, H. A., Schmoll, M., Esquivel-Ayala, B. A., González-Esquivel, C. E., Rocha-Ramírez, V., & Larsen, J. (2024). Mechanisms for plant growth promotion activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystems. *Microbiological Research*, 281, 127621.

Cook, R. J. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 31, 53–80. Haut du formulaire

Cook, R. J., & Baker, K. F. (1983). The nature and practice of biological control of plant pathogens. St. Paul, MN: American Phytopathological Society.

Couteaudier Y., Alabouvette C., 1990. Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation with carbon utilization. *FEMS Microbiology Ecology* 74: 261-268.

Croser, J. S., Clarke, H. J., Siddique, K. H. M., & Khan, T. N. (2010). Low-temperature stress: Implications for chickpea (*Cicer arietinum* L.) improvement. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 22(2), 185–219.

Daroui, F. (2018). L'influence des pratiques culturales sur les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols dans deux régions d'Algérie : cas de Annaba et Sétif. Mémoire de Magister, Université Badji Mokhtar d'Annaba.

Davet, P., & Rouxel, F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. Paris : Éditions INRA. 178 p. ISBN : 2-7380-0715-9.

Debbi, A. (2009). Étude de la diversité génétique de *Fusarium oxysporum* Schlencht.: Fr. f. sp. *ciceris* (Padwick) Matuo & K. Sato, agent du flétrissement du pois chiche (Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Algérie).

Dehariya K., Shukla A., Sheikh I.A., Vyas D. (2015) *Trichoderma* and arbuscular mycorrhizal fungi based biocontrol of *Fusarium udum* butler and their growth promotion effects on pigeon pea. *J Agric Sci Technol* 17:505–517.

Devasirvatham, V., Gaur, P. M., Mallikarjuna, N., Tokachichu, R. N., Trethowan, R. M., & Tan, D. K. Y. (2012). Effect of high temperature on the reproductive development of chickpea genotypes under controlled environments. *Functional Plant Biology*, 39(12), 1009–1018.

Djebali, N. (2008). Étude des interactions entre *Rhizobium meliloti* et *Medicago truncatula* en conditions de stress hydrique. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 3(1), 47–53.

Djebali, N., Mhadhbi, H., Jacquet, C., Huguet, T., & Aouani, M. E. (2007). Involvement of hydrogen peroxide, peroxidase, and superoxide dismutase in response of *Medicago truncatula* lines differing in susceptibility to *Phoma medicaginis* infection. *Journal of Phytopathology*, 155(10), 633–640.

Doohan F.M., Brennan J., Cooke B.M., 2003. Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. *European Journal of Plant Pathology* 109: 755–768. <https://doi.org/10.1023/A:1026090626994>

Dou, K., Lu, Z., Wu, Q., Ni, M., Yu, C., Wang, M., Li, Y., Wang, X., Xie, H., Chen, J., & Zhang, C. (2020). MIST: A multilocus identification system for *Trichoderma*. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(18), e01532-20.

Doyle, J. J., & Luckow, M. A. (2003). The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiology*, 131(3), 900–910. <https://doi.org/10.1104/pp.102.018150>

Druzhinina, I. S., & Kubicek, C. P. (2005). Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: From aggregate species to species clusters? *Journal of Zhejiang University Science B*, 6(2), 100–112.

Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley, C. M., Monte, E., Mukherjee, P. K., Zeilinger, S., Grigoriev, I. V., & Kubicek, C. P. (2011). *Trichoderma*: The genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749–759.

Dubey, S. C., Madugula, S., & Singh, B. K. (2007). Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. *Biological Control*, 40(1), 118–127.

Duranti, M. (2006). Grain legume proteins and nutraceutical properties. *Fitoterapia*, 77(2), 67–82.

Dutta, P., Mahanta, M., Singh, S. B., Thakuria, D., Deb, L., Kumari, A., Upamanya, G. K., Boruah, S., Dey, U., Mishra, A. K., Vanlaltani, L., Vijay Reddy, D., Heisnam, P., & Pandey, A. K. (2023). Molecular interaction between plants and *Trichoderma* species against soil-borne plant pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1145715.

Edel-Hermann V., Gautheron N., Steinberg C., 2012. Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* and related species pathogenic on tomato in Algeria and other Mediterranean countries. *Plant Pathology* 61: 787-800. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02551.x>

Edel-Hermann V., Lecomte C., 2019. Current status of *Fusarium oxysporum* formae speciales and races. *Phytopathology* 109: 512-530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>

Elad Y., Baker R., 1985b. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospores germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 75: 1053-1059.

El Aoufir, A. (2001). Étude du flétrissement vasculaire du pois chiche (*Cicer arietinum*) causé par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*: Évaluation de la fiabilité de l'analyse isoenzymatique et de la compatibilité végétative pour la caractérisation des races physiologiques (Thèse de doctorat, Université Laval). Québec, Canada: Université Laval.

El-Katatny, M. H., Soliman, Z. M., & Alharbi, S. A. (2019). Antagonistic activity of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and its enzymatic and molecular characterization. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29, 1–11.

El-Komy, M. H., Saleh, A. A., Eranthodi, A., & Molan, Y. Y. (2015). Characterization of novel *Trichoderma asperellum* isolates to select effective biocontrol agents against tomato *Fusarium* wilt. *The Plant Pathology Journal*, 31(1), 50–60.

El-Mougy, N. S., & Abdel-Kader, M. M. (2004). Influence of environmental conditions on the incidence of chickpea wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 32(1–2), 65–75.

Ellwood, S. R., Kamphuis, L. G., & Oliver, R. P. (2006). Identification of sources of resistance to *Phoma medicaginis* isolates in *Medicago truncatula* SARDI core collection accessions, and multigene differentiation of isolates. *Phytopathology*, 96(12), 1330–1336.

Elías, R., Arcos, O., & Arbeláez, G. (1993). Estudio del antagonismo de algunas especies de *Trichoderma* aisladas de suelos colombianos en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. *Agronomía Colombiana*, 10(1), 52–61.

Emmert, E. A. B., & Handelsman, J. (1999). Biocontrol of plant disease: A (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiology Letters*, 171(1), 1–9.

FAO. (2022). FAOSTAT statistical database. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Faramarzpour, A., Dezhsetan, S., Hassaneian Khoshro, H., Mirdar Mansuri, R., Pouralibaba, H. R., & Shobbar, Z.-S. (2025). The transcriptional response to yellow and wilt disease, caused by race 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in two contrasting chickpea cultivars. *BMC Genomics*, 26, 106.

Fartash, A. H., Ben, C., Mazurier, M., Ebrahimi, A., Ghalandar, M., Gentzbittel, L., & Rickauer, M. (2023). *Medicago truncatula* quantitative resistance to a new strain of *Verticillium alfalfae* from Iran revealed by a genome-wide association study. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1125551.

Felsenstein J., 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* 39:783-791.

Ficcadenti N., Sestili S., Annibali S., Campanelli G., Belisario A., ... Corazza L., 2002. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* Race 1, 2 in Muskmelon Lines. *Plant Disease*, 86:897-900.

Fikre, A., & Bekele, D. (2020). Chickpea breeding and crop improvement in Ethiopia: Past, present and the future. *Universal Journal of Agricultural Research*, 8(2), 33–40.

Foresto, J. V., Rojas, M. J., Scandiani, M. M., & Carmona, M. A. (2023). Epidemiology and integrated management of Ascochyta blight of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Crop Protection*, 165, 106149.

Friesen, M. L., Cordeiro, M. A., Penmetsa, R. V., Badri, M., Huguet, T., Aouani, M. E., Cook, D. R., & Nuzhdin, S. V. (2010). Population genomic analysis of Tunisian *Medicago truncatula* reveals candidates for local adaptation. *The Plant Journal*, 63(4), 623–635.

Frugoli J., Harris J., 2001. *Medicago truncatula* on the move! *Plant Cell* 13: 458-63. Choi H.K., Kim D., Uhm T., Limpens E et al., 2004a. A sequence-based genetic map of *Medicago truncatula* and comparison of marker colinearity with *M. sativa*. *Genetics* 166: 1463–1502.

Gams, W., & Bissett, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. In C. P. Kubicek & G. E. Harman (Eds.), *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 1: Basic Biology, Taxonomy and Genetics (pp. 3–34). London: Taylor & Francis.

Gao H., Beckman C.H., Mueller W.C., 1995. The rate of vascular colonisation as a measure of the genotypic interaction between various cultivars of tomato various formae or races of *Fusarium oxysporum*. *Physiological Molecular Plant Pathology*, 46:29-43.

Gao, L. L., Kamphuis, L. G., Kakar, K., Edwards, O. R., Udvardi, M. K., & Singh, K. B. (2010). Identification of potential early regulators of aphid resistance in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 186(4), 980–994.

Garnica-Vergara, A., Barrera-Ortiz, S., Muñoz-Parra, E., Raya-González, J., Méndez-Bravo, A., Macías-Rodríguez, L., Ruiz-Herrera, L. F., & López-Bucio, J. (2016). The volatile 6-pentyl-2H-pyran-2-one from *Trichoderma atroviride* regulates *Arabidopsis thaliana* root morphogenesis via auxin signaling and ETHYLENE INSENSITIVE 2 functioning. *New Phytologist*, 209(4), 1496–1512.

Gatch E.W., du Toit L.J., 2017. Limestone-mediated suppression of Fusarium wilt in spinach seed crops. *Plant Disease*. 101:81-94. [https://doi: 10.1094/PDIS-04-16-0423-RE](https://doi.org/10.1094/PDIS-04-16-0423-RE)

Gaur, P. M., Krishnamurthy, L., & Kashiwagi, J. (2008). Improving drought-avoidance root traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.): Current status of research at ICRISAT. *Plant Production Science*, 11(1), 3–11.

Gaur, P. M., Samineni, S., Thudi, M., Tripathi, S., Sajja, S., Jayalakshmi, V., Mannur, D. M., Vijayakumar, A. G., Ganga Rao, N. V. P. R., Ojiewo, C. O., Fikre, A., Kimurto, P., Kileo, R. O., Girma, N., Chaturvedi, S. K., Varshney, R. K., Dixit, G. P., & Link, W. (2019). Integrated breeding approaches for improving drought and heat adaptation in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Breeding*, 138(4), 389–400.

Gaur, P. M., Tripathi, S., Gowda, C. L. L., Ranga Rao, G. V., Sharma, H. C., Pande, S., & Sharma, M. (2010). Chickpea seed production manual (28 p.). Patancheru 502 324, Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

Geng, Y., Chen, S., Lv, P., Li, Y., Li, J., Jiang, F., Wu, Z., Shen, Q., & Zhou, R. (2025). Positive role of *Trichoderma harzianum* in increasing plant tolerance to abiotic stresses: A review. *Antioxidants*, 14(7), 807.

Ghisalberti, E. L., & Sivasithamparam, K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology and Biochemistry*, 23(11), 1011–1020.

Gordon W.L., 1952. The occurrence of *Fusarium* species in Canada. II. Prevalence and taxonomy of *Fusarium* species in cereal seeds. *Canadian Journal of Botany* 30:236-238.

Goswami, D., Thakker, J. N., & Dhandhukia, P. C. (2013). Simultaneous detection and quantification of indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-pyruvic acid (IPA) produced by rhizospheric bacteria of *Jatropha curcas* using HPTLC. *3 Biotech*, 3(5), 389–395.

Grains Research and Development Corporation (GRDC). (2025). Chickpea crop improvement plan 2025–2030. GRDC Report, Canberra, Australia. Disponible sur : https://grdc.com.au/__data/assets/pdf_file/0018/623250/GRDC-Annual-Operational-Plan-2025.pdf

Grasso N., Lynch N.L., Arendt E.K., O'Mahony J.A. Chickpea protein ingredients: A review of composition, functionality, and applications. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2022;21:435–452. <https://doi.org/10.3390/cimb43030135>

Gravel, V., Antoun, H., & Tweddell, R. J. (2007). Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1968–1977.

Guo, S.-M., Kamphuis, L. G., Gao, L.-L., Klingler, J. P., Lichtenzveig, J., Edwards, O., & Singh, K. B. (2012). Identification of distinct quantitative trait loci associated with defence against the closely related aphids *Acyrtosiphon pisum* and *A. kondoi* in *Medicago truncatula*. *Journal of Experimental Botany*, 63(10), 3913–3922.

Guzmán-Guzmán, P., Kumar, A., de los Santos-Villalobos, S., Parra-Cota, F. I., Orozco-Mosqueda, M. del C., Fadji, A. E., Hyder, S., Babalola, O. O., & Santoyo, G. (2023). *Trichoderma* species: Our best fungal allies in the biocontrol of plant diseases—A review. *Plants*, 12(13), 2465.

Hacisalihoglu, G., & Kochian, L. V. (2003). How do some plants tolerate low levels of soil zinc? Mechanisms of zinc efficiency in crop plants. *New Phytologist*, 159(2), 341–350.

Halila, H. M., & Strange, R. N. (1996). Identification of the causal agent of wilt of chickpea in Tunisia as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* race 0. *Phytopathologia Mediterranea*, 35(1), 67–74.

Haque, Z., Nawaz, S., Haidar, L. et al. Development of novel *Trichoderma* bioformulations against *Fusarium* wilt of chickpea. *Sci Rep* 15, 9564 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41598-025-86984-y>

Harman, G. E., Doni, F., Khadka, R. B., & Uphoff, N. (2019). Endophytic strains of *Trichoderma* increase plants' photosynthetic capability. *Journal of Applied Microbiology*, 130(2), 529–546.

Harman, G. E., Doni, F., Khadka, R. B., & Uphoff, N. (2021). Endophytic and rhizosphere colonizing fungi that enhance plant growth and improve crop productivity. *Microorganisms*, 9(11), 2106.

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—Opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43–56.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Fujita, M., & Fotopoulos, V. (2020). Reactive Oxygen Species and Antioxidant Defense in Plants under Abiotic Stress: Revisiting the Crucial Role of a Universal Defense Regulator. *Antioxidants*, 9(8), 681.

Haware, M. P., & Nene, Y. L. (1980). Influence of wilt at different stages on the yield loss in chickpea. *Tropical Grain Legume Bulletin*, 19, 38–40.

Haware, M. P., & Nene, Y. L. (1982a). Symptomless carriers of the chickpea wilt *Fusarium*. *Plant Disease*, 66(3), 250–251. <https://doi.org/10.1094/PD-66-250>

Haware, M. P., & Nene, Y. L. (1982b). Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Plant Disease, 66(9), 809–810. <https://doi.org/10.1094/PD-66-809>

Haware, M. P., Jiménez-Díaz, R. M., Amin, K. S., Phillips, J. C., & Halila, M. H. (1990). Integrated management of wilt and root rots of chickpea. In Chickpea in the nineties (pp. 129–133). Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

Haware, M. P., Nene, Y. L., & Natarajan, M. (1996). The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* in the soil in the absence of chickpea. Phytopathologia Mediterranea, 35(1), 9–12. Firenze, Italy: Firenze University Press. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-15035

Haware, M. P., Nene, Y. L., & Rajeswari, R. (1978). Eradication of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* transmitted in chickpea seed. Phytopathology, 68(9), 1364–1368.

Haware, M. P., Nene, Y. L., Pundir, R. P. S., & Rao, J. N. (1992). Screening of world chickpea germplasm for resistance to *Fusarium* wilt. Field Crops Research, 30(1–2), 147–154.

Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. Microbiology, 158(1), 17–25.

Hirsch, P. (2002). Nodulation in legumes (Review of the book by J. I. Sprent). Annals of Botany, 89(6), 797–798.

Horn, N. M. (1994). Viruses involved in chickpea stunt (PhD thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands).

Horváth, B., Güngör, B., Tóth, M., Domonkos, Á., Ayaydin, F., Saifi, F., Chen, Y., Biró, J. B., Bourge, M., Szabó, Z., Tóth, Z., Chen, R., & Kaló, P. (2023). The *Medicago truncatula* nodule-specific cysteine-rich peptides, NCR343 and NCR-new35, are required for the maintenance of rhizobia in nitrogen-fixing nodules. New Phytologist, 239(5), 1974–1988.

Howieson, J. G., O'Hara, G. W., & Carr, S. J. (2000). Changing roles for legumes in Mediterranean agriculture: Developments from an Australian perspective. Field Crops Research, 65(2–3), 107–122. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(99\)00081-7](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(99)00081-7)

Huguet, T., Thoquet, P., Gherardi, M., Cardinet, G., Prioul, S., Lazrek, F., Aouani, M. E., Laouar, M., Abdelguerfi, A., Kurchak, O. N., Jacquet, C., Torregrosa, C., Julier, B., Kiss, E., Batut, J., & Prospero, J.-M. (2004, juin). A post-genomic approach of the natural variations of the model legume *Medicago truncatula*. Communication présentée au XIV Eucarpia *Medicago* spp. Group Meeting,

INRA. (2005). Fiche variété *Medicago truncatula* ‘Salernes’.

ISTA, 2015. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.

ITGC-2018. La culture du pois chiche en Algérie. Institut Technique des Grandes Cultures, Ministère de l’Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche, Direction de la Formation, de la Recherche et de la Vulgarisation.

ITIS. (2011) Integrated Taxonomic Information System – Report updated by the Flora of North America Expertise Network, in connection with an update for USDA PLANTS (2007-2010) Reference for: *Cicer arietinum* – *Medicago truncatula*

Jacques, S., Mahfouz, A., Guénin, S., Jaouannet, M., & Blanchet, S. (2020). A functional genomics approach to dissect spotted alfalfa *Aphid* resistance in *Medicago truncatula*. *Scientific Reports*, 10, 21856.

Jalali B.L., Chand H., 1992. Chickpea wilt. Pages 429-444 in: Plant Diseases of International Importance. Vol. I. Diseases of Cereals and Pulses. U. S. Singh, A. N. Mukhopadhyay, J. Kumar, and H. S. Chaube, eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Jamali, S. (2024). A review on *Fusarium redolens* Wollenw. as an emerging plant pathogen in Iran. *Mycologia Iranica*, 11(1), 1–17.

Jambhulkar, P. P., Singh, B., Raja, M., Ismaiel, A., Lakshman, D. K., Tomar, M., & Sharma, P. (2024). Genetic diversity and antagonistic properties of *Trichoderma* strains from the crop rhizospheres in southern Rajasthan, India. *Scientific Reports*, 14, 8921.

Jaroszuk-Ściśeł, J., Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., Majewska, M., Hanaka, A., Tyśkiewicz, K., Pawlik, A., & Janusz, G. (2019). Phytohormones (Auxin, Gibberellin) and ACC Deaminase In Vitro Synthesized by the Mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 Strain and Changes in the Level of Auxin and Plant Resistance Markers in Wheat Seedlings Inoculated with this Strain Conidia. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19), 4923.

Jebara, M., Aouani, M. E., & Ghorbel, M. H. (2001). Genetic diversity of Sinorhizobium populations recovered from different *Medicago* varieties cultivated in Tunisian soils. *Canadian Journal of Microbiology*, 47(2), 139–147.

Jimenez-Fernandez D., Navas-Cortes J.A., Montes-Borrego M., Jiménez-Díaz RM, Landa B.B., 2011. Molecular and pathogenic characterization of *Fusarium redolens*, a new causal agent of *Fusarium* yellows in chickpea. *Plant Disease* 95: 860-870. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-10-0946>

Jiménez-Díaz, R. M., Basallote-Ureba, M. J., & Rapoport, H. (1989a). Colonization and pathogenesis in chickpea infected by races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. In E. C. Tjamos & C. Beckman (Eds.), Vascular wilt diseases of plants (NATO ASI Series H: Cell Biology, Vol. 28, pp. 113–121). Berlin, Germany: Springer-Verlag.

Jiménez-Díaz R.M., Singh K.B., Trapero-Casas A., Trapero-Casas, JL, 1991. Resistance in kabuli chickpeas to *Fusarium* wilt. *Plant Disease* 75:914-918.

Jiménez-Díaz, R. M., & Jiménez-Gasco, M. M. (2011). Integrated management of *Fusarium* wilt diseases. In F. M. Alves-Santos & J. J. Díez (Eds.), *Control of Fusarium diseases* (pp. 177–215). Kerala, India: Research Signpost.

Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., Jimenez-Gasco, M. del M., Landa, B. B., & Navas-Cortés, J. A. (2015). *Fusarium* wilt of chickpeas: Biology, ecology and management. *Crop Protection*, 73, 16–27.

Jiménez-Díaz, R. M., Crinò, P., Halila, M. H., Mosconi, C., & Trapero-Casas, A. (1993b). Screening for resistance to *Fusarium* wilt and *Ascochyta blight* in chickpea. In K. B. Singh & M. C. Saxena (Eds.), *Breeding for stress tolerance in cool-season food legumes* (pp. 77–96). Chichester, UK: John Wiley & Sons.

Jiménez-Díaz, R. M., Trapero-Casas, A., & Singh, K. B. (1993a). Pathogenic variability and host resistance in *Fusarium* wilt of chickpea. *Plant Disease*, 77(4), 313–317.

Jiménez-Díaz, R. M., Trapero-Casas, A., & Cabrera de la Colina, J. (1989b). Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* infecting chickpeas in southern Spain. *Phytopathology*, 79(5), 583–589.

Jiménez-Díaz, R.M., Porta-Puglia A., Tivoli B., 1998. New approaches in the integrated management of legume diseases: Toward sustainable crop health. Pages 89-93 in: European Conference Grain Legumes, 3rd. Opportunities for High Quality, Healthy and Added-value Crops to Meet European Demands. European Association for Grain Legumes, ed. Valladolid, Spain.

Jiménez-Díaz R.M., Singh K.B., Trapero-Casas A., 1989. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* infecting chickpeas in southern Spain. In : Vascular Wilt Diseases of Plants (edt Tjamos, EC and Beckman, CH), NATO ASI Ser., Springer-Berlin, 1989, vol. H28, pp.515-520.

Jiménez-Fernández, D., Landa, B. B., Kang, S., Jiménez-Díaz, R. M., & Navas-Cortés, J. A. (2013). Quantitative and microscopic assessment of compatible and incompatible interactions between chickpea cultivars and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races. *PLoS ONE*, 8(4), e61360.

Jiménez-Fernández, D., Navas-Cortés, J. A., Montes-Borrego, M., Jiménez-Díaz, R. M., & Landa, B. B. (2011b). Molecular and pathogenic characterization of *Fusarium redolens*, a new causal agent of *Fusarium* yellows in chickpea. *Plant Disease*, 95(7), 860–870.

Jiménez-Gasco M.M., Jiménez-Díaz R.M., 2003. Development of a specific polymerase chain reaction based-assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and its pathogenic races 0, 1A, 5 and 6. *Phytopathology* 93:200-209. <https://doi:10.1094/PHYTO.2003.93.2.200>

Jiménez-Gasco, M. M., Milgroom, M. G., & Jiménez-Díaz, R. M. (2004b). Gene genealogies support *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* as a monophyletic pathogen of chickpea with eight formae speciales-associated lineages. *Phytopathology*, 94(6), 660–669.

Jones, R. A. C., Coutts, B. A., Latham, L. J., & McKirdy, S. J. (2008). Cucumber mosaic virus infection of chickpea stands: Temporal and spatial patterns of spread and yield-limiting potential. *Plant Pathology*, 57(5), 842–853.

Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L., & Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S11–S26.

Kaiser, W. J., & Danesh, D. (1971). Etiology of virus-induced wilt of *Cicer arietinum*. *Phytopathology*, 61(4), 453–457.

Kaiser, W. J., Alcalá-Jiménez, A. R., Hervás-Vargas, A., Trapero-Casas, J. L., & Jiménez-Díaz, R. M. (1994). Screening of wild *Cicer* species for resistance to races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Disease*, 78(10), 962–967.

Kaiser, W. J., Chen, W., Muehlbauer, F. J., & Kabbabeh, S. (2000). *Compendium of chickpea and lentil diseases and pests*. APS Press.

Kaiser, W. J., Klein, R. E., Larsen, R. C., & Wyatt, S. D. (1993). Chickpea wilt incited by Pea streak carlavirus. *Plant Disease*, 77(9), 922–926.

Kamphuis, L. G., Gao, L.-L., Turnbull, C. G. N., & Singh, K. B. (2019). *Medicago truncatula*–*Aphid* interactions. In S. Delaux, C. R. Vandenbosch, & J. Frugoli (Eds.), *The Model Legume Medicago truncatula* (pp. 363–368). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.

Kamphuis, L. G., Lichtenzveig, J., Oliver, R. P., & Ellwood, S. R. (2008). Two alternative recessive quantitative trait loci influence resistance to spring black stem and leaf spot in *Medicago truncatula*. *BMC Plant Biology*, 8, 30.

- Kaur, A., Sharma, V. K., Sirari, A., Kaur, J., Singh, G., & Kumar, P. (2015). Variability in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing wilt in chickpea. African Journal of Microbiology Research. Etude des interactions de FOC avec *Medicago truncatula*.
- Kelly, A. G., Alcalá-Jiménez, A. R., Bainbridge, B. W., Heale, J. B., Pérez-Artés, E., & Jiménez-Díaz, R. M. (1994). Use of genetic fingerprinting and random amplified polymorphic DNA to characterize pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* infecting chickpea. Phytopathology, 84(12), 1293–1298. <https://doi.org/10.1094/Phyto-84-1293>
- Kelly, A. G., Bainbridge, B. W., Heale, J. B., Pérez-Artés, E., & Jiménez-Díaz, R. M. (1998). Polymerase chain reaction detection of the wilt-inducing pathotype of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Physiological and Molecular Plant Pathology, 52(6), 397–409.
- Kelly, A., Bainbridge, B. W., Heale, J. B., Pérez-Artés, E., & Jiménez-Díaz, R. M. (1994). In planta PCR detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, the causal agent of chickpea wilt. Physiological and Molecular Plant Pathology, 44, 299–315.
- Khalfallah, N., Hajjaji, A., & Krid, S. (2006). *Fusarium* wilt of chickpea in Tunisia: Identification and pathogenic variability of the pathogen. Phytopathologia Mediterranea, 45, 97–104.
- Khan, A. L., Al-Harrasi, A., Al-Rawahi, A., Al-Farsi, Z., & Lee, I.-J. (2020). Endophytic fungi: resource for gibberellins and crop abiotic stress resistance. Critical Reviews in Biotechnology, 40(8), 1–17.
- Khan M., Khan S., and Mohiddin F., “Biological Control of Fusarium Wilt of Chickpea through Seed Treatment with the Commercial Formulation of *Thricoderma harzianum* and/or *Pseudomonas fluorescens*”, Phytopathol. Mediterr., vol. 43, no. 1, pp. 20–25, Apr. 2004. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-1720
- Kherifi, W. (2017). Corrélation entre la variabilité des paramètres hydrologiques avec l’altitude dans la région d’El Tarf (Nord-Est algérien). ASJP.
- Kherifi, W. (2020). Analyse et correction des données pluviométriques... Région d’El Tarf. CRSTRA
- Khinea, N. A. (2022). Production and trade of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in the global market: Opportunities and challenges. International Journal of Applied and Basic Agricultural Research, 22(1), 45–53.

Khokhar, I., Haider, M. S., Mushtaq, S., & Mukhtar, I. (2012). Isolation and screening of highly cellulolytic filamentous fungi. *Scholarly Journal of Agricultural Science*, 2(7), 126–129.

Klingler, J., Creasy, R., Gao, L., Nair, R. M., Calix, A. S., Spafford Jacob, H., Edwards, O. R., & Singh, K. B. (2005). *Aphid* resistance in *Medicago truncatula* involves antixenosis and phloem-specific, inducible antibiosis, and maps to a single locus flanked by NBS-LRR resistance gene analogs. *Plant Physiology*, 137(4), 1445–1455.

Korter G.O., Sunday A.A., Ehiagwina F.O., Lawal P.O., Akinola T.E., Kolawole S.K., 2023. Comparative studies of rockwool and cotton wool for tomatoes production: Nutrient balance, plant growth and fruit quality. *International Research Journal of Modernization in Engineering Technology and Science* 5, 19–25.

Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., & Nagy, E. (2003). Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. *Food Technology and Biotechnology*, 41(1), 37–42.

Krishnamurthy, L., Gaur, P. M., Basu, P. S., Chaturvedi, S. K., Tripathi, S., Vadez, V., Rathore, A., Varshney, R. K., & Gowda, C. L. L. (2011). Large genetic variation for heat tolerance in the reference collection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasm. *Plant Genetic Resources*, 9(1), 59–69.

Krishnamurthy, L., Kashiwagi, J., Gaur, P. M., Upadhyaya, H. D., & Vadez, V. (2010). Sources of tolerance to terminal drought in the chickpea (*Cicer arietinum* L.) minicore germplasm. *Field Crops Research*, 119(2–3), 322–330.

Kubicek, C. P., Herrera-Estrella, A., Seidl-Seiboth, V., Martinez, D. A., Druzhinina, I. S., Thon, M., ... & Grigoriev, I. V. (2011). Comparative genome sequence analysis underscores mycoparasitism as the ancestral lifestyle of *Trichoderma*. *Genome Biology*, 12(4), R40. <https://doi.org/10.1186/gb-2011-12-4-r40>

Kullnig-Gradinger, C. M., Szakacs, G., & Kubicek, C. P. (2002). Phylogeny and evolution of the genus *Trichoderma*: A multigene approach. *Mycological Research*, 106(7), 757–767.

Kumar D.P., Thenmozhi R., Anupama A. (2011) Selection of potential antagonistic *Bacillus* and *Trichoderma* isolates from tomato rhizosphere soil against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Res. J. Biol. Sci.* 6(10):523–331.

Kumar, N., Hong, S., Zhu, Y., Garay, A., Yang, J., Henderson, D., Zhang, X., Xu, Y., & Li, Y. (2025). Comprehensive review of chickpea (*Cicer arietinum*): Nutritional significance, health benefits, techno-functionalities, and food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 24(2), e70152.

Kumar, N., Srivastava, P., Vishwakarma, K., Kumar, R., Kuppala, H., Maheshwari, S. K., & Vats, S. (2020). The Rhizobium–plant symbiosis: State of the art. In N. Kumar, P. Srivastava, K. Vishwakarma, R. Kumar, H. Kuppala, S. K. Maheshwari, & S. Vats (Eds.), *Plant microbe symbiosis* (pp. 1–20). Cham: Springer.

Kumari, P., Jadon, K. S., Meena, M., Verma, S. K., & Yadav, R. S. (2024). *Trichoderma* spp.: Mechanisms of biocontrol, plant growth promotion and their applications in sustainable agriculture. *Biological Control*, 191, 105117.

Lace B., Genre A., Woo S., Faccio A., Lorito M., Bonfante P. (2014) Gate crashing arbuscular mycorrhizas: in vivo imaging shows the extensive colonization of both symbionts by *Trichoderma atroviride*. *Environ Microbiol Rep* 7(1):64–77.

Ladizinsky G., 1975. A new *Cicer* from Turkey. *Notes of the Royal Botanic Garden Edinburgh* 34: 201-202.

Ladizinsky, G., & Abbo, S. (2015). The *Pisum* genus. In R. Redden, S. Yadav, N. Maxted, M. E. Dulloo, L. Guarino, & P. Smith (Eds.), *Crop wild relatives and climate change* (pp. 87–96). Cham: Springer.

Landa B.B., Navas-Cortés J.A., Jiménez-Gasco M.M., Katan J., Retig B., Jiménez-Díaz R.M., 2006. Temperature response of chickpea cultivars to races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, causal agent of Fusarium wilt. *Plant Disease* 90:365-374. [https://doi: 10.1094/PD-90-0365](https://doi.org/10.1094/PD-90-0365)

Landa, B.B., Navas-Cortés, J.A., & Jiménez-Díaz, R.M. (2004b). Integrated management of *Fusarium* wilt of chickpea combining the use of choice of sowing date, host resistance, and biological control. *Phytopathology*, 94(9), 946–960. [https://doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.9.946](https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.9.946)

Laouar, M., Huguet, T., Cardinet, G., Gherardi, M., & Abdelguerfi, A. (2004, mai). Utilisation des acquis de la plante modèle *Medicago truncatula* pour la structuration de la section des Intertextae. Communication orale présentée au 1er Atelier National de NAFRINET, Université d'Oran, Algérie, 25–26 mai.

Lapeyronie, A. (1982). Les productions fourragères méditerranéennes. Tome I : Généralités, caractères botaniques et biologiques. Collection Techniques agricoles et productions méditerranéennes. Paris : G.P. Maisonneuve & Larose.

Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Bayaa B., 2014. Pathogenicity of *Fusarium* spp. associated with diseases of Aleppo-pine seedlings in Algerian forest nurseries. *Journal of Forest Science* 60:115–120.

- Lazreg F., Belabid L., Sanchez J., Gallego E., Garrido-Cardenas J.A., Elhaitoum A., 2013. First Report of *Fusarium redolens* as a Causal Agent of Aleppo Pine Damping-Off in Algeria. Plant Disease, 97: 997. [https://doi: 10.1094/PDIS-12-12-1169-PDN](https://doi.org/10.1094/PDIS-12-12-1169-PDN)
- Leach, C. M. (1962). A practical guide to the measurement of fungal growth and antagonism on agar media. Canadian Journal of Botany, 40, 151–165.
- Leport, L., Turner, N. C., French, R. J., Tennant, D., Thomson, B. D., & Siddique, K. H. M. (1998). Water relations, gas exchange and growth of cool-season grain legumes in a Mediterranean-type environment. European Journal of Agronomy, 9(4), 295–303.
- Lesins, K. A., & Lesins, I. (1979). Genus *Medicago* (Leguminosae): A taxogenetic study (1st ed.). Springer.
- Leslie J.F., Zeller K.A., Summerell B.A., 2001. Icebergs and species in populations of *Fusarium*. Physiological and Molecular Plant Pathology. 59: 107-117. [https://doi:10.1006/pmpp.2001.0351](https://doi.org/10.1006/pmpp.2001.0351)
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames, IA: Blackwell Publishing Professional.
- Lin, S., Niu, Y., Medina, C. A., & Yu, L.-X. (2022). Two linked resistance genes function divergently in defence against *Verticillium* wilt in alfalfa. Plant Biotechnology Journal, 20(4), 619–621.
- Lorito, M., Woo, S. L., Harman, G. E., & Monte, E. (2010). Translational research on *Trichoderma*: From 'omics to the field. Annual Review of Phytopathology, 48, 395–417.
- Lugtenberg, B. J., Dekkers, L., & Bloemberg, G. V. (2001). Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. Annual Review of Phytopathology, 39, 461–490. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-073009-114314>
- Lupwayi, N., Clayton, G., & Rice, W. A. (2006). Rhizobial inoculants for legume crops. Journal of Crop Improvement, 15(2), 289–321.
- Madden, L. V., Hughes, G., & van den Bosch, F. (2007). The Study of Plant Disease Epidemics. St. Paul, MN: The American Phytopathological Society (APS Press). 421 p.
- Mahiout, D. (2017). Contribution à la caractérisation de *Ascochyta rabiei* (Pass.) Labr., agent causal de l’anthracnose du pois chiche (*Cicer arietinum* L.) et étude de son interaction avec *Medicago truncatula* Gaertn. (Thèse de doctorat). Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.

Makhloufi, L., & Yamani, M. I. (2024). A study of physical, chemical, and sensory characteristics of novel legume dips. *International Journal of Food Science*, 2024, 2875348.

Malcolm, G. M., Kuldau, G. A., Gugino, B. K., & Jiménez-Gasco, M. M. (2013). Hidden host plant associations of soilborne fungal pathogens: An ecological perspective. *Phytopathology*, 103(6), 538–544.

Manna, M. C., Swarup, A., Wanjari, R. H., Ravankar, H. N., Mishra, B., Saha, M. N., Singh, Y. V., Sahi, D. K., & Sarap, P. A. (2005). Long-term effect of fertilizer and manure application on soil organic carbon storage, soil quality and yield sustainability under sub-humid and semi-arid tropical India. *Field Crops Research*, 93(2–3), 264–280.

Martínez-Medina, A., Alguacil, M. D. M., Pascual, J. A., & Van Wees, S. C. M. (2014). Phytohormone profiles induced by *Trichoderma* isolates correspond with their biocontrol and plant growth-promoting activity on melon plants. *Journal of Chemical Ecology*, 40(7), 804–815.

McDonald, J. H. (2014). *Handbook of Biological Statistics* (3rd ed.). Sparky House Publishing, Baltimore, Maryland.

Mendoza-Mendoza, A., Zaid, R., Lawry, R., Hermosa, R., Monte, E., Horwitz, B. A., & Mukherjee, P. K. (2018). Molecular dialogues between *Trichoderma* and roots: Role of the fungal secretome. *Fungal Biology Reviews*, 32(2), 62–85.

Merga B., haji J., 2019. Economic importance of chickpea: production, value, and world trade. *Food & Agriculture*, vol. 5, no. 1, p. 1615718. <https://dx.doi.org/10.1080/23311932.2019.1615718>

Mistry, H., & Bariya, H. (2022). Isolation and identification of *Trichoderma* spp. from different agricultural samples. In S. M. Ansari (Ed.), *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2544, pp. 207–216). Springer Nature.

Moussart, A., Onfroy, C., Lesne, A., Esquibet, M., Grenier, E., & Tivoli, B. (2007). Host status and reaction of *Medicago truncatula* accessions to infection by three major pathogens of pea (*Pisum sativum*) and alfalfa (*Medicago sativa*). *European Journal of Plant Pathology*, 117(1), 57–69.

Muehlbauer, F. J., & Sarker, A. (2018). Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade. In R. K. Varshney, M. Thudi, & M. Roorkiwal (Eds.), *The chickpea genome* (pp. 5–12). Springer, Cham.

Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M., & Kenerley, C. M. (2013). *Trichoderma* research in the genome era. *Annual Review of Phytopathology*, 51, 105–129.

Murti, M. W., Sudarsono, M. A., & Suryadi, H. (2018). Isolation of cellulolytic fungi and utilization of its cellulolytic activity for microcrystalline cellulose preparation from water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Pharmacognosy Journal*, 10(6), 1082–1088.

Nair, R. M., & Howie, J. H. (2006). *Medicago truncatula* online database. Australian *Medicago* Database.

Nautiyal, C. S., Bhadauria, S., Kumar, P., Lal, H., Mondal, R., & Verma, D. (2000). Stress induced phosphate solubilization in bacteria isolated from alkaline soils. *FEMS Microbiology Letters*, 182(2), 291–296. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08910.x>.

Navas-Cortés J.A., Hau B., Jiménez-Díaz, R.M., 1998. Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on development of *Fusarium* wilt of chickpea. *Phytopathology* 88:1338-1346. <https://doi:10.1094/PHYTO.1998.88.12.1338>

Navas-Cortés J.A., Hau B., Jiménez-Díaz, R.M., 2000. Yield loss in chickpeas in relation to development of *Fusarium* wilt epidemics. *Phytopathology* 90 :1269-1278. <https://doi:10.1094/PHYTO.2000.90.11.1269>

Navas-Cortés, J. A., Hau, B., & Jiménez-Díaz, R. M. (2000). Yield loss in chickpeas in relation to development of *Fusarium* wilt epidemics. *Phytopathology*, 90(11), 1269–1278.

Navas-Cortés, J. A., Landa, B. B., Méndez-Rodríguez, M. A., & Jiménez-Díaz, R. M. (2007). Quantitative modeling of the effects of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races 0 and 5 on the development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars. *Phytopathology*, 97(5), 564–573.

Nayyar, H., Kaur, G., Kumar, S., & Upadhyaya, H. D. (2007). Low temperature effects during seed filling on chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.): Probing mechanisms affecting seed reserves and yield. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 193(5), 336–344.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Cook, R. J. (1981). *Fusarium: Diseases, biology, and taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA, USA.

Nelson, P. E., Toussoun, T. A., & Marasas, W. F. O. (1983). *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. University Park, PA: Pennsylvania State University Press.

Nene Y.L., Reddy M.V., Haware M.P., Ghanekar A.M., Amin K.S., ... Sharma M., 2012. Field Diagnosis of Chickpea Diseases and their Control. Information Bulletin No. 28 (revised). Patancheru, A.P. 502 324, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. 60 pp. ISBN 92-9066-199-2. Order code: IBE: 028.

Nene, Y. L., & Reddy, M. V. (1987). Chickpea diseases and their control. In M. C. Saxena & K. B. Singh (Eds.), *The chickpea* (pp. 233–270). Wallingford, UK: CAB International.

Nene, Y. L., Haware, M. P., & Reddy, M. V. (1978). Diagnosis of some wilt disorders of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Information Bulletin, 3. Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

Nene, Y. L., Sheila, V. K., & Sharma, S. B. (1996). A world list of chickpeas and pigeonpea pathogens. 5th ed. ICRISAT.

Nieto-Jacobo, M. F., Steyaert, J. M., Salazar-Badillo, F. B., Nguyen, D. V., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J. T., Jimenez-Bremont, J. F., Ohkura, M., Stewart, A., & Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affect indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8, 102.

Oldroyd, G. E. D., & Downie, J. A. (2008). Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 519–546.

Oldroyd, G. E. D., & Downie, J. A. (2008). Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 519–546. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092839>

Oliva-Ortiz, L. C., et al. (2017). Controlling *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.) with *Trichoderma* sp. HRG-060. *Revista Mexicana de Fitopatología / Revista Mexicana de Fitotecnia*.

Oljira, A. M., Hussain, T., Waghmode, T. R., Zhao, H., Sun, H., Liu, X., Wang, X., & Liu, B. (2020). *Trichoderma* enhances net photosynthesis, water use efficiency, and growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Microorganisms*, 8(10), 1565.

Olowe, O. M., Odebode, A. C., Asemoloye, M. D., Orole, O. O., Alabi, O. A., & Babalola, O. O. (2022). Characterization and antagonistic potentials of selected

rhizosphere *Trichoderma* species against some *Fusarium* species. *Frontiers in Microbiology*, 13, 985874.

O'Neill, N. R., & Bauchan, G. R. (2000). Sources of resistance to anthracnose in the annual *Medicago* core collection. *Plant Disease*, 84(3), 261–267.

O'Neill, N. R., Bauchan, G. R., & Samac, D. A. (2003). Reactions in the annual *Medicago* spp. core germplasm collection to *Phoma medicaginis*. *Plant Disease*, 87(5), 557–562.

Padwick, G. W. (1940). The genus *Fusarium* III: A critical study of the fungus causing wilt of gram (*Cicer arietinum* L.) and of the related species of the subsection *Orthocera*, with special relation to the variability of key characteristics. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 10(3), 241–284.

Pande, S., Rao, J. N., & Sharma, M. (2007). Establishment of the chickpea wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in the soil through seed transmission. *The Plant Pathology Journal*, 23(1), 3–6.

Pande, S., Sharma, M., Kumari, S. G., Gowda, C. L. L., et al. (2009). Integrated foliar diseases management of legumes. *Journal of SAT Agricultural Research*, 7, 1–15. International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

Parry D.W., Jenkinson P., McLeod L., 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals—a review. *Plant Pathology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.1995.tb02773.x>

Pastrana, A. M., Basallote-Ureba, M. J., Aguado, A., Akdi, K., & Capote, N. (2016). Biological control of strawberry soil-borne pathogens *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium solani*, using *Trichoderma asperellum* and *Bacillus* spp. *Phytopathologia Mediterranea*, 55(1), 109–120. https://doi.org/10.14601/Phytopathol_Mediterr-16363Patten, C. L., & Glick, B. R. (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8), 3795–3801.

Pelagio-Flores, R., Esparza-Reynoso, S., Garnica-Vergara, A., López-Bucio, J., & Herrera-Estrella, A. (2017). *Trichoderma*-induced acidification is an early trigger for changes in *Arabidopsis* root growth and determines fungal phytostimulation. *Frontiers in Plant Science*, 8, 822.

Pelagio-Flores, R., Esparza-Reynoso, S., López-Bucio, J. S., & López-Bucio, J. (2022). Exploiting biostimulant properties of *Trichoderma* for sustainable plant production. In *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Sustainable Agriculture: Microorganisms as Biostimulants* (pp. 17–32). Elsevier.

Perfect, S. E., Hughes, H. B., O'Connell, R. J., & Green, J. R. (1999). *Colletotrichum*: A model genus for studies on pathology and fungal–plant interactions. *Fungal Genetics and Biology*, 27(2–3), 186–198.

Phillips, J. M. (1988). Identification of a new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in California. *Phytopathology*, 78, 123–127.

Pieterse, C. M. J., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., & Van Wees, S. C. M. (2012). Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28, 489–521.

Pimentel, M. F., Arnão, E., Warner, A. J., Subedi, A., Rocha, L. F., Srouf, A., Bond, J. P., & Fakhoury, A. M. (2022). *Trichoderma* isolates inhibit *Fusarium virguliforme* growth, reduce root rot, and induce defense-related genes on soybean seedlings. *Plant Disease*, 106(7), 1949–1959.

Pittaway, J. K., Robertson, I. K., & Ball, M. J. (2008). Chickpeas may influence fatty acid and fiber intake in an ad libitum diet, leading to small improvements in serum lipid profile and glycemic control. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(6), 1009–1013.

Plett, K. L., Bithell, S. L., Dando, A., & Plett, J. M. (2021). Chickpea shows genotype-specific nodulation responses across soil nitrogen environment and root disease resistance categories. *BMC Plant Biology*, 21, 310.

Poornima, K. N., Sabaale, P. R., Patil, P. G., Das, A., Soren, K. R., & Singh, N. P. (2017). PCR-based race identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* using molecular markers. *Journal of Food Legumes*, 30(1), 6–10.

Poveda, J. (2021). *Trichoderma* as biocontrol agent against pests: New uses for a mycoparasite. *Biological Control*, 159, 104634.

Prosperi, J. M., et al. (1993). Collection and evaluation of *Medicago truncatula* germplasm. *Plant Genetic Resources Newsletter*, 94, 22–26.

Qualhato, T. F., Lopes, F. A. C., Steindorff, A. S., Brandão, R. S., Jesuino, R. S. A., & Ulhoa, C. J. (2013). Mycoparasitism studies of *Trichoderma* species against three phytopathogenic fungi: Evaluation of antagonism and hydrolytic enzyme production. *Biotechnology Letters*, 35(9), 1461–1468.

Ramírez-Ordorica, A., et al. (2020). Metabolomic effects of the colonization of *Medicago truncatula* by root endophytes. *Scientific Reports*. — ils identifient des microorganismes endophytes internes dans *M. truncatula* qui modifient le métabolisme de la plante.

Ramirez-Suero M., Khanshour A., Martinez Y., Rickauer M., 2010. A study on the susceptibility of the model legume plant *Medicago truncatula* to the soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum*. European journal plant pathology 126: 517-530. <https://doi.org/10.1007/s10658-009-9560-x>

Ramírez-Suero, M. (2009). Analyse des réponses moléculaires de la plante modèle *Medicago truncatula* aux infections par *Fusarium oxysporum* et *Verticillium albo-atrum* (Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France).

Rasheed A., Gill R.A., Hassan M.U., Mahmood A., Qari S., Zaman Q.U., Ilyas M., Aamer M., Batool M., Li H. A critical review: Recent advancements in the use of CRISPR/Cas9 technology to enhance crops and alleviate global food crises. Curr. Issues Mol. Biol. 2021;43:1950–1976. <https://doi.org/10.3390/cimb43030135>

Rehm, C. D., Goltz, S. R., Katcher, J. A., Guarneiri, L. L., Dicklin, M. R., & Maki, K. C. (2023). Trends and patterns of chickpea consumption among United States adults: Analyses of National Health and Nutrition Examination Survey data. The Journal of Nutrition, 153(5), 1567–1576.

Rispail, N., Bani, M., & Rubiales, D. (2015). Resistance reaction of *Medicago truncatula* genotypes to *Fusarium oxysporum*: Effect of plant age, substrate and inoculation method. Crop and Pasture Science, 66(5), 506–515.

Rispail, N., Dita, M.-A., González-Verdejo, C., Pérez-de-Luque, A., Castillejo, M.-A., Prats, E., Román, B., Jorrín, J., & Rubiales, D. (2007). Plant resistance to parasitic plants: Molecular approaches to an old foe. New Phytologist, 173(4), 703–712.

Roberts, E. H., Hadley, P., & Summerfield, R. J. (1985). Effects of temperature and photoperiod on flowering in chickpeas (*Cicer arietinum* L.). Annals of Applied Biology, 107(2), 347–359.

Ronfort, J., Bataillon, T., Santoni, S., Delalande, M., David, J. L., & Prospero, J. M. (2006). Microsatellite diversity and broad-scale geographic structure in a model legume: Building a set of nested core collections for studying naturally occurring variation in *Medicago truncatula*. BMC Plant Biology, 6, 28.

Rossi V., Ravanetti A., Patteri E., Giosuè S., 2001. Influence of temperature and humidity on the infection of wheat spikes by some fungi causing *Fusarium* head blight. Journal of Plant Pathology 83:189–198. <https://doi.org/10.4454/JPP.V83I3.1128>

Rubiales, D., & Moral, A. (2004). Prehaustorial resistance against alfalfa rust (*Uromyces striatus*) in *Medicago truncatula*. European Journal of Plant Pathology, 110(3), 239–243.

Rubio, M. B., Quijada, N. M., Pérez, E., Domínguez, S., Monte, E., & Hermosa, R. (2014). Identifying beneficial qualities of *Trichoderma parareesei* for plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(6), 1864–1873

Ruiz-Gómez, F. J., & Miguel-Rojas, C. (2021). Antagonistic potential of native *Trichoderma* spp. against *Phytophthora cinnamomi* in the control of holm oak decline in dehesas ecosystems. *Forests*, 12(7), 945.

Rupela, O. P., Toomsan, B., Mittal, S., Darth, P. J., & Thompson, J. A. (1987). Chickpea *Rhizobium* populations: Survey of influence of season, soil depth and cropping pattern. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(3), 247–252.

Saabale, P., Manjunatha, L., Srivastava, A., Chaudhary, R. G., & others. (2019). Elucidation of host resistance for chickpea wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 32(3), 174–177.

Sadeghi, A., Ghorbanpour, M., & Omid, M. (2021). Selection and control efficiency of *Trichoderma* isolates against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Biological Control*, 160, 104699. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101731>

Saifi, F., Biró, J. B., Horváth, B., Vízler, C., Kovács, S., Kang, M., Li, D., Chen, Y., Chen, R., Láczi, K., Rákhely, G., Domonkos, Á., & Kaló, P. (2024). Two members of a Nodule-specific Cysteine-Rich (NCR) peptide gene cluster are required for differentiation of rhizobia in *Medicago truncatula* nodules. *The Plant Journal*, 119(6), 1508–1525. <https://doi.org/10.1111/tpj.16871>

Sanger F., Nicklen S., Coulson AR, 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings national academy sciences*. USA 74 (12): 5463–7. Bib code: 1977PNAS...74.5463S. <https://doi: 10.1073/ pnas. 74.12.5463>. PMC 431765. PMID 271968

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3), 430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

Saxena, M. C., & Singh, K. B. (Eds.). (1987). *The chickpea*. Wallingford, UK: C.A.B. International. 409 p. ISBN 9780851985718

Saxena, N. P. (1987). Screening for adaptation to drought: Case studies with chickpea and pigeonpea. In *Consultants' Workshop: Adaptation of Chickpea and Pigeonpea to Abiotic Stresses* (pp. 19–21). ICRISAT, India.

Schippers, B., & Van Eck, W. H. (1981). Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*. In P. E. Nelson, T. A. Toussoun, & R. J. Cook (Eds.), *Fusarium: Diseases*,

biology, and taxonomy (pp. 250–260). University Park, PA: The Pennsylvania State University Press.

Schoffemeer, E. A. M., Klis, F. M., Sietsma, J. H., & Cornelissen, B. J. C. (1999). The cell wall of *Fusarium oxysporum*. *Fungal Genetics and Biology*, 27(2–3), 275–282.

Seabold, S., & Perktold, J. (2010). Statsmodels: Econometric and Statistical Modeling with Python. Proceedings of the 9th Python in Science Conference (SciPy 2010).

Septiani, E. L., Suwandi, F., & Hidayat, A. (2019). Production of cellulase from *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei* mixed culture in carboxymethyl cellulose medium as sole carbon source. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 509(1), 012083.

Sharma K.D., Muehlbauer F.J., 2007. *Fusarium* wilt of chickpea: physiological specialization, genetics of resistance and resistance gene tagging. *Euphytica* 157, 1-14.

Sharma, K. D., Muehlbauer, F. J., & Kumar, J. (2014). Pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*: occurrence and distribution in India. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 47, 1063–1076.

Sharma, M., & Ghosh, R. (2016). An update on genetic resistance of chickpea to *Ascochyta* blight. *Agronomy*, 6(1), 18.

Sharma, M., Pande, S., Mangala, U. N., Gaur, P. M., & Rao, J. N. (2010). Genetic resistance in desi and kabuli chickpea lines to *Fusarium* wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Crop Protection*, 38, 57–62.

Sharma, P., Sharma, M., Raja, M., & Shanmugam, V. (2014). Status of *Trichoderma* research in India: A review. *Indian Phytopathology*, 67(1), 1–19.

Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology*, 48, 21–43.

Si Ziani, Y., & Abdelguerfi, A. (1995). Comportement de populations de *Medicago truncatula* Gaertn. dans deux zones différentes : relation avec les facteurs du milieu d'origine. In *Systèmes sylvopastoraux. Pour un environnement, une agriculture et une économie durables* (pp. 29-32). Zaragoza : CIHEAM. (Cahiers Options Méditerranéennes, 12).

Siddique K.H.M., Brinsmead R.B., Knight R., Knights E.J., Paull J.G., Rose I.A., 2000. Adaptation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) to Australia. In R. Knight (Ed.), *linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st*

century (pp. 289–303). Dordrecht: Kluwe Academic Publishers. [https://doi: 10.1007/978-94-011-4385-1_26](https://doi.org/10.1007/978-94-011-4385-1_26)

Siddique, K. H. M., Johansen, C., Turner, N. C., Jeuffroy, M.-H., Hashem, A., Sakar, D., Gan, Y., & Alghamdi, S. S. (2012). Innovations in agronomy for food legumes: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(1), 45–64.

Silim, S. N., & Saxena, M. C. (1993). Adaptation of spring-sown chickpea to the Mediterranean basin. I. Response to moisture supply. *Field Crops Research*, 34(2), 121–136.

Singh, B.N.; Dwivedi, P.; Sarma, B.K.; Singh, G.S.; Singh, H.B. *Trichoderma asperellum* T42 reprograms tobacco for enhanced nitrogen utilization efficiency and plant growth when fed with N nutrients. *Front. Plant Sci.* 2018, 9, 163.

Singh, M. V. (2009). Micronutrient nutritional problems in soils of India and improvement for human and animal health. *Indian Journal of Fertilisers*, 5(4), 11–26.

Singh, R. K., Singh, C., Ambika, Chandana, B. S., Mahto, R. K., Patial, R., Gupta, A., Gahlaut, V., Gayacharan, Hamwieh, A., Upadhyaya, H. D., & Kumar, R. (2022). Exploring chickpea germplasm diversity for broadening the genetic base utilizing genomic resources. *Frontiers in Genetics*, 13, 905771.

Singh, U. B., Malviya, D., Singh, S., Kumar, M., Sahu, P. K., Singh, H. V., Kumar, S., Roy, M., Imran, M., Rai, J. P., Sharma, A. K., & Saxena, A. K. (2019). *Trichoderma harzianum*- and Methyl Jasmonate-Induced Resistance to *Bipolaris sorokiniana* Through Enhanced Phenylpropanoid Activities in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Microbiology*, 10, 1697.

Singh, R., Varshney, R. K., & Thudi, M. (2022). *Chickpea (Cicer arietinum L.) improvement: Progress, challenges, and prospects*. *Theoretical and Applied Genetics*, 135(5), 1507–1525.

Skinner, D. Z., Bauchan, G. R., Auricht, G., & Hughes, S. (1999). Developing a core collection from a large annual *Medicago* germplasm collection. In R. C. Johnson & T. Hodgkin (Eds.), *Core collections for today and tomorrow* (pp. 61–72). Rome: International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI).

Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: Mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417–1435.

Small, E. (2011). *Alfalfa and relatives: Evolution and classification of Medicago*. NRC Research Press, Ottawa, Ontario, Canada.

Sneath P.H.A. and Sokal R.R. 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco. 600p.

Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (2012). Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research (4th ed.). W. H. Freeman and Company, New York.

Staginnus C., Winter P., Desel C., Schmidt T., Kahi G., 1999. Molecular structure and chromosomal localization of major

Stevenson, P. C., Turner, H. C., & Haware, M. P. (1997). Phytoalexin accumulation in the roots of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings associated with resistance to *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*). Physiological and Molecular Plant Pathology, 50(3), 167–178.

Strange, R.N. & Scott, P.R. (2005). *Plant disease: a threat to global food security*. Annual Review of Phytopathology, 43: 83-116.

Suthar, K.P., B. K. Rajkumar, P.R. Parmar, and D. Singh, 2021. Molecular Mechanism Underlying Chickpea – *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* Interaction. In: Sustainable Agriculture Reviews 51, P. Guleria et al. (eds.),

Sánchez-Chino, X., Jiménez-Martínez, C., Dávila-Ortiz, G., Álvarez-González, I., & Madrigal-Bujaidar, E. (2015). Nutrient and nonnutrient components of legumes, and its chemopreventive activity: A review. Nutrition and Cancer, 67(3), 401–410.

Taheri A.E., 2011. First report of *Fusarium redolens* from Saskatchewan and its comparative pathogenicity. Canadian Journal Plant Pathology 33:559. <https://doi.org/10.1080/07060661.2011.620631>

Tamura K., Nei M., Kumar S., 2004. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. Proceedings of the National Academy of Sciences (USA) 101:11030-11035.

Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Molecular Biology and Evolution. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.

Tang, H., Krishnakumar, V., Bidwell, S., Rosen, B., Chan, A., Zhou, S., Gentzbittel, L., Childs, K. L., Yandell, M., Gundlach, H., Mayer, K. F. X., Schwartz, D. C., & Town, C. D. (2014). An improved genome release (version Mt4.0) for the model legume *Medicago truncatula*. BMC Genomics, 15, 312. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-312>

Tekeoğlu M., Özkılınç H., Tunalı B., Kusmenoğlu İ., Chen W., 2017. Molecular identification of *Fusarium* spp. causing wilt of chickpea and the first report of *Fusarium*

redolens in Turkey Mediterranean Agricultural Sciences 30 (1): 27-33.
<https://doi.org/10.22268/AJPP-39.4.231240>

Thavarajah D., Ball A.R., Schoenau J.J., 2005. Nitrogen Fixation, Amino Acid, and Ureide Associations in Chickpea. Crop Science 45:2497-2502, Wageningen, Netherland.

Thomas, J. E. (2004). First report of Tomato spotted wilt virus in chickpea (*Cicer arietinum*) in Australia. Australasian Plant Pathology, 33(4), 597–599.

Tlemsani M., Bellahcene M., Fortas Z., 2015. Behavior study of chickpeas varieties (*Cicer arietinum* L.) against *Fusarium* wilt. Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research. ISSN : 2231-2560.

Toueni, M., Ben, C., Le Ru, A., Gentzbittel, L., & Rickauer, M. (2016). Quantitative Resistance to *Verticillium* Wilt in *Medicago truncatula* Involves Eradication of the Fungus from Roots and Is Associated with Transcriptional Responses Related to Innate Immunity. Frontiers in Plant Science, 7, 1431.

Trapero-Casas, A., & Jiménez-Díaz, R. M. (1985). Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. Phytopathology, 75(10), 1146–1151.

Treutter, D. (2005). Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. Plant Biology, 7(6), 581–591.

Tsavkelova, E. A., Klimova, S. Y., Cherdyntseva, T. A., & Netrusov, A. I. (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: A review. Applied Biochemistry and Microbiology, 42(2), 117–126.

Tulasne, L.-R., & Tulasne, C. (1865). Selecta Fungorum Carpologia: Fungos Hypocreaceos, et Gasteromycetos Illustrat. Vol. 3. Paris: Imperial Press.

Turpin A. E.J., Herridg F.D., Robertson J.M., 2002. Nitrogen fixation and soil nitrate interactions in field-grown chickpea (*Cicer arietinum*) and faba bean (*Vicia faba*). Aust J Agric Res 53: 599–608.

Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., & Jaroszuk-Ściseł, J. (2022, 19 février). *Trichoderma*: The current status of its application in agriculture for the biocontrol of fungal phytopathogens and stimulation of plant growth. International Journal of Molecular Sciences, 23(4), 2329.

Vailleau, F., Sartorel, E., Jardinaud, M.-F., Chardon, F., Genin, S., Huguet, T., Gentzbittel, L., & Petitprez, M. (2007). Characterization of the interaction between the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* and the model legume plant *Medicago truncatula*. Molecular Plant-Microbe Interactions, 20(2), 159–167.

Van Der Maesen L.J.G., 1972. *Cicer* L., A Monograph of The Genus, With Special Reference to the Chickpea (*Cicer arietinum* L.), Its Ecology and Cultivation. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen 72(10): 342p.

Vandemark, G. J., & Grünwald, N. J. (2004). Reaction of *Medicago truncatula* to *Aphanomyces euteiches* race 2. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 37(1), 59–67.

Varshney, R. K., Song, C., Saxena, R. K., Azam, S., Yu, S., Sharpe, A. G., ... Wang, J. (2013). Draft genome sequence of chickpea (*Cicer arietinum*) provides a resource for trait improvement. Nature Biotechnology, 31(3), 240–246.

Varshney, R. K., Thudi, M., Roorkiwal, M., He, W., Upadhyaya, H. D., Yang, ... Liu, X. (2019). Resequencing of 429 chickpea accessions from 45 countries provides insights into genome diversity, domestication and agronomic traits. Nature Genetics, 51(5), 857–864.

Verma, M., Brar, S. K., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., & Valéro, J. R. (2007). Antagonistic fungi: *Trichoderma* spp.: Their biological control of plant diseases. Bioresource Technology, 98(11), 2182–2189.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. Soil Biology and Biochemistry, 40(1), 1–10.

Vincent, J. M. (1970). A manual for the practical study of root-nodule bacteria (IBP Handbook No. 15). Blackwell Scientific Publications.

Wallace, T. C., Murray, R., & Zelman, K. M. (2016). The nutritional value and health benefits of chickpeas and hummus. Nutrients, 8(12), 766.

Weindling, R. (1932). *Trichoderma lignorum* as a parasite of other soil fungi. Phytopathology, 22, 837–845.

Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. Journal of Experimental Botany, 52(Suppl_1), 487–511. Persoon, C. H. (1794). Dispositio methodica fungorum. Römer's Neues Magazin für die Botanik, 1, 81–128.

Wood, J. A., Knights, E. J., & Choct, M. (2011). Morphology of chickpea seeds (*Cicer arietinum* L.): Comparison of desi and kabuli types. International Journal of Plant Sciences, 172(5), 632–645.

World's Top Exports. (2024). Top chickpeas exports & imports by country. <https://www.worldstopexports.com/top-chickpeas-exports-imports-by-country/>

- Yadav, R. K., Tripathi, M. K., Tiwari, S., Asati, R., Chauhan, S., Paliwal, S., Parihar, P., Singh, P., Tripathi, N., & Yasin, M. (2023). Screening chickpea genotypes against *Fusarium* wilt disease under controlled conditions. *International Journal of Plant & Soil Science*, 35(19), 698-710.
- Yaeger, J. R., & Stuteville, D. L. (2002). Reactions of accessions in the annual *Medicago* core germplasm collection to *Erysiphe pisi*. *Plant Disease*, 86(3), 312–315.
- Young, N. D., & Udvardi, M. (2009). Translating *Medicago truncatula* genomics to crop legumes. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(2), 193–201.
- Young, N. D., et al. (2011). The *Medicago truncatula* genome sequence provides insight into the evolution of legume biology. *Nature*, 480, 520–524. <https://doi.org/10.1038/nature10625>
- Zahran, H. H. (1999). Rhizobium–legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63(4), 968–989.
- Zaidi, N., Douafer, L., & Hamdani, A. (2021). Diversity and abundance of terrestrial gastropods in Skikda region (North-East Algeria): Correlation with soil physicochemical factors. *The Journal of Basic and Applied Zoology*, 82, 41.
- Zaim S., 2016. Essai de lutte biologique contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* à l'aide des microorganismes de la rhizosphère de la culture du pois chiche. PhD Thesis, University of Mascara, Mascara, Algeria. 220 pp.
- Zaim S., Bekkar A.A., 2022. First report of *Fusarium redolens* causing Fusarium yellows on chickpea in Algeria. *Journal of Plant Pathology* 104 (2) <https://doi: 10.1007/s42161-022-01044-y>
- Zaim, S., Bekkar, A. A., & Belabid, L. (2018). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* combination on chickpea Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1447896>
- Zar, J. H. (2010). *Biostatistical Analysis* (5th ed.). Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ.
- Zeilinger, S., Gruber, S. G., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74–90.
- Zemouli-Benfreh, F., Henni, D.-E., & Merzoug, A. (2014). Fusarium wilt of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) in northwest Algeria. *African Journal of Agricultural Research*, 9(1), 168-175.

Zemouri, M., Rezig, F., & Benali, S. (2025). Soil characterization and variation of physicochemical parameters under conservation agriculture systems in Sétif (Algeria). *Soil Science and Agronomy*, 10(2), 145–156.

Zhang, J., Wang, J., Zhu, C., Singh, R. P., & Chen, W. (2024). Chickpea: Its origin, distribution, nutrition, benefits, breeding, and symbiotic relationship with *Mesorhizobium* species. *Plants*, 13(3), 429.

Zhu, H., Choi, H.-K., Cook, D. R., & Shoemaker, R. C. (2005). Bridging model and crop legumes through comparative genomics. *Plant Physiology*, 137(4), 1189–1196.

Zhuang W.Y., Guo L., Guo S.Y., Guo Y.L., Mao X.L., ... Zhang X.Q., 2005. Fungi of northwestern China. Ithaca (NY): Mycotaxon, Ltd.; p. 430.

Zohary, D., & Hopf, M. (1988). Domestication of plants in the Old World. Oxford: Clarendon Press.

V. Annexes

Annexe 1

Milieux de culture

1. Milieu PDA (Potato Dextrose Agar) selon Leslie & Summerell, (2006).

1.1. Composition pour 1 L de milieu

- Extrait de pommes de terre : 200 g
- Dextrose : 20 g
- Agar : 15–20 g
- Eau distillée : 1 L

1.2. Préparation

1. Faire bouillir 200 g de pommes de terre découpées pendant 20–30 minutes dans 500 mL d'eau.
2. Filtrer et compléter l'extrait à 1 litre avec de l'eau distillée.
3. Ajouter le dextrose et l'agar.
4. Chauffer jusqu'à dissolution complète.
5. Ajuster le pH à $5,6 \pm 0,2$.
6. Stériliser à l'autoclave (121 °C, 20 min).
7. Verser en boîtes de Petri sous hotte stérile.

2. Composition du milieu pauvre (Gélose nutritive)

2.1. Composition pour 1 L de milieu

- Agar-agar : 17 g
- Glucose : 0,5 g
- Eau distillée : 1 L

3. Milieu de culture PDB (Potato Dextrose Broth) selon Atlas, (2010)

3.1. Composition pour 1 L de milieu

- Extrait de pommes de terre : 200 g
- Dextrose : 20 g
- Eau distillée : 1 L

3.2. Préparation

1. Faire bouillir 200 g de pommes de terre épluchées et coupées dans environ 500 mL d'eau pendant 20–30 minutes.
2. Filtrer l'extrait à travers d'un filtre propre.
3. Compléter le volume à 1 litre avec de l'eau distillée.
4. Ajouter 20 g de dextrose.
5. Chauffer pour dissoudre complètement.
6. Ajuster le pH à $5,1 \pm 0,2$ comme indiqué par Atlas.
7. Distribuer en flacons.
8. Stériliser à 121 °C pendant 20 minutes.

4. Milieu RBA selon McFadden & Sutton, (1975)

4.1. Composition pour 1 L de milieu

- Peptone : 5 g
- Dextrose : 10 g
- KH_2PO_4 : 1 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,5 g
- Rose bengal : 0,017 g (17 mg)
- Agar : 20 g

- Eau distillée : 1 L
- Sulfate de streptomycine : 30 mg/L, (ajouté après stérilisation pour prévenir la croissance bactérienne sur tissus végétaux infectés).

4.2. Préparation

1. Mélanger tous les composants.
2. Chauffer jusqu'à dissolution complète.
3. Ajuster le pH à $5,6 \pm 0,2$, conformément aux recommandations de McFadden & Sutton.
4. Stériliser à 121 °C pendant 20 minutes.
5. Laisser refroidir à 50 °C.
6. Ajouter l'antibiotique.
7. Couler dans des boîtes de Petri sous conditions aseptiques.

5. Milieu gélosé à la carboxyméthylcellulose (Murti et al. 2018)

5.1. Composition pour 1 L de milieu

- Carboxyméthylcellulose (CMC) : 10 g (soit 1 %)
- NaNO_3 : 0,1 g
- Extrait de levure : 0,05 g
- KH_2PO_4 : 0,1 g
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0,1 g
- Glucose : 0,1 g
- Agar : 15 g
- Eau distillée : 1 L

5.2. Préparation

1. Dissoudre l'ensemble des composants dans environ 800 mL d'eau distillée.
2. Chauffer doucement jusqu'à dissolution complète de l'agar et homogénéisation de la CMC.
3. Compléter à 1 L avec de l'eau distillée.
4. Ajuster le pH à 5,5–6,0 (recommandé pour les ascomycètes).
5. Stériliser à 121 °C pendant 20 minutes.
6. Verser dans des boîtes de Pétri sous hotte stérile.

Annexe 2

1. Préparation de la solution mère d'acide indole-3-acétique (AIA) et établissement de la courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage de l'acide indole-3-acétique (AIA) a été établie à partir d'une solution mère préparée en dissolvant 0,10 g d'AIA dans un mélange de 90 mL d'eau distillée et 10 mL d'éthanol, soit une concentration de 1 mg/mL.

Des solutions étalon d'AIA (10, 20, 30, 40 et 50 µg/mL) ont été obtenues par dilutions successives dans le milieu de culture. Pour chaque concentration, 1 mL de solution étalon a été mélangé à 1 mL de réactif de Salkowski, puis incubé pendant 30 min à l'obscurité.

L'absorbance a été mesurée à 530 nm et la courbe d'étalonnage a été tracée en portant l'absorbance en fonction de la concentration en AIA. L'ajustement linéaire a donné l'équation : $y = 0,047x + 0,0924$ ($R^2 = 0,9573$), utilisée pour calculer la concentration d'AIA produite par les isolats à partir de leurs valeurs d'absorbance.

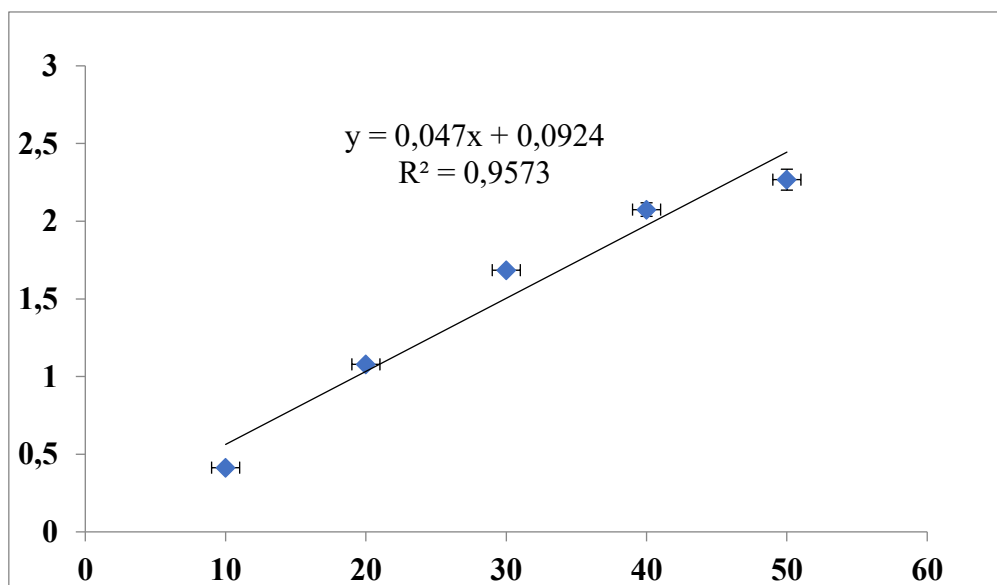


Figure : Courbe d'étalonnage de l'AIA

2. Réactif de Salkowski

- 1 mL de FeCl_3 0,5 M
- 50 mL d'acide perchlorique (HClO_4) 35 %

Annexe 3

1. Préparation de la solution de rouge Congo à 1 %

1.1. Composition pour 100 mL de solution (1 % w/v)

- Rouge Congo (poudre) : 1 g
- Eau distillée : 100 mL

1.2. Préparation

1. Peser précisément 1 g de rouge Congo.
2. Dissoudre dans environ 80 mL d'eau distillée sous agitation magnétique.
3. Compléter à 100 mL avec de l'eau distillée.
4. Filtrer la solution si nécessaire (papier Whatman n°1) pour éliminer les impuretés.
5. Conserver la solution dans un flacon en verre ambré, à température ambiante, à l'abri de la lumière.

2. Préparation de la solution de NaCl 1 M pour la décoloration

2.1. Composition pour 100 mL de NaCl 1 M

Pour préparer une solution 1 M :

- NaCl (chlorure de sodium) : 5,84 g
(Masse molaire = 58,44 g/mol)
- Eau distillée : 100 mL

2.2. Préparation

1. Peser 5,84 g de NaCl pur.
2. Dissoudre dans environ 70 mL d'eau distillée.
3. Compléter le volume à 100 mL et agiter jusqu'à dissolution complète.
4. Conserver dans un flacon propre à température ambiante.

3. Préparation du colorant Bleu Coton selon la méthode EGRAF

3.1. Préparation de la solution mère de bleu d'aniline

1. Peser 1 g de bleu d'aniline (Cotton Blue).
2. Dissoudre dans 50 mL d'eau distillée sous agitation jusqu'à dissolution complète.
3. Conserver la solution à l'abri de la lumière.

3.2. Préparation de la solution lactophénol-glycérol

1. Faire fondre doucement 10 g de phénol cristallisé au bain-marie ($\approx 50\text{ }^{\circ}\text{C}$).
2. Ajouter successivement :
 - 10 mL de glycérol,
 - 50 mL d'acide lactique.
3. Homogénéiser soigneusement le mélange.

3.3. Préparation du mélange

1. Ajouter **10 mL de la solution de bleu d'aniline** à la solution lactophénol-glycérol.
2. Mélanger doucement jusqu'à obtenir une solution homogène.
3. Transférer dans un flacon en verre ambré.
4. Protéger de la lumière en entourant le flacon de papier aluminium.

Le colorant peut être conservé plusieurs mois à température ambiante.

Annexe 4

Analyses statistiques : Chapitre 1

Analyse de la variance à deux facteurs de la croissance mycélienne des *FOC*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Jour)	356,0434	3	11348	1,43E-82
C(Souche)	7,67175	4	183,3884	6,54E-33
C(Jour):C(Souche)	2,10225	12	16,751	6,46E-15
Résiduelle	0,6275	60		

Comparaison de diamètre moyen des souches *FOC* au 8^{ème} jour (moyenne $\pm$ écart-type, test de Tukey).

Souche	Moyenne (mm)	Écart-type	Groupe
FOC3	8,50	0,00	a
FOC1	8,35	0,10	a
FOC5	8,03	0,15	a
FOC6	7,85	0,19	b
FOC2	7,83	0,26	b

Analyse de la variance des mensurations de la longueur des Macroconidies de *FOC*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Souche)	970,0302	4	44,04631	7,81E-28
Résiduelle	1348,907	245		

Analyse de la variance des mensurations de la largeur des Macroconidies de *FOC*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Souche)	101,9194	4	422,9836	1,1E-108
Résiduelle	14,7584	245		

Analyse de la variance des mensurations de la longueur des Microconidies de *FOC*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Souche)	116,5454	4	33,88262	1,68E-22
Résiduelle	210,6804	245		

Analyse de la variance des mensurations de la largeur des Microconidies de *FOC*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Souche)	104,4582	4	931,3324	7,6E-147
Résiduelle	6,8698	245		

Analyse de variance de la sporulation des souches de *FOC*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Souche)	34,91874	8	253,1648	8,86E-35
Résiduelle	0,77585	45		

Comparaison de la sporulation des souches *FOC* au 10^{ème} jour (moyenne $\pm$ écart-type, test de Tukey).

Souche	Moyenne	Écart-type	Groupe Tukey
FOC1	8200000	1113553	a
FOC2	19400000	871779,8	c
FOC3	6000000	916515,1	a
FOC5	9800000	721110,3	b
FOC6	21700000	871779,8	c

Annexe 5

Analyses statistiques : Chapitre 2

Analyse de variance de l'effet *in vitro* des isolats de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne de FOC3

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	34,91874	8	253,1648	8,86E-35
Résiduelle	0,77585	45		

Classification des groupes homogènes selon le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) de l'effet *in vitro* des isolats de *Trichoderma* sur la croissance mycélienne de FOC3

Isolat	Moyenne J4	Écart_type J4	Group Tukey
FOC3 seul	3,85	0,361939	A
FOC3 + T16	1,6	0,06603	B
FOC3 + T5	1,566667	0,037238	B
FOC3 + T6	1,566667	0,040825	B
FOC3 + T1	1,533333	0,083586	B
FOC3 + T7	1,448333	0,04446	B
FOC3 + T12	1,398333	0,078592	B
FOC3 + R5	1	0,027568	C
FOC3 + T13	0,998333	0,029269	C

Analyse de variance de l'évaluation comparative de l'inhibition de la croissance mycélienne (MGI) de FOC3 par les isolats de *Trichoderma*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	1785,069	7	18,3222	1,16E-10
Résiduelle	556,7233	40		

Classification des groupes homogènes selon le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) de l'évaluation comparative de l'inhibition de la croissance mycélienne (MGI) de FOC3 par les isolats de *Trichoderma*

Traitement MGI	Moyenne (%)	Écart_type	Groupe Tukey
R5	70	2,53	a
T13	70	2,64	a
T7	65,4	3,65	b
T12	65,5	3,83	b
T1	63,5	4,47	b
T5	63,9	3,8	b
T6	62,9	4,08	b
T16	61,8	3,88	b

Analyse de variance de la sévérité de la maladie et évaluation de l'efficacité des traitements à base de *Trichoderma*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	65,94048	5	156,3953	2,29E-23
Résiduelle	3,035714	36		

Classification des groupes homogènes selon le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) pour la sévérité de la maladie et évaluation de l'efficacité des traitements à base de *Trichoderma*.

Traitement	Moyenne	Ecart_type	Groupe Tukey
T-	0.00	0	a
FOC3 + T16	2.75	0,188982	f
FOC3 + T13	2.85	0,31135	e
FOC3 + T5	3.25	0,267261	d
FOC3 + T1	3.5	0,323407	c
T+	3.75	0,353553	b

Analyse de variance de la production d'acide indole-acétique (AIA)

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	558,1493	8	136,6923	8,27E-20
Résiduelle	13,78098	27		

Classification des groupes homogènes selon le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) pour la production d'acide indole-acétique (AIA)

Traitement	Moyenne AIA ($\mu\text{g/mL}$)	Écart-type	Groupe Tukey
T13/FOC3	16,177	0,621	a
T13	15,961	0,371	a
FOC3	13,846	0	b
T1/FOC3	12,925	0,63	bc
T1	11,177	1,289	c
T5/FOC3	7,442	0,727	d
T5	7,066	1,1	d
T16	6,753	0,46	de
T16/FOC3	5,462	0,246	e

Analyse de variance bifactorielles de l'indice NBI

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	206,4726	4	2,54565	0,045745
C(Temps)	900,8243	3	14,80864	9,34E-08
C(Traitement):C(Temps)	507,8642	12	2,087193	0,02687
Résiduelle	1622,16	80		

Analyse de variance bifactorielles de l'indice CHL

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	543,9009	4	6,317219	0,000181
C(Temps)	1357,776	3	21,02679	3,86E-10
C(Traitement):C(Temps)	449,3815	12	1,739803	0,073558
Résiduelle	1721,963	80		

Analyse de variance Monofactorielles de l'indice CHL semaine 1

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	105,9032	4	2,035448	0,127962
Résiduelle	260,1471	20		

Analyse de variance Monofactorielles de l'indice CHL semaine 2

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	447,4384	4	4,561527	0,008824
Résiduelle	490,448	20		

Analyse de variance Monofactorielles de l'indice CHL semaine 3

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	248,9744	4	3,20282	0,034727
Résiduelle	388,68	20		

Analyse de variance Monofactorielles de l'indice CHL semaine 4

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	190,9664	4	1,638668	0,203712
Résiduelle	582,688	20		

Analyse de variance bifactorielles de l'indice FLAV

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	0,114494	4	2,006906	0,101411
C(Semaine)	0,124404	3	2,907485	0,039663
C(Traitement):C(Semaine)	0,060306	12	0,352358	0,975722
Résiduelle	1,141	80		

Analyse de variance pour la croissance végétale aérienne du pois chiche

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Bloc)	146,7762	4	1,104472	0,368975
Résiduelle	1229,257	37		

Analyse de variance de la croissance racinaire du pois chiche

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Traitement)	110,3846	4	20,44303	3,24E-08
Résiduelle	40,49714	30		

Classification des groupes homogènes selon le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) pour la croissance racinaire

Traitement	Moyenne (cm)	Groupe Tukey
T13	11,9	e
T16	11,4	d
T-	10,8	c
T5	8,4	b
T1	7,1	a

Annexe 6

Analyse statistique : Chapitre 3

Analyse de variance monofactorielle par jour des interactions de *FOC* avec *Pois chiche* et *Medicago truncatula*

Jour	Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
11	C(Genotype)	13,08333	2	266,9	9,65E-28
	Résiduelle	1,25	51		
14	C(Genotype)	33,58333	2	148,9348	5,07E-22
	Résiduelle	5,75	51		
21	C(Genotype)	18,25	2	148,92	5,08E-22
	Résiduelle	3,125	51		
28	C(Genotype)	27,75	2	188,7	2,7E-24
	Résiduelle	3,75	51		

Analyse de variance bifactorielle des interactions de *FOC* avec *Pois chiche* et *Medicago truncatula*

Source	som. carr.	df	F	PR(>F)
C(Jour)	238,6979	3	1169,835	3,2E-128
C(Genotype)	87,02083	2	639,7207	1,3E-88
C(Jour):C(Genotype)	5,645833	6	13,83483	3,54E-13
Résiduelle	13,875	204		

Classification des groupes homogènes selon le test de Tukey ($\alpha = 0,05$) des interactions de *FOC* avec *Pois chiche* et *Medicago truncatula* par jour

Jour	Génotype	Moyenne	Écart_type	Groupe Tukey
11	Pois chiche	1,08333333	0,20412415	B
	A17	0,08333333	0,20412415	A
	F83005.5	0	0	A
14	Pois chiche	1,83333333	0,40824829	B
	A17	0,25	0,41833001	A
	F83005.5	0,08333333	0,20412415	A
21	Pois chiche	2,83333333	0,25819889	C
	A17	2	0,31622777	B
	F83005.5	1,41666667	0,20412415	A
28	Pois chiche	3,91666667	0,20412415	C
	A17	2,91666667	0,37638633	B
	F83005.5	2,16666667	0,25819889	A

Communications internationales

CERTIFICATE

is awarded to

Ibrahim SEKKAL, Djamel MAHIOUT

for the oral paper presentation entitled

**CHARACTERIZATION OF FUSARIUM SPECIES CAUSING WILT
DISEASE IN CHICKPEA (CICER ARIETINUM L.) IN ALGERIA**

**within the XVI International Scientific Agriculture Symposium
"AGROSYM 2025"**

**that has been held from 2nd to 5th October 2025 on
Jahorina mountain, Bosnia and Herzegovina**

Please consider this certificate as an official document to facilitate any procedures related to your professional career.



Dr. Hamid El Bilali

President of Scientific Committee



Prof. dr Vesna Milic

President of Organization Committee





CERTIFICATE _____ of participation _____

Presented to

Ibrahim SEKKAL

To honor your valuable participation in the 14th Arab Congress of Plant Protection (ACPP 2025) held from November 03rd to 07th, 2025,

organized by The Arab Society for Plant Protection, in collaboration with The National Higher School of Agronomy (ENSA), and Plant Protection and Technical Controls Directorate (DPVCT).

in an oral presentation titled: **Isolation and identification of *Fusarium* spp. associated with Fusarium wilt of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Algeria.**

Co-authored by: Djamel MAHIOUT.

14th Acpp 2025
الأستاذ: محمد بيهقي
رئيس اللجنة العلمية

14th Acpp 2025
الأستاذة: هدى بوزعجة
رئيس اللجنة التحضيرية

Communications nationales



P.S.C.P



ATTESTAION DE PARTICIPATION



4^{ème}

SEMINAIRE SCIENTIFIQUE NATIONAL UNIVERS, TERRE, NATURE & VIE

Tlemcen le 21 Février 2026

Le président du séminaire atteste que :

SEKKAL Ibrahim Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
 MAHIOUT Djamel Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
 BOUZOUNA Mohammed Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
 BOUSKHOURLI Youssef Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
 GAZOU Karima Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
 BESSAHA Sihem Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
 CHARREF BENDAHHA Abdelghani Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.

A (ont) **participé au 4^{ème} séminaire scientifique national univers, terre, nature & vie** organisé par la Startup Pedagogic and Scientific Conferences and Publications Tlemcen en collaboration avec la Maison des Universitaires pour l'édition, l'imprimerie et la diffusion Tlemcen ainsi que de la Maison Ettachfniya Etlimsania pour l'édition, l'imprimerie et la diffusion Tlemcen qui s'est tenu le **21 Février 2026** à Tlemcen par une communication orale intitulée :
Biological control of chickpea vascular wilt caused by Fusarium oxysporum f. sp. ciceris race 6 using native Trichoderma spp. from Algerian soils



Le président du séminaire



La présidente du comité scientifique



Le président du comité d'organisation



P.S.C.P



ATTESTATION DE PARTICIPATION



4^{ème}

SEMINAIRE SCIENTIFIQUE NATIONAL UNIVERS, TERRE, NATURE & VIE

Tlemcen le 21 Février 2026

Le président du séminaire atteste que :

SEKKAL Ibrahim Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.
MAHOUT Djamel Plant Protection Laboratory. Abd El Hamid Ibn Badis-Mostaganem University, Algeria.

A (ont) **participé au 4^{ème} séminaire scientifique national univers, terre, nature & vie** organisé par la Startup Pedagogic and Scientific Conferences and Publications Tlemcen en collaboration avec la Maison des Universitaires pour l'édition, l'imprimerie et la diffusion Tlemcen ainsi que de la Maison Etachfniya Etlimsanina pour l'édition, l'imprimerie et la diffusion Tlemcen qui s'est tenu le **21 Février 2026** à **Tlemcen par une communication orale intitulée :**

Contrasting Responses of Two Medicago truncatula Lines to Fusarium oxysporum f. sp. ciceris Race 6



Le président du séminaire



La présidente du comité scientifique



Le président du comité d'organisation