

République Algérienne démocratique et populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-
Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة والحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par :

Mlle GAZOU Karima

et

M. CHAREF BENDAHA Abdelghani

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité : Protection des végétaux

Thème

Contribution à la recherche des *Trichoderma* antagonistes de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* et étude de leurs capacités à promouvoir la croissance des plantes de *Cicer arietinum* L.

Soutenue publiquement le 07/07/2025

Devant le Jury

| | | | |
|--------------|----------------------|-----|------------------|
| Président | M. BOUZOUINA Mohamed | Pr | Univ. Mostaganem |
| Examinatrice | Mme SAIAH Farida | MCB | Univ. Mostaganem |
| Encadreur | M. MAHIOUT Djamel | MCA | Univ. Mostaganem |

Année universitaire : 2024-2025

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le Tout-Puissant qui nous a donné la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadreur, Monsieur Mahiout Djamel, pour son accompagnement précieux, sa disponibilité, sa rigueur scientifique et ses conseils éclairés qui nous ont guidés tout au long de ce projet. Son encadrement bienveillant a largement contribué à la réussite de ce travail.

Nos sincères remerciements vont à Monsieur Bouzouina Mohammed, pour avoir accepté de présider ce jury, ainsi que pour ses précieux conseils et orientations durant nos travaux de laboratoire.

Nos sincères remerciements vont également à Madame Saiah Farida, pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier chaleureusement l'ensemble des enseignants de notre parcours pour la qualité de leur enseignement, ainsi que pour les compétences scientifiques, techniques et humaines qu'ils nous ont transmises au fil des années.

Nous adressons également nos vifs remerciements à Monsieur Sekkal I., doctorant au sein du laboratoire, pour ses conseils techniques, sa disponibilité et son aide précieuse dans les phases pratiques du projet. Nous remercions aussi Monsieur Berrahal, ingénieur au sein laboratoire Protection des végétaux, pour son soutien.

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet, que ce soit par leur aide, leurs encouragements ou leur soutien moral.

À tous, nous vous disons merci.

Dédicaces

C'est avec une profonde gratitude que je dédie ce travail de fin d'études à toutes celles et ceux qui ont, de près ou de loin, illuminé mon chemin. Leur présence bienveillante a donné à ces années d'efforts un sens plus riche et une lumière plus douce.

À mes très chers parents,

Pour votre amour inconditionnel, discret et constant. Vos silences emplis d'affection, vos regards chargés d'espérance, et les innombrables sacrifices consentis dans l'ombre ont été le socle sur lequel j'ai bâti ma confiance. Ce travail est le fruit de votre dévouement.

À ma sœur Fatma,

Dont la présence est un souffle apaisant. Tu es cette force tranquille, ce pilier silencieux sur lequel je peux m'appuyer, cette main tendue qui jamais ne tremble. Ton soutien indéfectible est l'une de mes plus grandes forces.

À mes frères, Mohamed et Adem,

Pour votre présence rassurante et votre affection paisible. Votre manière si simple et si précieuse de me faire sentir que vous êtes là, même sans un mot, m'a toujours réconfortée.

À mes amies : Manel, Douaa, Halima, Manar, Heyame,

Votre amitié est un abri, une lumière fidèle dans les silences comme dans les tempêtes. Merci pour votre soutien délicat et votre bienveillance constante, qui n'ont jamais failli, même lorsque vous traversiez vos propres épreuves.

À mes âmes sœurs,

Celles qui ont su tendre la main quand tout vacillait, celles qui ont été ma lumière dans l'obscurité, mon épaule dans la tourmente, celles qui ont essuyé mes larmes avec douceur et rallumé l'étincelle en moi.

À vous, Sarah, Amal, Fatma :

Vous qui êtes ma force silencieuse, mon refuge discret, Restez, pour toujours, ce phare et ce soutien qui m'élèvent.

À Abdelghani,

Mon binôme exemplaire. Je te remercie pour ton sérieux, ta précieuse écoute et ta constance infaillible. Cette aventure n'aurait pas été la même sans notre collaboration rigoureuse et sereine.

Enfin, ma reconnaissance la plus sincère va à : Mon directeur de mémoire, Monsieur Mahiout, Pour sa disponibilité, ses conseils avisés et sa confiance, qui ont été déterminants dans l'aboutissement de ce projet. Votre rigueur et votre pédagogie ont été une source d'inspiration.

À l'ensemble de mes enseignants en Protection des Végétaux, Pour la richesse de votre savoir, transmis avec passion et humanité.

Et à tous mes camarades de promotion, Notamment Fatima et toutes les filles :

Merci pour l'entraide, les rires partagés et les efforts collectifs qui ont rendu ce parcours inoubliable.

À chacun de vous, merci.

Karima

Dédicaces

Je tiens à remercier mes chers parents, mon père de qui j'ai hérité la passion de l'agriculture, ma mère qui m'a appris à aimer la science, mes amis les plus proches qui ont toujours constitué une source de positivité, mon entourage professionnel et familial restreint, qui m'a aidé à atteindre mes objectifs académiques. Enfin, je remercie mon binôme, qui a travaillé dur pour la réussite de ce travail.

Mille merci à vous tous,

Abdelghani

Résumé

Quatre isolats *Trichoderma*, isolés à partir des sols de Sétif et de 'El tarf, sont caractérisées morphologiquement. L'évaluation de leur capacité antagoniste *in vitro* a été réalisée. Toutes les souches testées montrent une activité mycoparasitaire importante.

Pour confirmer ces résultats, deux isolats de *Trichoderma* (T5 et T16) sont sélectionnées pour tester leur pouvoir antagoniste *in vivo*. Des plantules de pois chiche sont testées suivant 4 modalités ; les lots de plantules âgées de 10 jours sont inoculées par submersion de leurs racines, pendant 30 minutes, dans une suspension (10^{+6} spores/ml) de *Fusarium oxysporum f.sp.ciceris* (FOC 132), les deux autres lots sont inoculés chacun avec une souche différente de *Trichoderma* (T16 ou T5) en mélange à volume égal avec l'inoculum de FOC 132 (10^{+6} spores/ml). Le lot de plantules témoin est traité selon la même procédure d'inoculation, mais avec de l'eau distillée stérile. Le calcul des AUDPC des lots inoculés a permis de conclure à une différence significative, car la souche le traitement réalisé avec T5+FOC 132, a permis de retarder la maladie. L'isolat T5 malgré qu'elle n'a pas supprimé la maladie, elle a freiné son évolution rapide.

Les capacités des isolats T5 et T16 à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche sont également testés. Les paramètres tels que la hauteur des plantes et le développement du système racinaire sont vérifiés. Des indicateurs biochimiques, mesurés à l'aide d'un capteur optique (Dualex[®]), ont montré une amélioration de la croissance et de l'état nutritionnel des plantes traitées par *Trichoderma* spp.

Les indices NBI, Chl et Flavonols sont notés à 7, 14, 21, 28 jours après inoculation. L'étude a examiné l'impact des isolats de *Trichoderma* T5 et T16 sur l'équilibre azoté (NBI), l'indice de chlorophylle (Chl) et la production de flavonoïdes chez les plantules de pois chiche.

L'isolat T5 a montré un effet bénéfique significatif sur le maintien de l'équilibre azoté (NBI), limitant sa dégradation à un niveau quasi insignifiant. Ceci suggère que T5 pourrait améliorer l'absorption ou l'utilisation de l'azote par les plantes. De plus, seule l'isolat T5 a réduit la production de flavonoïdes, ce qui indique une potentielle diminution du stress chez la plante.

En revanche, l'isolat T16 n'a pas eu d'effet protecteur sur le NBI, affichant une performance similaire aux contrôles.

Concernant l'indice de chlorophylle (Chl), aucune des souches de *Trichoderma* n'a empêché complètement sa dégradation. Le traitement avec FOC 132 a montré la baisse la moins prononcée. Les isolats T5 et T16 n'ont pas stabilisé l'indice Chl; T5 s'est comportée de manière comparable au contrôle négatif (sain, non inoculé), et T16 a même entraîné la dégradation la plus significative de la chlorophylle.

L'analyse spectrophotométrique des niveaux d'hormone AIA chez les *Trichoderma* et FOC 132 montre une valeur de production la plus élevée, atteignant 13.84 mg/ml. Ensuite viennent T5 avec 7.13 mg/ml et T16 avec 6,94 mg/ml.

L'activité cellulolytique de l'isolat T16, testée sur milieu CMC, montre un indice d'hydrolyse de 0,95, en contaste avec la valeur de la souche T5 qui est égale à 0, et renforçant ainsi notre intérêt pour la première souche en tant qu'agent de lutte biologique.

Mots-clés : *Cicer arietinum* L., *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum f. sp. ciceris*, mycoparasitisme, promotion de la croissance, AIA, cellulases.

Abstract

Four *Trichoderma* strains isolated from soils in Sétif and El Tarf were morphologically characterized. Their in vitro antagonistic capacities were evaluated, and all tested strains exhibited significant mycoparasitic activity.

To confirm these results, two strains (T5 and T16) were selected for in vivo antagonism tests. Chickpea seedlings were subjected to four treatments: one group was inoculated with *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (FOC 132) by root immersion in a spore suspension (10^6 spores/ml) for 30 minutes; two other groups were inoculated with a mixture of FOC 132 and either T5 or T16 in equal volumes; the control group was treated with sterile distilled water. AUDPC calculations revealed a significant difference: the T5+FOC 132 treatment delayed disease progression. Although T5 did not eliminate the disease, it slowed its rapid development.

The growth-promoting abilities of T5 and T16 were also assessed. Parameters such as plant height and root development were measured. Biochemical indicators obtained via Dualex® optical sensor showed improved growth and nutritional status in *Trichoderma*-treated plants. NBI, Chl, and flavonol indices were recorded at 7-, 14-, 21-, and 28-days post-inoculation. T5 significantly preserved nitrogen balance (NBI), suggesting enhanced nitrogen uptake or utilization. It also reduced flavonoid production, indicating reduced plant stress. Conversely, T16 showed no protective effect on NBI and performed similarly to controls. Regarding chlorophyll index (Chl), neither strain prevented degradation. FOC 132 treatment showed the least decline. T5 behaved similarly to the healthy control, while T16 caused the most significant chlorophyll loss.

Spectrophotometric analysis of AIA hormone levels revealed the highest production in FOC 132 (13.84 mg/ml), followed by T5 (7.13 mg/ml) and T16 (6.94 mg/ml). Cellulolytic activity of T16 on CMC medium showed a hydrolysis index of 0.95, unlike T5 which had zero activity—highlighting T16's potential as a biocontrol agent.

Keywords: *Cicer arietinum* L., *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, mycoparasitism, growth promotion, AIA, cellulases.

الملخص

تم توصيف أربع عزلات من *Trichoderma* تم الحصول عليها من تربتي سطيف والطارف من حيث الشكل المورفولوجي. وقد أظهرت جميع العزلات المختبرة نشاطاً ميكوبارازيتياً مهماً في الاختبارات المخبرية. لتأكيد هذه النتائج، تم اختيار العزلتين T5 و T16 لاختبار قدرتهما الشيطانية في ظروف حية. تم اختبار ثلاث الحمص وفقاً لأربع معاملات: مجموعة واحدة تم تلقيحها بـ (*Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (FOC 132) عن طريق غمر الجذور في محلول بوع (10⁶ بوع/مل) لمدة 30 دقيقة؛ مجموعتان أخريان تم تلقيحهما بمزيج من FOC 132 مع T5 أو T16 بنسبة حجم متساوية؛ والمجموعة الضابطة تم معاملةتها بماء مقطر معقم. أظهرت حسابات AUDPC فرقاً معنوياً، حيث أن المعاملة بـ T5+FOC 132 ساهمت في تأخير تطور المرض. ورغم أن T5 لم تقض على المرض، إلا أنها أبطأت تطوره السريع.

تم أيضاً اختبار فترة T5 و T16 على تعزيز نمو نباتات الحمص. تم قياس مؤشرات مثل ارتفاع النبات وتطور الجذور. المقاسة بجهاز Dualox® تحسناً وأظهرت المؤشرات البيوكيميائية في النمو والحالة الغذائية للنباتات المعالجة بـ

Trichoderma.

تم تسجيل مؤشرات NBI، Chl، والفلافونولات في أيام 7، 14، 21، و28 بعد التلقيح. أظهرت T5 تأثيراً إيجابياً في الحفاظ على توازن النيتروجين (NBI)، مما يشير إلى تحسين امتصاص أو استخدام النيتروجين. كما قلت من إنتاج الفلافونولات، مما يدل على انخفاض الإجهاد النباتي. أما T16 فلم تظهر تأثيراً وقائياً على NBI، وكانت نتائجها مشابهة للمجموعة الضابطة. فيما يتعلق بمؤشر الكلوروفيل (Chl)، لم تمنع أي من العزلتين تدهوره. وأظهرت معاملة FOC 132 أقل انخفاض. تصرفت T5 بشكل مشابه للضابط السليم، بينما سببت T16 أكبر انخفاض في الكلوروفيل.

أظهرت التحاليل الطيفية لهرمون AIA أن أعلى إنتاج كان في FOC 132 (13.84 ملغ/مل)، تليها T5 (7.13 ملغ/مل) و T16 (6.94 ملغ/مل). أظهرت T16 نشاطاً سليلوليتياً على وسط CMC بمؤشر تظل بلغ 0.95، بينما كانت قيمة T5 صفراً، مما يعزز الاهتمام بـ T16 كعامل مكافحة بيولوجية.

الكلمات المفتاحية: *Cicer arietinum* L.، *Trichoderma*، *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*، الميكوبارازيتية، تعزيز النمو، AIA، السليلوز.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: Carte de l'origine du pois chiche selon | 4 |
| Figure 2: Plant de pois chiche typique | 6 |
| Figure 3: Types de pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.) : Kabuli et Dési..... | 7 |
| Figure 4: Principaux pays producteurs de pois chiches dans le monde..... | 8 |
| Figure 5: Caractéristiques du <i>Fusarium oxysporum</i> | 17 |
| Figure 6: Flétrissement d'un plant de pois chiche suite a une infection par FOC | 19 |
| Figure 7: Brunissement du xylème d'une tige de pois chiche infectée par FOC..... | 19 |
| Figure 8: Mécanismes d'entrée du pathogène | 20 |
| Figure 9: Cycle de la maladie de <i>Fusarium oxysporum</i> | 22 |
| Figure 10: Morphologie de <i>Trichoderma</i> | 26 |
| Figure 11: Mécanisme de mycoparasitisme des <i>Trichoderma</i> | 30 |
| Figure 12: Modes d'action de <i>Trichoderma</i> | 31 |
| Figure 13: Méthode d'isolement des champignons du sol | 36 |
| Figure 14: Confrontation directe entre l'agent pathogène F.O.C et l'agent antagoniste <i>Trichoderma spp</i> | 38 |
| Figure 15: Diapositif expérimental d'évaluation <i>in vivo</i> du potentiel antagoniste de <i>Trichoderma spp.</i> vis-à-vis de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> | 41 |
| Figure 16: Méthode d'inoculation des plantes..... | 43 |
| Figure 17: Dispositif expérimental utilisé dans le test d'évaluation des <i>Trichoderma</i> pour leurs potentiel à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche..... | 44 |
| Figure 18: Mesure optique des pigments foliaires (chlorophylle, flavonoïdes) et du Nitrogen Balance Index (NBI) chez le pois chiche à l'aide du capteur portable Dualex®..... | 45 |
| Figure 19: Détection de l'activité cellulolytique de <i>Trichoderma spp</i> | 47 |
| Figure 20: Aspects microscopiques des isolas de <i>Trichoderma spp.</i> | 49 |
| Figure 21: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC 132 en présence de <i>Trichoderma sp.</i> | 51 |
| Figure 22: Évolution temporelle de la croissance mycélienne de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> (FOC 132) en en présence des isolats de <i>Trichoderma</i> (T5, T6, T12 et T16)..... | 52 |
| Figure 23: Observation microscopique de l'interaction des hyphes des antagonistes testés avec celles du pathogène (x100).. | 53 |
| Figure 24: Effet <i>in vitro</i> des souches de <i>Trichoderma</i> T5, T6, T12 et T16 vis-à-vis de FOC 132, après 7 jours de confrontation | 54 |
| Figure 25: Symptômes de fusariose vasculaire sur plantules de pois chiche traitées notés 17 jours après l'inoculation avec <i>Trichoderma</i> T5 et T16 comparativement au témoin avec parasite (T+) et témoin sans parasite et sans <i>Trichoderma</i> (T-). | 55 |
| Figure 26: Evolution de l'AUDPC de la maladie notée sur plantules de pois chiche (ILC 3279) inoculées avec T16+FOC, T5+FOC et FOC 132..... | 56 |
| Figure 27: NBI du pois chiche traités aux <i>Trichoderma</i> (T16 et T5) et non traités (T- et T+)..... | 57 |

| | |
|--|----|
| Figure 28: Indice chlorophylle (Chll) du pois chiche traités aux <i>Trichoderma</i> (T5 et T16) comparativement aux témoins (T- et T+) | 58 |
| Figure 29: Indice flavonoïdes du pois chiche traités avec <i>Trichoderma</i> (T5 et T16) comparativement aux témoins (T- et T+) | 58 |
| Figure 30: Hauteur des plantules du pois chiche traités aux <i>Trichoderma</i> (T5 et T16) et non traités (T- et T+) | 59 |
| Figure 31: Vitesse de croissance des plantules de pois chiche traités avec T5 et T16, | 60 |
| Figure 32: Importance du volume racinaire d'une plantule de pois chiche traité avec <i>Trichoderma</i> | 61 |
| Figure 33: Effet différentiel des traitements microbiens sur la production d'AIA du pois chiche | 62 |
| Figure 34: Évaluation de l'activité cellulolytique des deux souches de <i>Trichoderma</i> (T5/T16) | 62 |

Liste de tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Principaux pays producteurs de pois chiches ,..... | 8 |
| Tableau 2: Composition chimique (en g/100g de MS) des deux variétés de pois chiche | 10 |
| Tableau 3: Composition chimique du pois chiche | 11 |
| Tableau 4: Caractéristiques des principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie | 13 |
| Tableau 5: Les principales maladies qui affectant la culture du pois chiche en Algérie | 14 |
| Tableau 6: Souches de <i>Trichoderma</i> sélectionnées pour l'expérimentation | 48 |
| Tableau 7: Caractères morphologiques des isolats de <i>Trichoderma</i> | 50 |

Liste abrégations

APG (Angiosperm Phylogeny Group)

AUDPPC: Area Under Disease Progression Curve (Fr. Aire Sous la Courbe de Progression de la Maladie).

Chl : chlorophylle

F.O.C 132: *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*

Flav : Indice de flavonoïdes

NBI : Nitrogen balance index (Fr. indice de bilan azoté).

RB-S-F: *Le Mmilieu de culture*

sélectif RB-S-F

Sommaire

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste abrégées

Sommaire

| | |
|---|----|
| Introduction générale | 1 |
| Chapitre I : Généralités sur le pois chiche | 4 |
| 1. Généralités sur le pois chiche | 4 |
| 1.1 Origine du pois chiche | 4 |
| 1.2 Taxonomie | 5 |
| 1.3 Caractères morphologique | 5 |
| 1.4 Types de cultivars | 6 |
| 1.5 Pois chiches dans le monde | 7 |
| 1.6 Intérêts du pois chiche | 9 |
| 1.7 La culture du pois chiche en Algérie | 12 |
| 1.8 Cycle de culture et exigences édaphi-climatiques | 13 |
| 1.9 Les Principales maladies du pois chiche en Algérie | 14 |
| Chapitre II : L'agent pathogène (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>) | 15 |
| 2.1 Historique | 15 |
| 2.2 Le flétrissement vasculaire du pois chiche | 15 |
| 2.3 La maladie | 18 |
| 2.4 Epidémiologie | 19 |
| 2.5 Cycle évolutif de la maladie | 21 |
| 2.6 Moyens de lutte contre la fusariose vasculaire du pois chiche | 22 |
| Chapitre III : Généralités sur les <i>Trichoderma</i> | 25 |
| 3.1 Historique et taxonomie de <i>Trichoderma</i> | 25 |
| 3.2 Position systématique | 25 |
| 3.3 Morphologie de <i>Trichoderma</i> | 26 |
| 3.4 Taxonomie | 26 |
| 3.5 Caractérisation des espèces de <i>Trichoderma</i> | 27 |
| 3.6 Caractérisation des espèces de <i>Trichoderma</i> | 27 |
| 3.7 Ecologie et habitat | 28 |
| 3.8 Mode d'action de <i>Trichoderma</i> spp. En lutte biologique | 29 |
| 3.9 L'induction de la résistance de l'hôte | 31 |
| 3.10 Utilisation de <i>Trichoderma</i> comme agents de lutte biologique et promoteur de la croissance des plantes | 31 |
| Chapitre I : Matériels et méthodes | 34 |
| 1. Matériel | 34 |
| 1.2 Matériel végétal | 34 |
| 2. Méthodes | 34 |
| 2.2 Isolement de champignons à partir du sol | 35 |
| 2.3 Dénombrement des colonies | 36 |

| | | |
|--|---|----|
| 2.4 | L'obtention des cultures monospores..... | 37 |
| 2.5 | Caractérisation des champignons obtenus..... | 37 |
| 2.6 | Mise en évidence du mycoparasitisme des <i>Trichoderma</i> en milieu de culture..... | 37 |
| 2.8 | Evaluation des <i>Trichoderma</i> spp. pour leur potentiel à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche..... | 42 |
| 2.9 | Estimation de la teneur en azote, chlorophylle, flavonoïdes des feuilles..... | 44 |
| 2.10 | Activités métaboliques des champignons..... | 45 |
| 2.11 | Détection de l'activité cellulolytique par hydrolyse du Carboxy Methyl Cellulose (CMC)..... | 46 |
| Chapitre II : Résultats et discussion..... | | 48 |
| 1.1 | Caractérisation des <i>Trichoderma</i> | 48 |
| 1.2 | Evaluation in vitro du potentiel antagoniste de <i>Trichoderma</i> spp. vis-à-vis de FOC..... | 51 |
| 1.3 | Evaluation in vivo du potentiel antagonisme de <i>Trichoderma</i> spp. vis-à-vis de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> | 55 |
| 1.4 | Evaluation des <i>Trichoderma</i> spp. Pour leur potentiel à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche..... | 56 |
| 1.5 | Mesure des paramètres morphométriques des plantules..... | 59 |
| 1.6 | Estimation des paramètres biochimiques des isolats de <i>Trichoderma</i> | 61 |
| 2) | Discussion..... | 64 |
| Conclusion générale..... | | 75 |
| Références bibliographiques..... | | 78 |
| Annexe..... | | 90 |

Introduction générale

Introduction générale

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une légumineuse de grande importance socio-économique dans les zones arides et semi-arides, notamment dans les pays du bassin méditerranéen, de l'Asie du Sud et de l'Afrique du Nord. Il constitue une source précieuse de protéines végétales, de fibres et de micronutriments dans l'alimentation humaine. Il joue un rôle écologique essentiel dans les systèmes de rotation grâce à sa capacité de fixation symbiotique de l'azote (Muehlbauer & Sarker, 2017, Rizwan et al., 2022 ;). En Algérie, la culture du pois chiche est particulièrement développée dans les hauts plateaux et les régions de l'Est, malgré une productivité souvent instable.

En plus des contraintes d'ordre abiotique comme la sécheresse, la chaleur excessive et la salinité, la culture du pois chiche fait face chaque saison à des contraintes d'ordre biotique comme les attaques de certains ravageurs (noctuelles, taupins, mineuse etc..) et de maladies tels que l'antracnose et le flétrissement vasculaire ou wilt. Cette dernière, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), compte parmi l'une des maladies les plus destructrices pour la culture, mais aussi les plus difficiles à combattre (ITGC, 2018). Cette maladie fongique du sol peut causer des pertes de rendement pouvant dépasser 80 %, selon les conditions agroécologiques et la virulence de la souche pathogène (Bani et al., 2021 ; Kaur et al., 2019). Le champignon infecte les tissus vasculaires, provoquant un flétrissement progressif de la plante, un jaunissement foliaire, une nécrose interne des tiges, et conduit souvent à la mort prématurée des plants.

Les méthodes classiques de lutte, notamment la rotation culturale, l'utilisation de semences saines, et les traitements chimiques, ont montré des limites en termes de durabilité, de coût, et d'impact environnemental (Haddoudi et al., 2023). Par ailleurs, bien que la sélection de variétés résistantes ait permis des avancées, l'émergence de nouvelles races de FOC a réduit l'efficacité de cette stratégie à long terme (Kumar et al., 2020).

Dans ce contexte, la lutte biologique représente une approche prometteuse et écologique, fondée sur l'utilisation de micro-organismes antagonistes capables d'inhiber la croissance de FOC tout en stimulant pour certains les mécanismes de défense des plantes. Parmi ces agents, les champignons du genre *Trichoderma* sont les plus étudiés pour leur potentiel multifonctionnel. Ils agissent par mycoparasitisme, compétition, antibiose, et induction de résistance systémique (Zin & Badaluddin, 2020 ; Dagher et al., 2022). Des études récentes ont

montré qu'ils peuvent non seulement limiter la progression de la fusariose, mais aussi améliorer la croissance, l'absorption des nutriments, et la tolérance au stress des plantes hôtes (Singh et al., 2023 ; Kthiri et al., 2021).

L'efficacité des souches de *Trichoderma* est fortement influencée par les conditions édaphiques, climatiques et biologiques (Harman, 2004), d'où notre approche qui consiste l'intérêt à évaluer des isolats locaux mieux adaptés à l'environnement cible. Ce travail s'inscrit donc dans une démarche de lutte biologique durable visant à isoler et caractériser des souches de *Trichoderma* locales de deux régions agroécologiques d'Algérie (Sétif et El Tarf), et à étudier leur capacité à inhiber le développement de la fusariose, à retarder sa et à mesurer leur pouvoir leur pouvoir de promotion de la croissance des plants de pois chiche, dans un cadre expérimental combinant essais *in vitro* et en serre.

Partie I : Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le pois chiche

1. Généralités sur le pois chiche

1.1 Origine du pois chiche

Le pois chiche est parmi les premières légumineuses à graines domestiquées par l'homme depuis l'antiquité (Van Der Maesen., 1987). Les premières traces d'utilisation du pois chiche comme aliment remontent à environ 7000 ans.

L'aire de distribution du « *Cicer arietinum* » se situe approximativement au sud-est de la Turquie et ses frontières avec l'Iran à partir de là, la culture s'est étendue aux pays méditerranéens où seul le type « Kabuli » est cultivé (Ladizinski, 1975).

L'espèce spontanée ancestrale a été identifiée par l'analyse des profils électrophorétiques des protéines et des enzymes comme étant *Cicer reticulatum* Ladiz. ($2n=16$) distribuée dans le sud de la Turquie (**Figure 1**) (Yadav et al., 2007). Davis (1969) et Ladizinsky (1975) ont découvert deux espèces sauvages au sud-est de la Turquie et les ont dénommées respectivement *Cicer echinospermum* Davis et *Cicer reticulatum* Ladiz. Ces deux espèces ne diffèrent pas beaucoup de l'espèce cultivée *Cicer arietinum* L. et ont, en communs avec elle, des caractères morphologiques. Ladizinsky, (1998), a indiqué que *Cicer reticulatum* Ladiz., à $2n$ chromosomes =16, est identifié par des analyses des protéines et des enzymes, comme étant l'ancêtre spontané du pois chiche.



Figure 1: Carte de l'origine du pois chiche selon Singh (1977) et Saxena (1984).

1.2 Taxonomie

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une plante annuelle, autogame et diploïde ($2n = 2x = 16$ chromosomes), appartenant à la famille des Fabaceae. Il possède un génome d'environ 931 Mbp, avec un taux de recombinaison génétique relativement faible, inférieur à 1 % (Ahmed, 1999 ; Rasheed et al., 2021). Cette espèce légumineuse est largement cultivée pour ses graines riches en protéines, notamment dans les régions semi-arides.

D'un point de vue taxonomique, la classification de *Cicer arietinum* est la suivante (APG IV, 2016 ; The Plant List, 2024) :

- **Règne : Plantae (Plantes).**
- **Clade : Angiospermes (Plantes à fleurs).**
- **Clade : Dicotylédones vraies (Eudicots).**
- **Clade : Noyau des Dicotylédones vraies (Core Eudicots).**
- **Clade : Rosidées (Rosids).**
- **Clade : Fabidées (ou Eurosidées I).**
- **Ordre : Fabales.**
- **Famille : Fabaceae (Légumineuses).**
- **Sous-famille : Faboideae.**
- **Tribu : Cicereae.**
- **Genre : *Cicer*.**
- **Espèce : *Cicer arietinum* L.**

1.3 Caractères morphologiques

Sur le plan botanique, il est décrit comme une plante herbacée annuelle, dressée ou rampante couverte de poils glanduleux. Sa germination est du type hypogé (les cotylédons trouvent dans les premiers centimètres (Duke.,1981). Sa tige anguleuse a une hauteur de 0.20 à 1 mètre. Ses feuilles se composent de 7 à 17 folioles ovales et dentées. Le système racinaire est composé d'une racine principale pivotante pouvant atteindre 1 m de profondeur et des racines secondaires traçantes. Les nodules racinaires permettent la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique pour satisfaire environ 80 % des besoins de la plante en azote assimilable. Cette fixation symbiotique atteint son optimum à la floraison (Slama, 1998). Les feuilles

imparipennées sont composées de 7 à 15 folioles ovales et dentelées (**Figure 2**) et en position alternée sur un rachis. Les faces inférieures de ces feuilles sont couvertes par des poils unis et pluricellulaires.

Ces poils renferment des glandes qui synthétisent des acides organiques tels que l'acide oxalique (Slama, 1998). La tige possède également des poils glandulaires. Selon le génotype de pois chiche, à une certaine hauteur la tige se ramifie en deux ou trois branches pour donner lieu à des ramifications secondaires et en suite des ramifications tertiaires.

Les fleurs peuvent être blanches, bleues ou violettes ; solitaires et pédonculées. Les gousses sont renflées à 1 - 2 graines presque rondes. Le poids de 1000 grains varie de 200 à 600 grammes (Vander Maessen., 1972). Les gousses sont ovales et réniformes, renfermant en général 1 à 2 graines (figure 2), parfois 3 graines. Elles n'éclatent pas à maturité. Les graines sont plus ou moins rondes, dotées d'un bec, leur taille, leur couleur et leur aspect varient selon les variétés (Soltani et al., 2006).

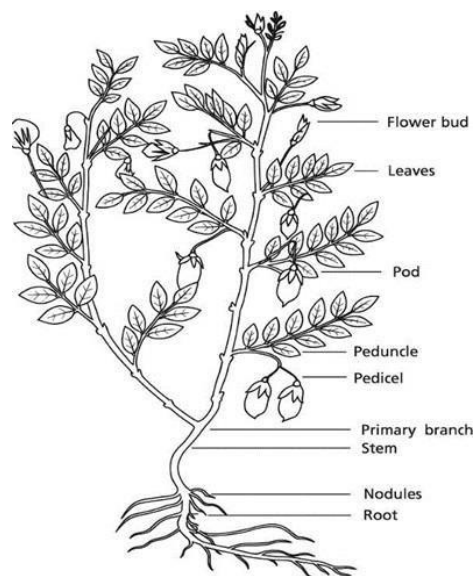


Figure 2: Plant de pois chiche typique (Singh et Diwakar, 1995).

1.4 Types de cultivars

L'espèce, *Cicer arietinum* L., présente une variabilité phénotypique et génotypique et se subdivise en 02 types : Kabuli et Desi (Singh, 1985). Les pois chiches de types Desi (Figure 3 C-D) sont cultivés dans le sud de l'Asie où il représente la majorité de la production. Cependant les types Kabuli (Figure 3 A-B) dominent la production dans la plupart des autres régions et spécialement dans l'hémisphère de l'Ouest. Les deux types sont destinés à la consommation humaine (Muehlbauer et Rajesh, 2008).

1.4.1 Le Macrosperma (Type Kabuli)

Ce type est cultivé dans la région méditerranéenne, et couvre 15% de la surface réservée au pois chiche (Singh et Diwakar, 1995).

1.4.2 Le Microsperma (Type Desi)

Il est cultivé principalement dans le subcontinent Indien (Ohri et Pal, 1991) et compte environ 85% de la surface du pois chiche, il a souvent une petite forme.

Quelques auteurs ajoutent un troisième type qui est le type Culabi qui se caractérise par des graines lisses, de couleur claire, ressemblant au pois, mais avec un bec caractéristique (Braun *et al.*, 1988)

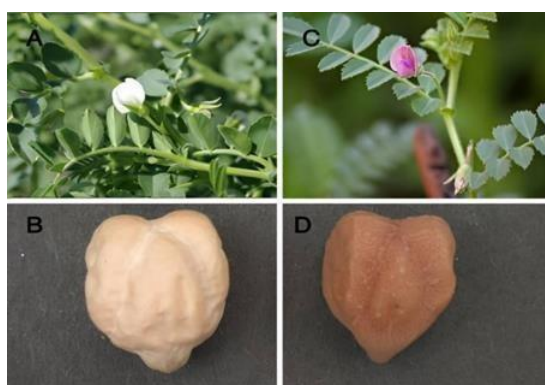


Figure 3: Types de pois chiche (*Cicer arietinum L.*) : Kabuli et Desi.

A; fleur de kabuli, B; grains de Kabuli, C ; fleur de Desi, D ; graines de Desi.

1.5 Pois chiches dans le monde

1.5.1 Production et commerce mondiaux du pois chiche

Le pois chiche (*Cicer arietinum L.*), en tant que légumineuse clé, occupe une position stratégique dans l'agriculture mondiale. Les données de la FAO (2020) mettent en lumière une superficie cultivée globale d'environ 14,8 millions d'hectares et une production annuelle estimée à 15,1 millions de tonnes.

La production est fortement concentrée en Asie, représentant 85 % du volume global. L'Inde se démarque comme le premier producteur mondial, avec une production annuelle d'environ 11 millions de tonnes, suivie du Pakistan (500 000 tonnes) et de la Turquie (630 000 tonnes). En parallèle, l'Amérique du Nord, notamment le Canada (450 000 tonnes) et les États-Unis (150 000 tonnes), a développé une production compétitive (**Tableau 1**) caractérisée par des rendements élevés (1 500 à 2 000 kg/ha) et une orientation prononcée vers les exportations (**Figure 4**).

Sur le continent africain, des dynamiques de croissance significatives sont observées en Éthiopie (500 000 tonnes) et dans la région du Maghreb. En Europe, bien que la production reste marginale (150 000 tonnes), elle montre des signes de développement, notamment en Espagne (70 000 tonnes) et en Italie (40 000 tonnes). Les flux commerciaux mondiaux, qui atteignent 1,5 million de tonnes en 2020, sont dominés par l’Australie (35 % des exportations) et le Canada (25 %). Paradoxalement, l’Inde demeure le premier importateur, répondant à une demande intérieure croissante.

Tableau 1: Principaux pays producteurs de pois chiches (2020-2025) : production, commerce et enjeux clés. Données moyennes 2020-2023 (FAO, 2025).

| Pays | Type | Prod*. (t) | Importation (t) | Exportation (t) | Caractéristiques principales | Enjeux contemporains |
|-----------|--------|---------------|--------------------|--------------------------|------------------------------------|--|
| Inde | Desi | 542 165 000 | ND | 60% marché mondial | Leader historique | Stress hydrique (ICRISAT, 2022) |
| Iran | Kabuli | 67 771 000 | - | 19 000 | Croissance +487% depuis 2019 | Impact des sanctions |
| Australie | Desi | 474 517 | - | 307 000 | Qualité premium | Logistique coûteuse |
| Canada | Kabuli | 165 222 | 133 000 | 180 000 | Innovation variétale | Variabilité climatique |
| Turquie | Kabuli | 13 758 000 | 50 000 | 310 000 | Hub régional | Conflits douaniers |

* Prod. : production



Figure 4: Principaux pays producteurs de pois chiches dans le monde.

1.5.2 Place de la culture de pois chiche dans le monde

Actuellement, la culture du pois chiche s'étend sur 54 pays répartis sur les cinq continents, attestant de son importance agricole et économique mondiale (Gaur et al., 2012). Elle occupe le troisième rang des cultures de légumineuses alimentaires après le haricot (*Phaseolus vulgaris*) et le pois (*Pisum sativum*), avec une production mondiale de 7 millions de tonnes pour une superficie cultivée de 10 millions d'hectares (FAO, 2020).

Les régions d'Asie occidentale et d'Afrique septentrionale, s'étendant du Pakistan à l'est au Maroc à l'ouest, et de la Turquie au nord jusqu'au Soudan et à l'Éthiopie au sud, constituent les principaux pôles de production mondiale (Saxena, 1996 ; Gaur et Gour, 2002). Le sous-continent indien est le principal contributeur, représentant 86 % de la production mondiale, suivi par l'Amérique latine (32 %), l'Afrique de l'Est (2,2 %) et le bassin méditerranéen (9 %) (Bouchez, 1985 ; Muehlbauer et Tullu, 1997). Des augmentations notables de production ont été observées aux États-Unis, au Canada et en Irak, tandis qu'une baisse a été signalée en Syrie et en Espagne (Singh et al., 1997).

Parmi les principaux producteurs figurent l'Australie, l'Inde et le Myanmar, tandis que les exportateurs majeurs incluent l'Australie, la Turquie, l'Iran, le Mexique et le Canada (AAC, 2006 ; McVicar, 2006). Les importations mondiales restent dominées par l'Inde, le Bangladesh, l'Espagne, le Pakistan et l'Algérie. Entre 2001 et 2004, les exportations mondiales ont varié de 998 à 682 millions de tonnes, tandis que les importations se situaient entre 1 118 et 732 millions de tonnes (McVicar, 2006 ; FAOSTAT, 2021).

1.6 Intérêts du pois chiche

1.6.1 Importance alimentaire

Kabuli et desi sont les deux types de pois chiches cultivés dont 80 à 85 % de la superficie est représentée par le type desi. Ce dernier est généralement cultivé dans les régions tropicales semi-arides, en revanche, le Kabuli dans les régions tempérées. Leurs graines sont la principale source d'acides aminés, de protéines, de fibres, de calcium, de fer et de phosphore. Elles sont pauvres en graisse (4-10%) et les graines immatures sont consommées comme en-cas, rôties/bouillies ou salées (Heuzé et al., 2016). Elles comprennent 52 à 70 % d'hydrates de carbone et 18 à 22 % de protéines, qui représentent collectivement environ 80 % de la masse totale de la graine sèche et 4 à 10 % de matières grasses et contiennent une quantité minimale de lipides (> 5 % de MS) (Heuzé et al., 2016 ; Jukanti et al., 2012). Le pois chiche est très riche en protéines digestibles (**Tableau 2**)

Tableau 2: Composition chimique (en g/100g de MS) des deux variétés de pois chiche (Maheri- Sis et al 2008 et Sanjeeva et al 2010).

| Constituents | Variété de pois chiche | |
|--------------------|------------------------|-------|
| | Kabuli | Desi |
| Protéines brutes % | 24.63 | 22.76 |
| Amidon % | 39.12 | 38.48 |
| Lipides% | 6.8 | 6.7 |
| Cendres% | 2.9 | 2.8 |
| Sucres soluble% | 8.43 | 7.53 |
| Fibres% | 6.49 | 9.94 |
| Tannins% | 0.09 | 0.12 |

En raison de sa valeur alimentaire, le pois chiche est destiné en majeure partie, pour la consommation humaine et le reste est utilisé pour le bétail, en fourrage (Rekha et Thiruvengadam, 2009). En ce qui concerne les macronutriments, l'amidon représente le principal glucide du pois chiche, tandis qu'il contient une proportion non négligeable de lipides, principalement sous forme de triglycérides et de phospholipides (Singh, 1985). Les acides gras dominants incluent les acides linoléique, oléique et palmitique, qui renforcent encore davantage sa valeur nutritionnelle (Ling et Robinson, 1976).

Par ailleurs, les fibres alimentaires insolubles du pois chiche jouent un rôle dans la réduction du risque de cancer colorectal, tandis que les fibres solubles contribuent à la gestion du poids corporel (Tlemsani, 2010) (**Tableau 3**).

Tableau 3: Composition chimique du pois chiche (Tlemsani, 2010).

| Eléments | Teneur (g) ou (mg)/100g |
|---------------------------------------|-------------------------|
| Protéines digestibles (g) | 23 |
| Carbohydrates (g) | 64 |
| Amidon (g) | 47 |
| Lipide (Ac.Linoleique et oléique) (g) | 5 |
| Fibres brutes (g) | 6 |
| Sures solubles (g) | 6 |
| Cendre (mg) | 3 |
| Phosphore (mg) | 343 |
| Calcium (mg) | 186 |
| Magnésium (mg) | 141 |
| Fer (mg) | 7 |
| Zinc(mg) | 3 |

1.6.2 Valeur pharmacologique

Le pois chiche contient plusieurs composés bioactifs qui sont associés à des avantages pour la santé humaine (keyimu et al., 2020). Ces composants bioactifs (acide phytique, anthocyanes, glucides, catéchines, fibres, alcaloïdes, flavonoïdes, stéroïdes, quercétine, saponines, tanins, inhibiteurs de trypsine et terpénoïdes) peuvent être pris directement à partir de la graine ou de son extrait sous forme de peptides (Feridy et al., 2020). Ils ont des qualités supplémentaires qui peuvent traiter les douleurs abdominales, les nausées, la constipation, les maux de tête et les flatulences provoquées par la libération excessive de bile, en plus de leur conférer des propriétés anti-inflammatoires, les nausées, la constipation, les maux de tête, et les flatulences provoquées par une libération excessive de bile, en plus de leur conférer une action anti-inflammatoire, antihypertensive, hypocholestérolémique, antioxydante et anticancéreuse

1.6.3 Intérêts agronomiques

Le pois chiche, grâce à sa capacité symbiotique à exploiter l'azote de l'atmosphère pour sa croissance, est considéré comme une culture privilégiée en agriculture durable puisqu'il permet de réduire la dépendance à l'engrais azoté (Babar et al., 2009).

On a aussi signalé que cette culture diminue le potentiel infectieux des maladies racinaires d'origine terrestre (Flandez-Galvez et al., 2003).

1.7 La culture du pois chiche en Algérie

1.7.1 La place du pois chiche en Algérie

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) constitue la deuxième légumineuse alimentaire cultivée en Algérie, après les fèves. Il joue un rôle important dans l'alimentation humaine en raison de sa richesse en protéines, en fibres et en minéraux. Historiquement, sa culture a connu une certaine expansion au cours des années 1980-1990 en termes de surfaces cultivées et de consommation, mais une régression en matière de productivité a également été observée (Anonyme, 1994).

Les rendements restent faibles, avec une moyenne de 9 quintaux par hectare, principalement à cause de contraintes agro-techniques, notamment les mauvaises périodes de semis, le manque de qualité des semences et l'absence d'une bonne maîtrise de l'enherbement (Hamadache & Aït Abdallah, 1998). La culture du pois chiche se concentre principalement dans les régions de l'Ouest et de l'Est algérien, notamment à Tlemcen, Aïn Témouchent, Mascara, Guelma et Skikda (ITGC, 2018). La production nationale reste insuffisante pour satisfaire la demande intérieure. Afin de relancer la filière, l'État algérien a mis en place un plan de développement incluant la distribution gratuite de semences et la revalorisation du prix d'achat garanti à 20 000 DZD le quintal (TSA, 2022).

La culture du pois chiche occupe une superficie moyenne de 27 000 ha, pour une production nationale qui oscille entre 17800 et 35000 tonnes par an (**Figure 4**) (DSASI, MADRP, 2009-2017).

1.7.2 Zones de culture du pois chiche

Le pois chiche résiste bien à la sécheresse en raison de son système racinaire pivotant. Il n'est pas bien adapté aux zones de grande humidité, aux sols salins et aux sols gorgés d'eau. Les zones favorables à la culture du pois chiche se situent essentiellement à l'Ouest, au niveau des plaines de Maghnia, Aïn Témouchent, Sidi Bel Abbès, la plaine de Ghris, et le bas Chélif, ainsi qu'au niveau des Hauts Plateaux de Saida et de Tiaret. A l'Est, au niveau des Hauts Plateaux de Bordj Bou Arreridj, d'Oum El Bouaghi (Plateaux de Aïn M'Lila, Aïn Fekroun, Oum El Bouaghi et Aïn El Beida), ainsi que le Nord de Tébessa. Le pois chiche de printemps est cultivé dans le Nord-Ouest, le Centre et le Nord-Est du pays, alors que le pois chiche d'hiver est cultivé dans les Hauts Plateaux de l'Est, Centre et Ouest.

1.7.3 Principales variétés cultivées en Algérie

Dans le cas des variétés de pois chiche, le choix doit être orienté selon l'adaptation aux conditions agroécologiques, la qualité culinaire recherchée et le potentiel productif de la variété. Le **Tableau 4** présente les principales caractéristiques des variétés cultivées en Algérie.

Tableau 4: Caractéristiques des principales variétés de pois chiche cultivées en Algérie (ITGC, 2020).

| | 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-tardive, 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 | | |

1.8 Cycle de culture et exigences édaphi-climatiques

1.8.1 Cycle de culture

Le pois chiche semble exiger des températures quotidiennes moyennes assez élevées (au-dessus de 15°C) pour réussir la formation de gousses à partir des fleurs précoces. En général, la plante effectue son cycle évolutif en 4 mois. Le pois chiche est généralement cultivé au printemps en raison de sa sensibilité à la maladie de l'anthracnose, et au froid. Certains cultivars supportent de basses températures qui atteignent -8°C, à conditions toutefois que ces températures soient de courte durée.

1.8.2 Exigences edaphi-climatiques

Le pois chiche est une culture peu exigeante en qualité du sol. Il peut être cultivé dans différents types de sol ; mais il préfère les sols lourds, profonds, bien drainés, de texture limoneuse et argilo-siliceuse et il redoute les sols calcaires qui prédisposent la plante à la chlorose ferrique (ITGC, 2011). Grâce à son système racinaire profond, le pois chiche est doté d'une certaine rusticité et d'une tolérance à la sécheresse (Verhis et al., 1999). Il craint toutefois le stress

hydrique pendant le stade de la floraison et le stade de remplissage des grains (Slama, 1998). Pour une culture de pois chiche de printemps, les besoins sont de 413 mm dans les zones arides et 297 mm dans les zones humides (Saxena, 1987).

Le pois chiche est très sensible à une mauvaise aération du système racinaire due à une mauvaise préparation du sol ; ce qui engendre des problèmes d'asphyxie racinaire et par conséquent des pertes à la levée (Berger et al., 2003) ; Le pois chiche est une légumineuse et fixe donc l'azote de l'air. Les apports de phosphore et de potassium devront être réalisés en fonction des analyses de sol et de l'objectif de rendement (ITGC, 2011). Le pH optimum du sol est autour de 6.

1.9 Les Principales maladies du pois chiche en Algérie

Tableau 5: Les principales maladies qui affectant la culture du pois chiche en Algérie.

| Types de maladies | Nom commun | Nom scientifique |
|----------------------------------|----------------------------------|---|
| Maladies Fongiques (Champignons) | Mildiou | <i>Peronospora viciae</i> f. sp. <i>pisi</i> |
| | Rouille | <i>Uromyces ciceris-arietini</i> |
| | Fusariose vasculaire | <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> |
| | Oïdium | <i>Erysiphe pisi</i> |
| | Anthracnose | <i>Colletotrichum truncatum</i> |
| Maladies bactériennes | Flétrissement bactérien | <i>Ralstonia solanacearum</i> |
| | Brûlure bactérienne des feuilles | <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>syringae</i> |
| | Chancre bactérien | <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> |
| | Pourriture molle | <i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i> |
| | Tache angulaire | <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>phaseoli</i> |
| Insectes ravageurs | Puceron vert du pois | <i>Acyrtosiphon pisum</i> |
| | Noctuelle (vers gris) | <i>Agrotis ipsilon</i> |
| | Mouche mineuse | <i>Liriomyza cicerina</i> |
| | Tétranyque rouge | <i>Tetranychus urticae</i> |
| | Charançon du pois | <i>Sitona lineatus</i> |

Chapitre II : L'agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*)

2.1 Historique

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

Le genre *Fusarium* compte principalement des espèces phytopathogènes (Pieckova et Jesenska, 1999 ; Agrios, 2005), nécrotrophiques, d'origine tellurique causant de sérieuses maladies dans le monde (Agrios, 2005). Cependant, ce genre regroupe des espèces appartenant à des agents causants des mycoses chez l'être humain (Pieckova et Jesenska, 1999). La production de mycotoxine est un phénomène très commun chez ce genre (trichothcenes, zearalenon, fumonisins) (Pieckova et Jesenska, 1999). Les formes spéciales de *F. oxysporum* causent principalement le flétrissement vasculaire de plusieurs espèces de plantes induisant des pertes de rendement importantes (Agrios, 2005 ; Schouten et al., 2004). Cependant plusieurs espèces du genre *Fusarium*, spécialement *F. solani* cause la pourriture des racines et des tiges et même des semences, cette pourriture est accompagnée par une production de mycotoxines (Agrios, 2005).

En Algérie le flétrissement fusarien du pois chiche a été rapporté pour la première fois par Bouznad (1989) et dans d'autres pays méditerranéens (Espagne, Tunisie, Maroc, Turquie) par Haware (1990).

2.2 Le flétrissement vasculaire du pois chiche

2.2.1 L'agent pathogène : *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*

2.2.1.1 Historique

Fusarium oxysporum est un champignon d'origine tellurique et cosmopolite qui présente une très grande diversité génétique et écologique (Armstrong et Armstrong, 1981 ; Beckman, 1987 ; Di-Pietro, 1998 ; ; Di-Pietro et al., 2003 ; Jimenez - Gasco et al., 2004 ;).

Cette espèce inclut plus d'une centaine de formes spéciales et races qui sont chacune spécifique d'une plante hôte, souvent des espèces végétales d'intérêt horticole, maraîcher ou agronomique. Elle inclut également des populations non pathogènes pour lesquelles aucune plante hôte n'a été identifiée à ce jour (Barik et al., 2010 ; Arroyo et al., 2003).

Elle est présente dans la plupart des sols cultivés dans le monde (Odds et al., 1998 ; Boutati et Anaissie, 1997). Les espèces phytopathogènes de *F. oxysporum* causent spécialement le flétrissement vasculaire (Di-Pietro, 1998 ; Tello et Lacasa, 1990).

La fusariose vasculaire attaque plusieurs plantes pérennes et annuelles, aussi bien dans les zones tempérées que dans les zones tropicales causant leur jaunissement et leur flétrissement (Di-Pietro et al., 2003 ; Di-Pietro, 1998 ; Namiki et al., 1994 ; Beckman, 1987).

Le champignon produit trois types de spores : les chlamydo-spores, les macroconidies et les microconidies (Booth, 1971). Le haut niveau de spécificité des souches pathogéniques au sein de *F. oxysporum* a conduit au développement des formes spéciales conçu pour permettre une bonne différenciation de ces souches similaires morphologiquement (Cunnington et al., 2009). Les souches qui ont une gamme d'hôtes identique sont assignées dans un groupe intraspécifique, nommé *formae speciales* (Armstrong et Armstrong, 1981 ; Snyder et Hansen, 1940), créé par Snyder et Hansen (Agrios, 2005). Les *forma speciales* sont distinguables par leur capacité à causer les symptômes du flétrissement sur une gamme d'hôte de plante limitée taxonomiquement (Snyder et Hansen, 1940 ; Armstrong et Armstrong, 1981)

Actuellement, cette espèce se compose de plus de 120 formes spéciales correspondant aux hôtes qu'elles infectent (Agrios, 2005), chacune de ces formes peut être divisé en races physiologiques et chaque race physiologique montre un modèle caractéristique de virulence sur des variétés différentielles dans la même espèce de plante hôte (Agrios, 2005 ; Armstrong et Armstrong, 1981).

2.2.1.2 Biologie

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

La reproduction asexuée de *Fusarium oxysporum* donne lieu à trois types de spores ; micro-conidies, macroconidies et chlamydo-spores.

- **Les micro-conidies**

Les microconidies unicellulaires ou bicellulaires, portés par un conidiophore court et simple se présentant sur des hyphes (**Figure 5**). Elles sont de forme ellipsoïdale avec 0-1 septa. De forme variable, elles peuvent être ovales à réniformes, et droites à courbées mesurant, 2.5 à 3.5 μm X 5 à 12 μm .

- **Les macroconidies**

Elles sont moins importantes en nombre que les micro-conidies et sont portées sur un conidiophore court ramifier ; se formant latéralement sur un hyphe de taille variable (3 à 15 μm x 3 μm à 5 μm). Leur forme peut être ovale à cylindrique et droite à courbées. Elles sont très nombreuses et sont uni ou bicellulaires, ovales ou cylindriques, mesurent 2.5-3.5 x 5-11 μm (Booth, 1975).

- **Les chlamydo-spores**

Les chlamydo-spores sont des organes de résistance aux conditions défavorables du milieu. Elles sont rondes lisses ou rugueuses (**Figure 5**). Elles se forment de façon solitaire ou en paire dans les cultures âgées de plus de vingt jours. Elles sont terminales ou intercalaires, produites sur les filaments mycéliens les plus âgés ou sur les macroconidies. Elles peuvent être formées seules, en paires ou en chainettes (Haware, 1990).

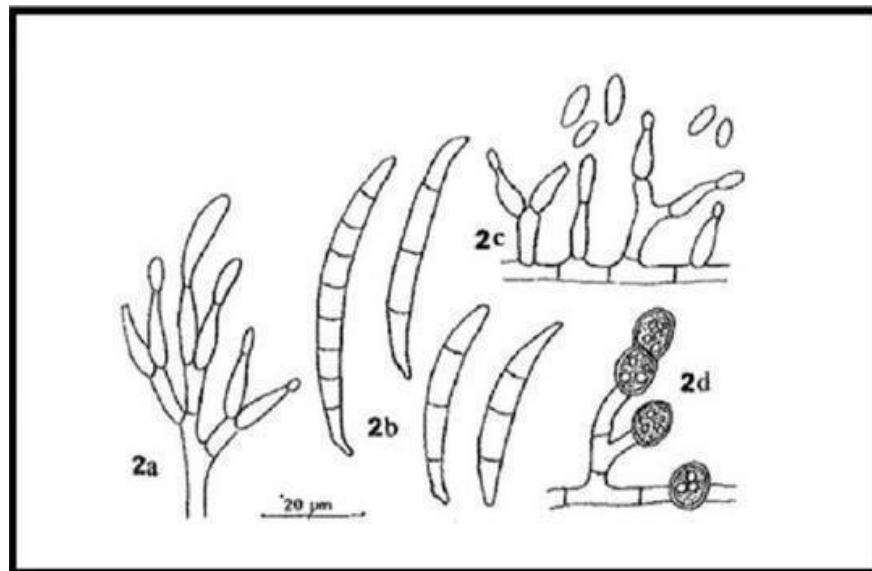


Figure 5: Caractéristiques du *Fusarium oxysporum* (Botton et al., 1985).
2a - macrophialides ; 2b -macroconidies ; 2c -microphialides et microconidies 2d- chlamydo-spores.

2.2.1.3 Taxonomie

Morphologiquement l'espèce *F. oxysporum* est caractérisée par un appareil sporifère du type sporodochia produisant des microconidies, des macroconidies et des chlamydo-spores ; ces derniers constituent les formes de résistance de cette espèce en condition défavorables dans la nature.

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

- **Règne** : Eumycota
- **Embranchement** : Ascomycota
- **S/ Embranchement** : Deuteromycètes Classe : Hyphomycetes.
- **S/Classe** : Hyphomycetidae.
- **Ordre** : Moniliales
- **Famille** : Tuberculariaceae
- **Genre** : *Fusarium*
- **Espèce**: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.

2.3 La maladie

2.3.1 Symptômologie

Les Plantes malades montrent des symptômes typiques de flétrissement dues aux maladies vasculaires (**Figure 6**). Les racines des plantes flétries ne montrent aucune pourriture externe mais lorsqu'elles sont fendues verticalement, le xylème montre une coloration brun foncé (Nene et coll., 1991) (**Figure 7**). Les gousses des plantes fanées semblent normales, mais les graines sont généralement plus petites, ridées et décolorées. Bien que les graines infectées puissent être détectées visuellement, les graines d'apparence normale récoltées à partir de plantes fanées peuvent également abriter le pathogène (Haware et Nene, 1982 ; Gupta, 1991).



Figure 6: Flétrissement d'un plant de pois chiche suite a une infection par FOC.



Figure 7: Brunissement du xylème d'une tige de pois chiche infectée par FOC

2.4 Epidémiologie

2.4.1 Mécanismes d'entrée du pathogène dans l'hôte

L'agent pathogène survit dans le sol ou les semences infectées sous forme de chlamydospores libres ou incorporées dans les cellules ou les tissus végétaux (Jimenez-Díaz et coll., 1989 ; Agrios, 2005). La température optimale pour la croissance du mycélium est de 25 à 30 °C et le pH du sol de 5 à 6,5 pH (Agrios, 2005).

L'agent pathogène reste dormant sous forme de chlamydospores dans les débris végétaux jusqu'à ce qu'il reçoive un stimulus pour germer par les glucides libérés provenant de parties de plantes hôtes ou non hôtes en décomposition (Schippers et Van Eck 1981). Les conidies infectent les plantes par les ouvertures naturelles ou les blessures dans les racines, en particulier dans les brèches de racines pivotantes et de poils absorbants. Les sucres, les acides aminés, les minéraux sécrétés sur la surface de la plante stimule la germination des conidies.

Foc peut entrer dans la cellule hôte soit par pénétration directe et/ou par voie des pores préexistants à la surface des cellules d'hôte. En pénétration directe, les hyphes fongiques produisent une forte pression physique sur la surface de la plante suivie par la sécrétion d'enzymes dégradant les parois cellulaires végétales. Cutinases, cellulases, pectinases et protéases sont les principales enzymes sécrétées par la plupart des champignons pathogènes pour la rupture de la cuticule, les matériaux cellulosesques, les pectines et les barrières protéiques présents à la surface des cellules végétales (Annis et Goodwin 1997 ; Walton 1994).

Les hyphes envahissants pénètrent au plus profond de l'hôte. Dans un premier temps, l'agent pathogène colonise les régions corticales du tissu racinaire progressant ensuite vers les régions vasculaires. Foc colonise exclusivement à l'intérieur des vaisseaux du xylème, se ramifie largement pour obstruer ces vaisseaux, détruisant le flux de nutriments, se dispersant et se répandant dans toute la plante et aboutissant finalement à la mort chez les plantes sensibles (**Figure 8**).

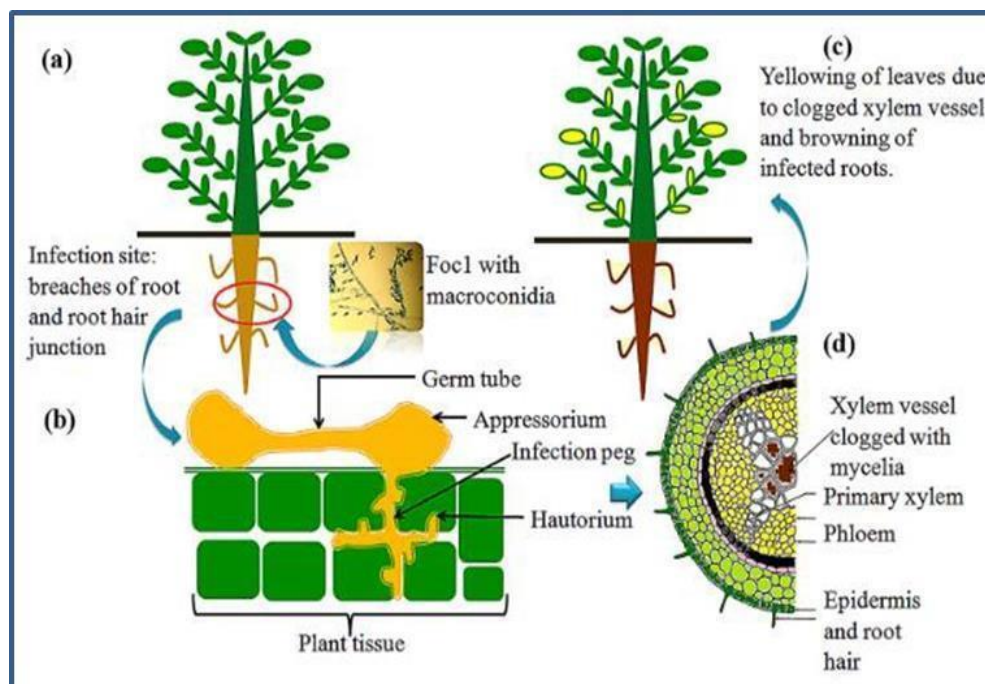


Figure 8: Mécanismes d'entrée du pathogène (Bhar et al., 2020)

a: Foc infecte le pois chiche à travers les brèches de la racine pivotante et la jonction des cheveux racinaires; b: les spores germent pour former un tube germinatif avec appressorium qui entrent dans les tissus profonds par les vésicules d'infection et produisent en outre un haustorium; c: le mycélium colonise les vaisseaux du xylème et entrave la circulation de l'eau; d: les symptômes de flétrissement ont commencé à apparaître, avec un jaunissement progressif des feuilles et un brunissement des racines. Source (Bhar et al., 2020).

Le flétrissement, l'affaissement et le jaunissement des feuilles se produisent et finalement la plante entière s'effondre en quelques jours.

Cet agent pathogène demeure dans le sol, les racines, les semences et les résidus végétaux infectés sous forme de chlamydospores et de mycélium pendant plus de 6 ans, ce qui sert d'inoculum pour le développement de la maladie au cours de la saison suivante (Jalali et Chand, 1992 ; Singh et coll., 2007 ; Jimenez-Díaz et al., 2015).

2.5 Cycle évolutif de la maladie

L'infection primaire se fait au moyen des chlamydospores (Haware et al., 1986). Leur germination dans le sol peut être inhibée par les exsudats des racines du pois chiche, phénomène qui a son importance dans la résistance de la plante à la maladie (Haware et Nene 1984). La spore germe en donnant un tube germinatif qui s'introduit à travers l'épiderme du système racinaire envahit les vaisseaux du xylème. Le développement du champignon (mycélium et conidies) obstrue les vaisseaux de la plante, ce qui induit par conséquent un flétrissement des plantes accompagné d'une coloration des tissus vasculaires (Gupta et al., 1986).

L'infection s'accompagne d'une réduction de la chlorophylle, parallèlement à une augmentation des acides organiques, des polyphénols et des hydrates de carbone. Les symptômes peuvent se manifester à deux stades de développement de la culture, ils apparaissent au stade plantule, à trois semaines après le semis : les feuilles des plantes affectées montrent une flaccidité suivie d'une coloration verte terne et d'un dessèchement conduisant à la mort précoce de la plante. Il se manifeste aussi chez les plantes adultes sous forme d'un jaunissement progressif allant du bas vers le haut de la plante, avec une nécrose des folioles. Il s'agit d'un flétrissement tardif appelé aussi jaunissement vasculaire. Dans les deux cas, les racines des plantes affectées gardent une apparence saine et leurs tiges montrent une coloration brune des tissus internes quand elles sont sectionnées verticalement (Traperco-Casas et Jimenez-Diaz, 1985 ; Haware 1988).

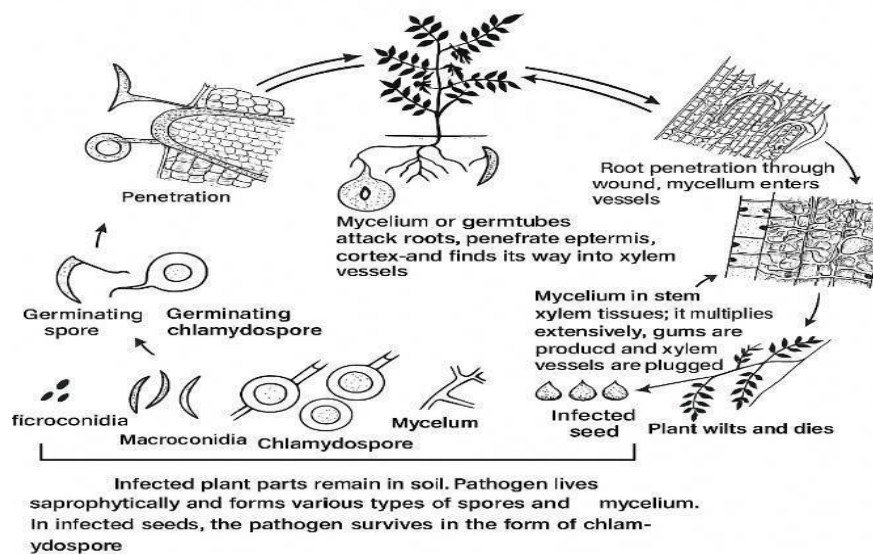


Figure 9: Cycle de la maladie de *Fusarium oxysporum*. (Jalali et Chand, 1992.).

2.6 Moyens de lutte contre la fusariose vasculaire du pois chiche

2.6.1 Lutte culturale

Les mesures préconisées consistent à éviter les conditions qui favorisent la fusariose : les plantes symptomatiques doivent être rapidement évacuées et détruites et le matériel contaminé doit être nettoyé. L'entretien d'un bon état sanitaire des sites de production et du matériel utilisé (semoir, système d'irrigation. etc.) est primordial. Les plantes saines doivent être cultivées de préférence dans un sol léger et acide, pauvre en azote et de calcium, avec manque de lumière (Elmer et Daughtrey, 2012).

2.6.2 Lutte chimique

La lutte contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* repose également sur l'usage de fongicides, testés in vitro et en conditions de culture. Trois catégories sont distinguées : fongicides systémiques, de contact et combinés.

- a. **Fongicides systémiques :** Le Carbendazime et le Benomyl ont montré une inhibition totale in vitro, réduisant l'incidence de la maladie à moins de 12 % en culture (Patra & Biswas, 2020 ; Haseeb et al., 2021). Le Tébuconazole s'est révélé très actif in vitro, mais son efficacité en plein champ reste à confirmer. Carboxine, efficace et compatible avec Trichoderma, s'intègre bien dans une lutte intégrée (Hossain et al., 2021).
- b. **Fongicides de contact :** Thirame a présenté une efficacité de 88–100 % in vitro et limité la maladie à 10 %, tout en étant compatible avec les agents biologiques (Mohamed et al., 2021).

- c. **Fongicides combinés** : L'association Carbendazime + Mancozèbe a montré une bonne efficacité *in vitro* mais reste modérée sur le terrain (14 % d'incidence). Carboxine + Thirame, avec 60 % d'inhibition, reste adaptée aux programmes de lutte intégrée (Yadav et al., 2021).

2.6.3 Lutte chimique contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*

Les fongicides systémiques à action préventive ou curative sont les plus couramment employés. Les benzimidazoles, tels que le carbendazime, agissent en bloquant la division cellulaire fongique via l'inhibition de la formation du fuseau mitotique, tandis que les triazoles, comme le tébuconazole, interfèrent avec la biosynthèse des ergostérols, composants essentiels des membranes cellulaires fongiques (Mukhtar, 2007 ; Kumar & Mane, 20172). Ces substances pénètrent dans les tissus végétaux et perturbent le développement du pathogène au sein du xylème, réduisant ainsi la progression de la maladie. Cependant, l'efficacité de ces traitements dépend fortement du moment d'application, de la densité d'inoculum et des conditions environnementales. Des études *in vitro* ont montré que le carbendazime, seul ou en combinaison (ex. avec le thirame ou le fosétyl-AI), peut inhiber totalement la croissance mycélienne de *F. oxysporum* f.sp.*ciceris*. Néanmoins, l'usage intensif de ces produits peut entraîner l'émergence de souches résistantes, des déséquilibres microbiens dans le sol, ainsi que des impacts environnementaux et sanitaires non négligeables (Okigbo, 2004 ; Carvalho, 2004).

L'apparition de résistance dans les populations de champignons, le coût élevé des fongicides, leurs effets sur l'environnement et leur incompatibilité avec l'agriculture durable ont fait que leur utilisation est devenue de plus en plus interdite et l'intérêt pour d'autres alternatives a ainsi augmenté (Mouria et al., 2013).

2.6.4 Lutte génétique

La résistance génétique des cultivars de pois chiche s'avère être le moyen le plus efficace pour la lutte contre les agents du complexe du flétrissement et de pourritures racinaires.

Cependant, des cultivars connus pour leur résistance vis-à-vis du *F.oxysporum* f. sp. *civeris* ont montré une nette sensibilité à la maladie dans certaines contrées, ce qui a suggéré l'existence de races physiologiques au sein de la forme spéciale *ciceris* ((El Aoufir, 2001).

Selon une évaluation faite par Kapoor et al. (1991) sur 39 variétés, deux d'entre elles se sont montrées particulièrement résistantes à la maladie, en l'occurrence GNG-795 et PDG 83-31, et ont montré une incidence variante entre 0 et 20%.

2.6.5 Lutte biologique

De façon générale, l'utilisation de microorganismes pour le contrôle du *Fusarium oxysporum* a été rapporté dans le cas de nombreuses plantes, comme dans le cas du concombre, du melon, du lin de la pastèque (Fravel et al., 2003).

Certains microorganismes sont des mycoparasites, c'est le cas notamment des espèces appartenant au genre *Trichoderma*. *T. harzianum* a été décrit comme capable de contrôler les maladies induites par *F. oxysporum* sur le bananier (Thangavelu et al., 2004). D'autres chercheurs (Sunil et al., 2007) ont évalué l'antagonisme de 10 isolats appartenant à 3 espèces de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. viride*, *T. virens*) vis-à-vis de quatre races de FOC (race 1, 2, 3 et 4).

En syrie, une souche des *Bacillus* sp. a réduit significativement la sévérité de la maladie (Belabid, 2003).

Il a été démontré aussi que des souches de *F. oxysporum* non pathogènes pour une espèce végétale peuvent entrer en compétition pour les nutriments ou la colonisation racinaire avec des souches de *F. oxysporum* pathogènes. Ainsi, l'activité infectieuse des formes spéciales peut-être limitée par cette compétition (Mahdi, 2011).

Chapitre III : Généralités sur les *Trichoderma*

3.1 Historique et taxonomie de *Trichoderma*

Le genre *Trichoderma* (téléomorphe : *Hypocrea*) appartient au sous embranchement des Ascomycètes, classe des Sordariomycètes, Ordre des Hypocréales et la famille des Hypocraceae (Chaverri et al., 2015). Le terme « *Trichoderma* » a été utilisé pour la première fois par le mycologue sudafricain Christiaan Hendrik Persoon en 1794.

En 1825, Elias Fries a décrit pour la première fois la forme parfaite « *Hypocrea* » comme étant une espèce avec des ascospores hyalines (Chaverri et Samuels, 2004). En 1865, les frères Tulasne ont suggéré que *Hypocrea rufa* est le téléomorphe de *Trichoderma viride* Pers. Brefeld (1891) a pu obtenir une culture de *T. viride* à partir d'une seule ascospore de *H. rufa* (Samuels, 2006). De 1939 à 1969, toute espèce fongique à spores vertes appartenant au genre *Trichoderma* était considérée comme étant l'unique espèce : *Trichoderma viride* (Bisby, 1939). Ce système de l'espèce unique était très apprécié d'où aucune compétence particulière n'a été nécessaire pour parvenir à une nouvelle identification. Ce type de systématique « espèce unique » de Bisby a incité John Webster et son étudiant Mein Rifai à revoir la taxonomie de *Trichoderma* et *Hypocrea* (Rifai et Webster, 1966 ; Webster et Rifai, 1968).

Les travaux de Rifai (1969) ont abouti à la publication de sa thèse, une monographie révolutionnaire sur les *Trichoderma* utilisables avec le concept d'« espèces agrégées », basé sur les caractères microscopiques anamorphes. Une espèce agrégée est une entité composée de groupement d'espèces très similaires, difficiles à séparer. Rifai a créé neuf espèces agrégées de *Trichoderma*: *T. aureoviride* Rifai, *T. hamatum* (Bonord.) Bain., *T. harzianum* Rifai, *T. koningii* Oudem., *T. longibrachiatum* Rifai, *T. piluliferum* Rifai, *T. polysporum* (Link: Fr.) Rifai, *T. pseudokoningii* Rifai, et *T. viride* (Rifai, 1969). Ce système semble le plus facilement utilisable par la communauté scientifique.

3.2 Position systématique

Selon Bissett (2004) la position taxonomique des *Trichoderma* est comme suit :

- **Embranchement** : Amastigomycètes.
- **Sous embranchement** : Ascomycètes.
- **Classe** : Sordariomycètes.

- **Ordre** : Hypocréales.
- **Famille** : Hypocréaceae.
- **Genre** : *Trichoderma*.

3.3 Morphologie de *Trichoderma*

L'aspect macroscopique des *Trichoderma* spp. Est apprécié à partir de cultures sur gélose nutritive appropriée, répartie en boîtes de Pétri, les colonies sont colorées en fonction de la pigmentation des conidies après germination.

Sous microscope optique on peut observer un mycélium composé d'hyphes, septées, ramifiées à parois lisses. Les conidiophores ont une forme conique ou pyramidale, très ramifiés et portent des phialides en forme de flasques ou de quilles. A leur tour, les phialides portent les spores (Figure 10) (Kubicek *et al.*, 2003).

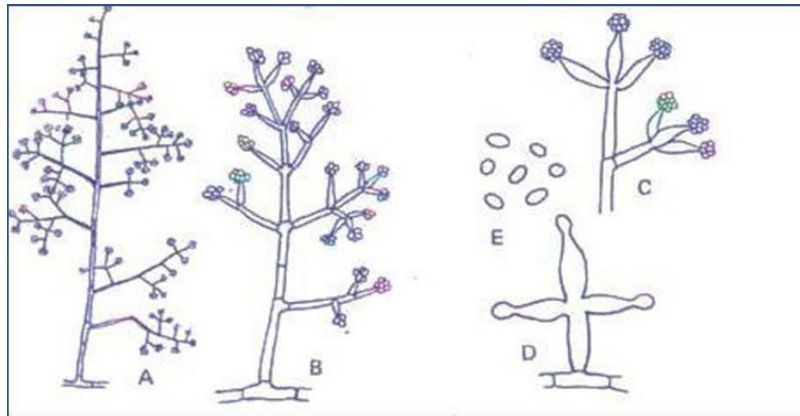


Figure 10: Morphologie de *Trichoderma* spp.

(A et B) Conidiophores montrant une ramification vaste ; (C et D), Phialides montrant la production de conidies ; (E), Conidies (Barnett et Hunter, 1977).

3.4 Taxonomie

Les travaux de Rifai (1969) et aujourd'hui les méthodes d'ADN ont pu mettre en évidence une classification phylogénique pour le genre de *Trichoderma* (; Lieckfeldt and Seifert, 2000 ; Kullnig-Gradinger *et al.*, 2002).

Trichoderma est classé comme suit :

- **Règne** : Fungi
- **Embranchement** : Amastigomycota et/ou Eumycètes ;

- **Division** : Ascomycota ;
- **Sous division** : Pezizomycotina ;
- **Classe** : Sordariomycètes ;
- **Sous classe** : Hypocreomycetidae ;
- **Ordre** : Hypocréales ;
- **Famille** : Hypocraceae ;
- **Genre** : *Trichoderma* (Bissett, 2004).

3.5 Caractérisation des espèces de *Trichoderma*

3.5.1 Cycle biologique

Dans le cas de la reproduction asexuée, la germination de la conidie donne naissance à un mycélium d'abord blanc et stérile. Deux jours plus tard, une couleur verte est visible sur les parties aériennes du mycélium, sous forme de cercles concentriques, correspondant à la conidiogenèse. D'autres cercles concentriques réguliers se forment par la suite, et entre le 16ème et le 20ème jour un feutrage épais se superpose à la culture (Corbaz, 1990).

3.6 Caractérisation des espèces de *Trichoderma*

3.6.1 Caractérisation macroscopique

La caractérisation morphologique des espèces de *Trichoderma* a se base sur divers types de milieux de croissance dont le milieu de culture PDA afin de faire ressortir la diversité morphologique étroitement similaire des isolats (Gams and Bissett, 1998). La température idéale pour la croissance des *Trichoderma* est de 25°C. Plusieurs traits morphologiques peuvent être observés pour identifier les espèces de *Trichoderma* en fonction de la morphologie de leur colonie, comme l'aspect de la culture, la couleur de spores, l'aspect du revers de la colonie, les odeurs caractéristiques et la formation d'exsudats (Jaklitsh, 2009). Initialement, la colonie se développe sous forme de touffes blanches pelucheuses qui se transforment plus tard en couleur verdâtre due à la production de conidies. La culture peut être caractérisée par la présence d'anneaux concentriques sur milieu glosé. Le revers de la colonie est de couleur blanche, jaune, beige ou orange pâle (Bisset, 1991 ; Rifai, 1969).

Le taux de croissance des colonies est un paramètre important pour la caractérisation. La majorité des souches de *Trichoderma* ont un taux de croissance rapide et peuvent remplir une

boîte de Pétri entière de 90 mm en moins d'une semaine dans des conditions optimales (Kim et al., 2012).

3.6.2 Aspect microscopique

Au microscope optique, les structures caractéristiques des *Trichoderma* sont observées
Type de :

a. Phialides : *Trichoderma* sp. Forme généralement des phialides lagéniformes, en forme de flacon, lancéolés ou subulés qui sont courbés ou élancés. Les phialides peuvent apparaître en verticilles ou se produire solitaires.

b. Conidiophores : réguliers ou irréguliers. Les conidiophores réguliers peuvent ressembler à des arbres ou à des pyramides avec de nombreuses branches à la base et moins de ramifications au sommet, tandis qu'un conidiophore irrégulier est reconnu en montrant des ramifications non appariées à partir du stipe.

c. Forme des conidies : Conidies peuvent être des conidies ellipsoïdales, sous-globeuses, globuleuses, oblongues ou ovales.

d. Chlamydospores : peuvent être absentes ou présentes chez *Trichoderma*. Les chlamydospores sont globuleuses à pyriformes, lisses ou rugueuses, à parois épaisses. Ces structures sont normalement observées dans les cultures plus anciennes (à partir de 10 jours).

e. Type de conidiophore : *Trichoderma* développe divers types de conidiophores pouvant être utilisés pour classer les espèces : acrémonium-like, verticillien-like et *Trichoderma*- like.

f. Ornementation des conidies : les conidies de *Trichoderma* peuvent présenter diverses ornementations et apparaître comme verruqueuse, lisse, partiellement rugueuse ou rugueuse. Les ornementations peuvent être facilement observées à partir de conidies matures.

3.7 Ecologie et habitat

Le *Trichoderma* est le genre le plus répandu dans le sol. Il est retrouvé dans des habitats très variés, ceci peut être attribuable à la nature concurrentielle des espèces de *Trichoderma* et à la possibilité de production de divers métabolites (Gams et Bissett 1998). D'après Kubicek et al., (2003), l'abondance des *Trichoderma* spp. Dans les écosystèmes est due à leur capacité à produire diverses substances bioactives et des enzymes. Ils sont de ce fait un maillon important dans les chaînes biologiques.

Trichoderma se retrouve couramment dans le sol, sur le bois et sur les débris des végétaux (Dubos, 1986). Les espèces de *Trichoderma* sont favorisées par la présence d'un grand nombre

de racines, qu'elles colonisent aisément. Presque tous les sols tempérés et tropicaux contiennent 10^1 - 10^3 propagules de *Trichoderma*/g du sol (Harman et al., 2004). Il peut représenter jusqu'à 3% du total des propagules fongiques de sols forestiers et 1,5% des champignons dans les sols des pâturages (Gams et Bissett, 1998).

La dynamique des populations de *Trichoderma* est liée aux conditions du milieu, une forte dessiccation du sol pendant une longue période conduit à une baisse des populations (Papavizas, 1985). Davet (1983) a trouvé que le taux de propagules le plus faible est observé dans le cas des teneurs en eau les plus basses. Mais ce phénomène est réversible, si le sol est déshydraté.

Omniprésents dans le sol, les *Trichoderma* sont très remarquables par des besoins nutritionnels minimaux, une croissance rapide, une sporulation abondante et une capacité d'utiliser divers substrats. Les *Trichoderma* jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique, d'origine naturelle et xénobiotique, en attribuant une biofertilisation aux sols. Ils sont bien connus pour leur production d'enzymes de dégradation comme les chitinases et cellulases impliquées dans la lyse du mycélium de nombreux champignons.

3.8 Mode d'action de *Trichoderma* spp. En lutte biologique

Le *Trichoderma* possède une activité antagoniste selon différents mécanismes d'action potentiellement utilisables mais qui restent toutefois complexes et varient selon les agents pathogènes en présence et des conditions physico-chimiques du milieu (températures, humidité, etc....). Il peut également employer un ou plusieurs modes d'action en même temps. Pour maîtriser un agent pathogène, il peut utiliser :

3.8.1 L'antibiose

C'est un phénomène résultant de la production par le champignon de substances de différentes natures (des enzymes lytiques, des peptides ou protéines à activité antimicrobiennes, des polyketides, des composés phénoliques, des bio surfactants etc....) qui agissent comme des « antibiotiques » et qui inhibent la croissance de l'agent pathogène (Fernando et al., 2006).

3.8.2 La compétition

Elle se manifeste par l'aptitude à utiliser les mêmes ressources du milieu disponibles en quantité limitée (aires d'alimentation, sites de développement), que les agents phytopathogènes. Dans ces conditions limitées, la production de composés inhibiteurs est capable d'arrêter ou de ralentir leur croissance et confère au microbe producteur un avantage écologique concurrent (Marzano et al., 2013).

3.8.3 Le mycoparasitisme

Ce mécanisme est considéré comme un mécanisme majeur de lutte biologique qui se manifeste par la destruction de l'agent pathogène lorsque les hyphes de *Trichoderma* s'enroulent autour de celui-ci soit en l'étranglant, en pénétrant à l'intérieur et/ou en lui injectant des substances (comme les enzymes lytiques) qui détruisent sa paroi cellulaire (Jogaiah et al., 2018).

a. Le parasitisme des champignons phytopathogènes par les *Trichoderma* est un phénomène complexe qui se déroule en plusieurs étapes. La figure 10 illustre le mécanisme du mycoparasitisme (Figure 10).

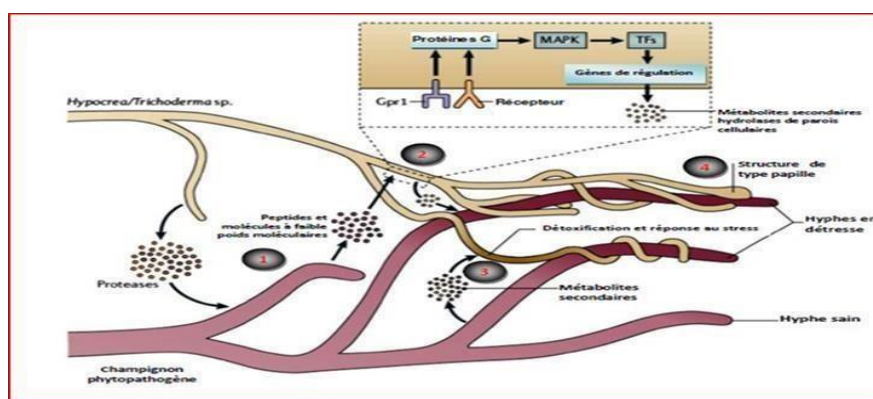


Figure 11: Mécanisme de mycoparasitisme des *Trichoderma* (Druzhinina et al., 2011).

- Reconnaissance entre *Trichoderma* et un champignon phytopathogène par l'intermédiaire de molécules (peptides) qui sont libérées par l'agent pathogène suite à l'action des protéases sécrétées par *Trichoderma*.
- Ces molécules se lient à des récepteurs sur la surface des hyphes de *Trichoderma* ou des (récepteurs de détection ou couplés à la protéine G (Gpr1)), provoquant ainsi une cascade de signalisation comprenant les protéines G et les protéines-kinases activées par les mitogènes (MAPK), qui peuvent moduler les activités des facteurs de transcription (TFs). Ces facteurs qui accroissent l'expression constitutive des gènes qui codent pour les enzymes pour la biosynthèse de métabolites secondaires hydrolases de parois cellulaires.
- Le pathogène réagit en synthétisant des métabolites secondaires qui déclenchent une réponse au stress et une désintoxification de *Trichoderma*.
- Enroulement des hyphes de *Trichoderma* sur ceux du pathogène et pénétration via des structures de type papille (Appressorium).

Le mycoparasitisme se déroule selon les étapes suivantes :

- 1) Le mycoparasitisme implique comme dans une première étape une reconnaissance de l'agent pathogène par l'agent de lutte.

- 2) Le *Trichoderma* perçoit la présence de son hôte et commence à développer par chimiotactisme des hyphes en direction de ceux du pathogène.
- 3) Adhésion de *Trichoderma* aux parois de son hôte suivie par l'enroulement des hyphes du mycoparasite sur ceux de l'agent phytopathogène.
- 4) Pénétration à l'intérieur des hyphes du pathogène suite à des sécrétions d'enzymes de dégradation de la paroi de l'hôte comme les chitinases et les glucanases.
- 5) Dissolution du cytoplasme. Le contenu cellulaire de l'hôte est rapidement lysé par la mise en jeu d'enzymes extracellulaires telles que la protéase et la lipase (Howell, 2003 ; Harman et al., 2004 ; Dubey et al., 2007).

3.9 L'induction de la résistance de l'hôte

Le traitement des semences avec les spores ou les métabolites secondaires de *Trichoderma* peut induire l'augmentation de l'expression des gènes liés à la défense dans toute la plante tout en agissant comme stimulateur de l'immunité (Jogaiah et al., 2018).

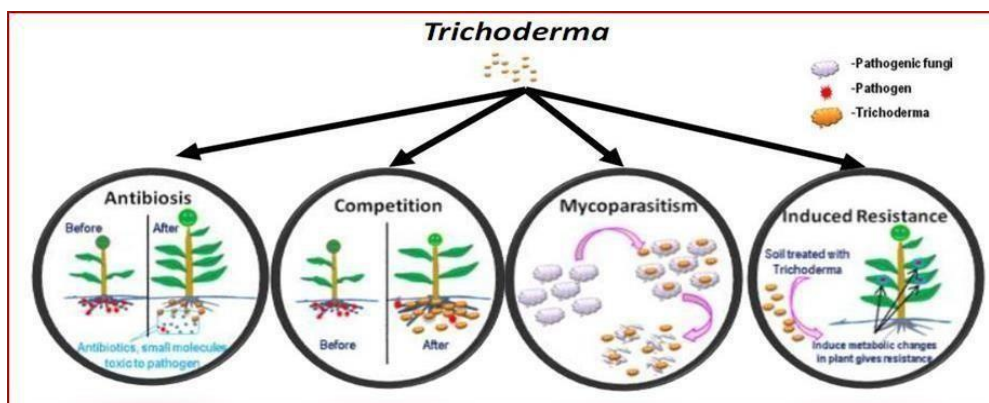


Figure 12: Modes d'action de *Trichoderma* (Waghunde et al., 2016).

3.10 Utilisation de *Trichoderma* comme agents de lutte biologique et promoteur de la croissance des plantes

D'après la définition de Cook et Baker (1983), la lutte biologique consiste à réduire la densité d'un agent pathogène et/ou l'activité de celui-ci (le potentiel infectieux) en mettant en oeuvre un ou plusieurs organismes autres que l'homme.

Dans ce contexte, plusieurs espèces du genre *Trichoderma* ont été identifiées comme des agents de biocontrôle particulièrement efficaces contre *F. oxysporum* f. sp. ciceris (FOC). Ces champignons antagonistes agissent selon divers mécanismes complémentaires : inhibition de la croissance mycélienne du pathogène, dégradation de la paroi cellulaire fongique par des

enzymes hydrolytiques (notamment les chitinases et les β -1,3-glucanases), compétition pour les ressources du sol, et induction des mécanismes de défense de la plante hôte.

Des recherches récentes ont confirmé le potentiel de différentes espèces de *Trichoderma*, telles que *T. harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum* et *T. longibrachiatum*, dans la lutte contre *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. Selon Kumar et al. (2020) l'application de *T. asperellum* en traitement de semences entraînerait une réduction significative de la gravité du flétrissement vasculaire, accompagnée d'une amélioration notable de la croissance racinaire et de la biomasse du pois chiche.

De leur côté, El-Sayed et al. (2021) ont mis en évidence la capacité de *T. harzianum* à induire l'accumulation d'enzymes de défense telles que la peroxydase et la polyphénol oxydase, ce qui a permis de réduire le taux d'infection par FOC jusqu'à 70 % en conditions contrôlées (en serre).

Dans une autre récente étude, Rai et al. (2022) ont isolé une souche de *T. longibrachiatum* capable d'inhiber *in vitro* jusqu'à 82 % la croissance mycélienne du pathogène. Une telle efficacité est comparable à celle de certains fongicides de synthèse, tout en étant plus respectueuse de l'environnement.

Enfin, Mansoori et al. (2023) ont testé en conditions de champ un consortium microbien associant *T. viride* à *Bacillus subtilis*, lequel a permis de réduire l'incidence de la maladie de plus de 60 %, tout en augmentant le rendement en graines de 25 % par rapport au témoin non traité. Ces résultats récents confirment le rôle prometteur des *Trichoderma* spp. Dans les stratégies de protection intégrée du pois chiche, en tant qu'alternatives écologiques aux fongicides conventionnels.

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Matériel

1.1 Matériel fongique

Le matériel fongique est constitué par :

- Une collection de souches de *Trichoderma* obtenues à partir des sols de pois chiche de différentes régions de culture de pois chiche de la région de Sétif et d'El Tarf.
- Une souche du pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC 132).

La souche du pathogène (FOC 132) nous a été fournie gracieusement au laboratoire protection des végétaux. Elle a été isolée à partir d'un plant issu d'une culture de pois chiche de la région de Constantine. Elle est caractérisée selon des approches morphologiques, microscopiques et moléculaires, afin de confirmer son appartenance à l'espèce *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (Sekkal et al., 2025).

1.2 Matériel végétal

Un cultivar ILC 3279 lignée développée par l'ICARDA (International Center for Agricultural Research in the Dry Areas) et cultivée à grande échelle en Algérie a été utilisée dans nos expérimentation.

L'Algérie a adopté cette lignée notamment pour sa résistance au flétrissement ascochyte (*Ascochyta rabiei*) et pour son adaptation à différentes conditions de culture, ainsi que pour son potentiel productif.

2. Méthodes

2.1 Préparation des échantillons de sol

2.1.1 Site d'échantillonnage

Les échantillons de sol destinés à l'isolement des micro-organismes ont été prélevés de trois régions agricoles : Skikda, Sétif et El Tarf. Ces régions ont été choisies pour leur importante superficies en pois chiche et la diversité de leurs conditions pédoclimatiques, qui influencent la présence et la répartition des micro-organismes.

Skikda : Située dans le nord-est de l'Algérie, cette région bénéficie d'un climat méditerranéen caractérisé par des hivers doux et humides et des étés chauds et secs. Les sols y

sont principalement argilo-limoneux, avec un pH légèrement acide à neutre, offrant un environnement favorable au développement de micro-organismes adaptés aux milieux riches en matière organique et à forte humidité (Boudiaf et al., 2018).

Sétif : Localisée sur les hauts plateaux du nord-est algérien, cette région possède un climat semi-aride, marqué par des hivers froids et des étés chauds et secs. Les sols sont argilo-calcaires, avec un pH neutre à légèrement alcalin, ce qui favorise la présence de micro-organismes tolérant des conditions plus arides et résistants au stress hydrique (Hacini & Morsli, 2015).

El Tarf : Située également dans le nord-est de l'Algérie, cette région se distingue par un climat subhumide, avec des précipitations annuelles plus élevées que celles des autres sites étudiés. Ses sols, généralement limoneux à limono-argileux, présentent un pH neutre, offrant un écosystème propice à une diversité microbienne plus large (Bouazza et al., 2012), influencée par les conditions climatiques intermédiaires entre le méditerranéen et le semi-aride

2.1.2 Méthode de prélèvement des échantillons de sol

Les échantillons de sol ont été prélevés sur des parcelles nues qui avaient été cultivées avec du pois chiche la saison précédente. Ils sont prélevés à une profondeur de 10-20 cm, en suivant la méthode décrite par Davet et Rouxel (1997). Pour chaque site, nous avons constitué cinq échantillons composites. Chacun d'eux regroupait trois sous-échantillons prélevés à différents endroits des parcelles agricoles. Les échantillons sont ensuite placés dans des sacs en papier stériles, étiquetés et transportés en laboratoire. Ils sont séchés pendant 72 heures dans étuve réglée à 28°C, avant l'opération d'isolement des champignons.

2.2 Isolement de champignons à partir du sol

L'isolement des champignons à partir du sol est réalisé selon une technique adaptée des procédures standards d'isolement microbiologique (Davet et Rouxel, 1997). Pour cela, une suspension mère est préparée en mélangeant 1 g de sol avec 9 ml d'eau distillée stérile, puis agitée vigoureusement pendant 2 minutes.

Des dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-5}) sont préparées à partir de cette suspension mère. Chaque dilution est étalée en boîte de Petri, sur milieu PDA additionné de chloramphénicol et Streptomycine (50 mg/l), pour inhiber la croissance des bactéries. Les boîtes de Pétri sont incubées à 25°C pendant 3 à 5 jours (Figure 13).

Les colonies sont identifiées par leurs caractéristiques morphologiques en utilisant la clé de Barnett et Hunter (1993). Ces colonies sont repiquées individuellement sur PDA, assez tôt

pour ne pas permettre le mélange entre colonies différentes. Plus spécifiquement, pour isoler le genre *Trichoderma*, le milieu RB-SF (Rose Bengal Sélectif Fungi) (**Annexe 1**) a été utilisé.

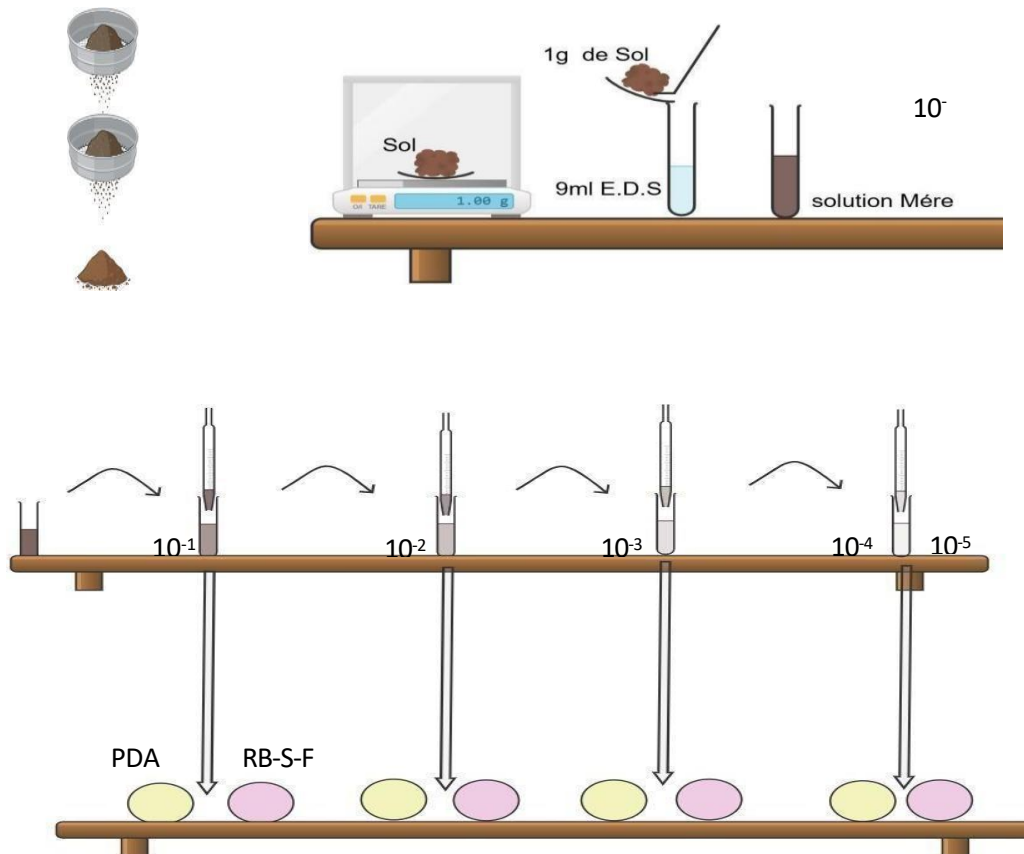


Figure 13: Méthode d'isolement des champignons du sol (Originale, 2025).

2.3 Dénombrement des colonies

À l'issue de l'incubation, les colonies distinctes ont été comptées manuellement. Les résultats ont été exprimés en unités formant colonie par millilitre (UFC/mL), en tenant compte du facteur de dilution appliqué. Afin de garantir la fiabilité des données, chaque échantillon a été traité en double, et seuls les dénombrements compris entre 30 et 300 colonies par boîte ont été pris en compte pour l'analyse quantitative (Horn et Dorsay, 2016).

Après une incubation de quatre jours à 25 °C, les colonies fongiques obtenues ont été repiquées soigneusement, de manière aseptique sur le milieu PDA, en prenant soin de prélever les explants mycéliens à la périphérie de la colonie.

2.4 L'obtention des cultures monospores

Pour obtenir des souches génétiquement homogènes, une culture monospore est réalisée. Nous avons utilisé la technique décrite par Rappily (1968). Des explants mycéliens sont prélevés à partir d'une culture jeune de 5 jours. Ils sont mis dans un tube à essai contenant 5 ml d'eau distillé stérile (solution mère) cette dernière est agitée à l'aide d'un vortex puis filtrée à travers une mousseline stérile. A l'aide d'une lame de Malassez, la suspension est ajustée à 10^2 conidies/ml.

- Nous avons étalé 100 μ l de cette suspension sur une boîte de Pétri contenant un milieu de culture PDA. Environ 12 à 18 heures d'incubation sont nécessaires pour pouvoir observer à la loupe binoculaire les conidies germées. Ces dernières sont alors repérées puis délimitées à l'aide d'un marqueur en dessinant un cercle 2 à 3 mm de diamètre autour de conidies en germination. Elles sont alors prélevées à l'aide d'une aiguille stérile et déposées dans une boîte Petri à 28 °C.
- Des rondelles de 5 mm de diamètre sont prélevées à partir des cultures monospores obtenues après une semaine de culture, elles sont mises dans des tubes Eppendorf stérile et conservées à 4°C pour les utilisations ultérieures.

2.5 Caractérisation des champignons obtenus

Les colonies des champignons obtenus sont repiquées sur milieu PDA puis caractérisés au niveau de leurs caractères macroscopiques (couleur des colonies, nombre d'anneaux concentriques, structure du mycélium, couleur de la gélose, odeur etc..) et microscopiques (Conidiophores, phialides, conidies).

2.6 Mise en évidence du mycoparasitisme des *Trichoderma* en milieu de culture

Les études de confrontation en culture duale sont largement utilisées pour évaluer l'efficacité de la lutte biologique contre les agents pathogènes fongiques. Elles permettent de mesurer l'interaction entre un agent de lutte biologique et un pathogène en analysant plusieurs paramètres clés définis par (Pakdaman et al., 2013). La distance radiale de croissance du pathogène (P) est mesurée afin d'évaluer son expansion sous l'effet de l'agent antagoniste.

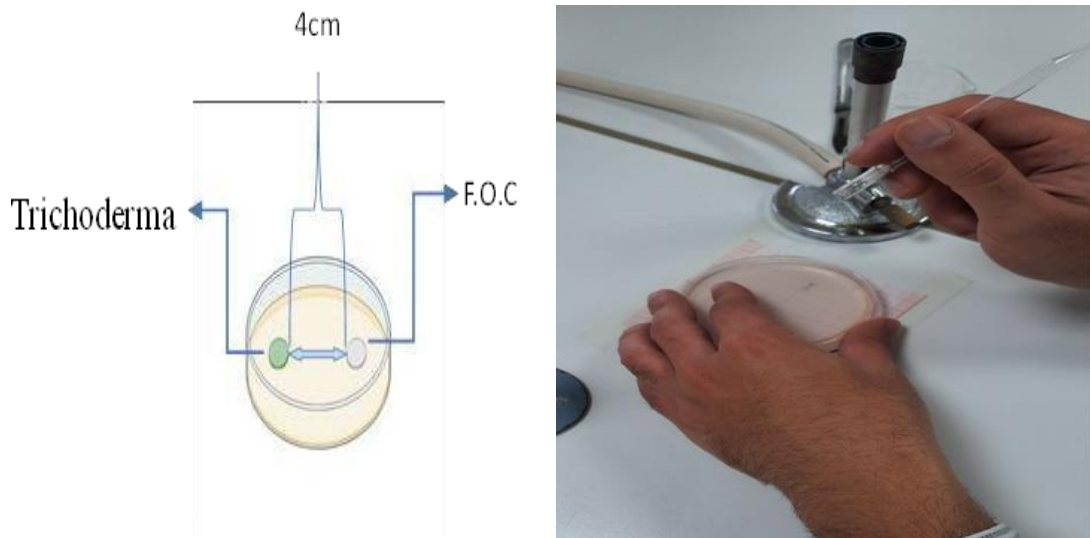


Figure 14: Confrontation directe entre l'agent pathogène F.O.C et *Trichoderma* spp.

Sur milieu PDA.

Pour évaluer l'interaction entre les *Trichoderma* et un champignon pathogène, les boîtes de Pétri contenant un milieu PDA sont préparées de la manière suivante :

Deux disques mycéliens de 5 mm de diamètre, l'un appartenant au pathogène, l'autre à *Trichoderma*, sont prélevés à partir de la périphérie des colonies âgées de 7 jours. Ils sont disposés face à face, à 4 cm l'un de l'autre, sur une boîte de Pétri contenant 20 ml de milieu PDA, selon la méthode de Dubey et al. (2007), en les espaçant de 4 cm. Le témoin est constitué seulement d'un disque du champignon pathogène est utilisé.

L'expérience est menée selon un plan expérimental aléatoire complet, avec trois répétitions pour chaque souche de *Trichoderma*. Toutes les boîtes sont ensuite incubées dans l'obscurité, 7 jours à 25°C.

2.6.1 Effet sur la croissance mycélienne du parasite

Pour l'estimation de la croissance mycélienne du parasite, la technique employée est celle décrite par Brewwer (1960) et Leach (1962) in Saiah (2004), qui consiste à mesurer la croissance linéaire et diamétrale des colonies en utilisant la formule suivante :

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

L : croissance mycélienne.

D : diamètre de la colonie.

d : diamètre de l'explant

Pour calculer la vitesse de croissance en fonction du temps, des mesures journalières du diamètre de la colonie sont effectuées en appliquant la formule de Rappily (1968) suivante :

$$V = \frac{(L2 - L1) + (L3 - L2) + (L4 - L3) + \dots (Ln - Ln - 1)}{n - 1}$$

V : vitesse de la croissance en (mm/j).

L : croissance mycélienne en (mm).

Un calcul du taux d'inhibition de cette croissance mycélienne du parasite est réalisé (Dubey et al., 2007). Cette estimation suit la formule suivante :

$$I(\%) = \left(1 - \frac{Cn}{C0}\right) \times 100$$

I (%) : Taux d'inhibition de la croissance mycélienne.

Cn: Diamètre moyen de colonie en présence de l'antagoniste (mm/j).

C0 : le diamètre moyen des colonies témoins (mm/j).

2.6.2 Evaluation du mycoparasitisme des souches de *Trichoderma* vis-à-vis de FOC

Le phénomène de mycoparasitisme a été évalué sur les mêmes boîtes de double culture que celles utilisées pour l'évaluation de la croissance mycélienne du parasite. Les activités antagonistes de *Trichoderma spp.* ont été groupées en quatre classes sur la base d'une échelle visuelle (0 : pas d'invasion de la colonie pathogène, 1 : invasion de 1/4 de la colonie pathogène, 2 : invasion de 1/2 de la colonie pathogène, 3 : invasion totale de la colonie pathogène, 4 : invasion totale et sporulation) (Bell et al., 1982). Des préparations microscopiques ont été réalisées dans la zone d'interaction entre la colonie antagoniste et la colonie du pathogène aux premiers stades de la croissance de la double culture afin de rechercher des enroulements et des boucles courtes autour des hyphes du pathogène. Les observations ont été réalisées sous un microscope optique (objectif 40X, Nikon, Eclipse 50i). Deux souches de *Trichoderma* montrant une activité mycoparasitaire (classe 4 : invasion totale et sporulation), ont été sélectionnées pour des tests ultérieurs.

2.7 Evaluation in vivo du potentiel antagonisme de *Trichoderma spp.* Vis-à-vis de FOC

Pour l'expérimentation *in vivo*, des pots en plastique 3 kg sont remplis avec un sol de nature sablonneuse de la ferme expérimentale de Mazagran. Il est stérilisé en autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

Nous avons d'abord soumis les graines de pois chiche à une phase de prégermination. Pour ce faire, elles ont été placées entre deux couches de coton humidifié, sur la paille du laboratoire ($25^{\circ}\text{C} \pm 2$) pendant trois jours. Les graines ayant germé ont ensuite été transplantées dans les pots contenant un mélange de sol stérilisé et de terreau (2/3+/1/3).

Les graines sont semées, à raison de 4 graines par pot. Huit jours après levée, les jeunes plantules ont été soigneusement extraites du sol, leurs racines sont rincées à l'eau distillée stérile pour éliminer les particules de terre, puis immergées pendant 30 minutes, soit dans la suspension sporale de *Trichoderma* (10^6 spores/ml) additionnée de FOC (10^6 spores/ml), soit dans la suspension sporale de FOC seul (10^6 spores/ml) selon chaque modalité de traitement. Les plantules témoins sont immergées de la même façon mais dans une solution d'eau distillée stérile, sans aucun champignon.

Une fois l'inoculation terminée, les plantules ont été replacées dans leur pot d'origine. L'ensemble des pots a ensuite été placé dans une serre vitrée à $25 \pm 7^{\circ}$. Ils sont irrigués régulièrement.

2.7.1 Dispositif expérimental

Un dispositif avec 4 blocs et à raison de 7 répétitions par bloc, soit un total de 28 pots a été adopté. Chaque pot contient 04 plants de pois chiche. Les traitements suivants ont été appliqués :

- 1) Témoin non inoculé (T-).
- 2) Inoculation avec FOC 132 seul (T+).
- 3) Inoculation avec FOC 132/T16.
- 4) Inoculation avec FOC 132/T5.

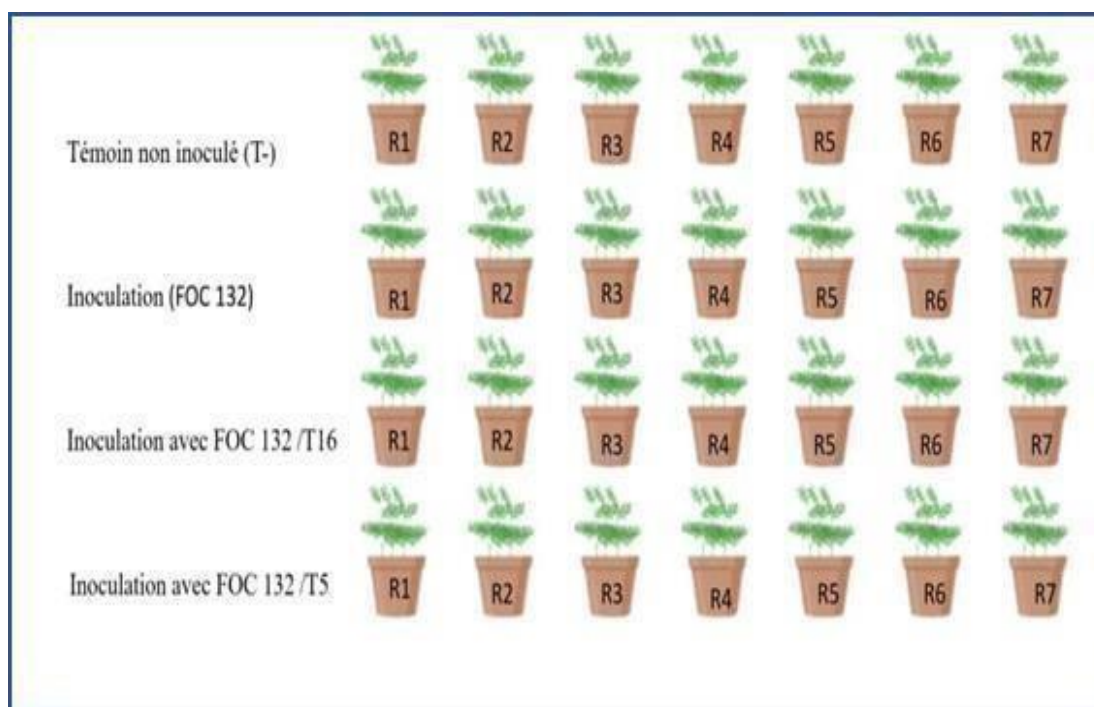


Figure 15: Diapositif expérimental d'évaluation *in vivo* du potentiel antagoniste de *Trichoderma* spp. vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.

2.7.2 Évaluation de l'effet des antagonistes et estimation des symptômes de la fusariose vasculaire

La fusariose vasculaire se manifeste par une série de désordres physiologiques et métaboliques affectant les plantes, avec des symptômes visibles tels que le jaunissement progressif des feuilles, le flétrissement, puis la mort de la plante. Ces altérations morphologiques traduisent une perturbation sévère du fonctionnement vasculaire, résultant de l'invasion du xylème par le pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*.

Les symptômes sont notés huit jours après inoculation, puis chaque 2 jours jusqu'au 10^{ème} jour. Une échelle de sévérité graduée de 0 à 4, fondée sur le pourcentage de tissu foliaire affecté est utilisée. Cette échelle, adaptée de Jimenez-Díaz et al. (1989b, 1993a) et Jiménez-Gasco et al. (2004b), est définie comme suit :

- 0 : 0 % de tissu foliaire affecté (plante saine)
- 1 : 1–33 % (symptômes légers)
- 2 : 34–66 % (symptômes modérés)
- 3 : 67–100 % (symptômes sévères)
- 4 : plante morte

Par ailleurs, cette échelle correspond aux symptômes suivants (Landa et al. 2004) :

- 0 : plante saine, aucun symptôme
- 1 : jaunissement léger des feuilles inférieures
- 2 : jaunissement modéré avec début de flétrissement
- 3 : jaunissement sévère, flétrissement prononcé et rabougrissement
- 4 : plante morte

Une courbe d'intensité d'attaque en fonction du temps est tracée et l'AUDPC (Area Under Disease Progression Curve), soit l'aire située sous la courbe d'intensité d'attaque de la fusariose, est calculée pour chaque modalité. Ainsi, plus l'aire est grande, plus l'attaque est importante et donc moins la souche de *Trichoderma* testée est efficace.

L'AUPPC est calculée selon la formule de Madden et al. (2007) suivante :

$$AUDPC = \sum_{i=1}^n \left[\frac{(Y_{i+1} + Y_i)}{2} \right] [X_{i+1} - X_i]$$

- Y_i est la valeur de l'intensité de la maladie au temps X_i .

- X_i : est le temps de la i ème évaluation.

- Σ représente la sommation de tous les trapèzes.

2.8 Evaluation des *Trichoderma spp.* pour leur potentiel à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche

2.8.1 Inoculation de plantules

Les plantes de pois chiche sont cultivées dans des pots de 3 kg comme précédemment. Le substrat est constitué de 2/3 sol sablonneux et 1/3 de terreau horticole. Les graines sont semées à raison de 4 graines par pot. La dose d'inoculum est de 10^{+6} spores/ml, que ce soit celle du *Trichoderma spp.* ou celle du pathogène FOC.

L'inoculum, préparé à une concentration de 10^{+6} spores/ml, est appliqué directement sur la racine de chaque plantule. Un volume de 2 ml de cette suspension est déposé à l'aide d'une micropipette sur chaque racine (**Figure 16**). Quatre modalités sont réalisées :

- Témoin négatif (plantules non inoculées).
- Témoin positif (plantules inoculées avec FOC).
- Traitement 1: Plantules inoculées avec la souche T16.
- Traitement 2: Plantules inoculées avec la souche T5.

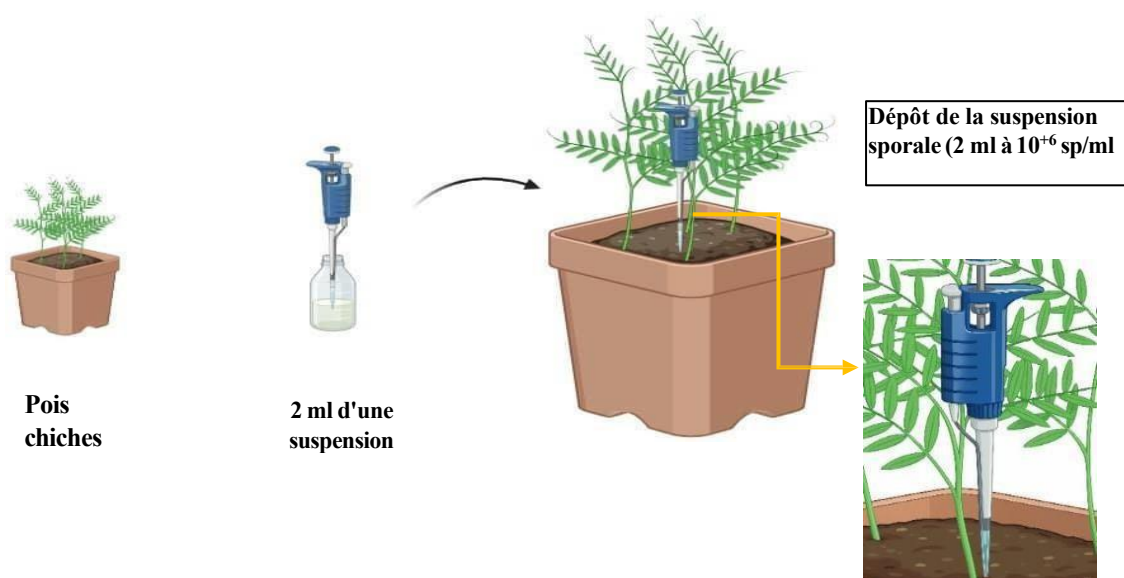


Figure 16: Méthode d'inoculation des plantes.

2.8.2 Dispositif expérimental

Le dispositif utilisé est un dispositif en blocs, avec 7 pots correspondant aux répétitions ou unités expérimentales et chacun des pots porte 4 plantes (**Figure 17**).

Quatre modalités sont réalisées :

- Témoin négatif (plantules non inoculées).
- Témoin positif (plantules inoculées avec FOC).
- Traitement 1: Plantules inoculées avec l'isolat T16.
- Traitement 2: Plantules inoculées avec l'isolat T 5.

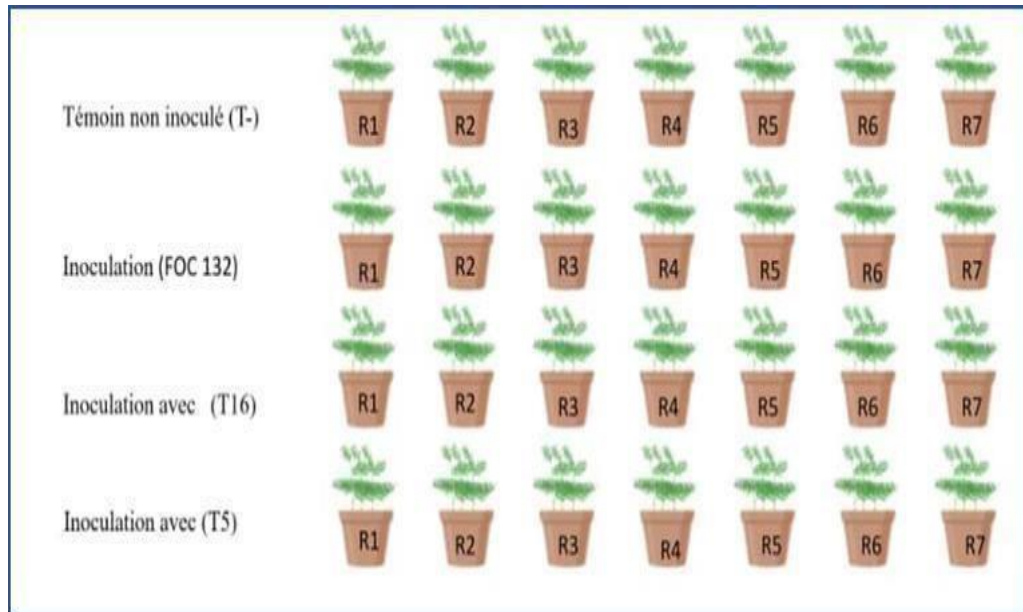


Figure 17: Dispositif expérimental utilisé dans le test d'évaluation des *Trichoderma* pour leurs potentiel à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche.

2.8.3 Principe de fonctionnement

L'appareil DUALEX® mesure les pigments clés des feuilles en utilisant différentes méthodes optiques :

- Teneur en chlorophylle : DUALEX® détermine la teneur en chlorophylle en analysant le rapport de la lumière transmise à travers la feuille à deux longueurs d'onde spécifiques. Une longueur d'onde est absorbée par la chlorophylle, tandis que l'autre, dans le proche infrarouge, sert de référence. Cela permet de mesurer avec précision la quantité de chlorophylle présente.
- Teneur en flavonols et en anthocyanes : les flavonols et les anthocyanes se trouvent dans l'épiderme des feuilles, DUALEX® utilise un rapport différentiel de fluorescence de la chlorophylle. Cette technique exploite la façon dont ces pigments affectent la réémission de la lumière par la chlorophylle après absorption, ce qui fournit ainsi une indication de leur concentration.

2.9 Estimation de la teneur en azote, chlorophylle, flavonoïdes des feuilles

Cet appareil, non destructif et facile à manipuler sur le terrain, permet une estimation rapide et fiable des indices biochimiques des feuilles. Les mesures ont été prises directement sur le limbe foliaire, à des points précis et à une même position sur chaque plante, afin d'assurer la reproductibilité et la comparabilité des données (Figure 18).

Les mesures ont été prises au niveau de la 5^{ème} feuille, en partant de la base de la plantule. Les mesures sont prises sur la foliole du sommet de la feuille. Quatre notations sont effectuées selon une cinétique de temps suivant : 7 jours, 15 jours, 21 jours et 28 jours après l'inoculation.



Figure 18: Mesure optique des pigments foliaires (chlorophylle, flavonoïdes) et du Nitrogen Balance Index (NBI) chez le pois chiche à l'aide du capteur portable Dualex®.

2.9.1 Mesure des paramètres morphométriques

Les paramètres morphométriques sont mesurés à la fin de l'expérience, soit 60 jours après inoculation.

- ✓ Mesure de la hauteur des plantules

A l'aide d'une règle graduée, la hauteur d'une plantule par pot a été mesuré pour chaque traitement.

2.10 Activités métaboliques des champignons

2.10.1 Production de l'Acide indole acétique

La production de l'AIA a été testée sur le FOC, *Trichoderma* T16, *Trichoderma* T5 ainsi les *Trichoderma* (T5 et T16) additionnés chacun de FOC. Comme décrite par Patten et Glick (2002). Les isolats sont cultivées sur milieu solide PDA, afin d'obtenir une croissance mycélienne optimale. Six disques mycéliens (6 mm de diamètre) sont prélevés et transférés dans des Erlenmeyers contenant 100 ml de milieu liquide PDB, additionné de 1 ml

de tryptophane filtré à travers une membrane stérile PES de 0,22 µm. Ce précurseur est nécessaire pour induire la biosynthèse de l'AIA. a été ajouté pour induire la biosynthèse de l'AIA. Pour la co-culture, trois disques mycéliens de *Trichoderma* et trois disques de F.O.C ont été mis ensemble dans le même volume de PDB enrichi.

Toutes les cultures ont été incubées sur un agitateur orbital à 28 °C pendant 7 jours, à 180 rpm. Ensuite, les surnageants sont récupérés et transférés dans des tubes de 15 ml. Ces derniers sont ensuite centrifugés à 6000 rpm pendant 40 minutes afin de séparer les résidus solides. Le surnageant clair obtenu a été versé dans une cuvette, puis soumis à la lecture spectrophotométrique afin d'estimer la teneur en AIA.

La quantification de l'AIA a été réalisée en utilisant le réactif de Salkowski (**Annexe 2**), méthode colorimétrique couramment utilisée pour la détection des auxines. Pour ce faire, 1 ml du surnageant obtenu a été mélangé avec 1 ml du réactif de Salkowski et incubé à l'obscurité pendant 30 minutes, à température ambiante. Le développement d'une coloration rose à rouge indique la présence d'AIA, dont l'intensité a été mesurée par un spectrophotomètre UV-visible (Jenway 6715) à une longueur d'onde de 530 nm. Une courbe étalon préparée à partir de concentrations ascendantes d'AIA (**Annexe 3-4**) a été utilisée pour quantifier précisément la production de cette phytohormone.

2.11 Détection de l'activité cellulolytique par hydrolyse du Carboxy Methyl Cellulose (CMC)

L'évaluation de l'activité cellulolytique des souches fongiques a été réalisée sur un milieu solide contenant du carboxyméthylcellulose (**Annexe 5**) à 1% comme unique source de carbone (Septiani et al. 2019), Un explant mycélien de 6 mm de diamètre provenant de la colonie du *Trichoderma* considérée est inoculé au centre d'une boîte de Petri contenant le milieu CMC. Les boîtes sont ensuite incubées à 28°C. Après 72 h, le diamètre de la colonie est mesuré, et la boîte est immergée dans la solution de rouge Congo 0,1 % (**Annexe 6**) pendant 30 minutes, à température de laboratoire. La coloration visait à marquer les zones non hydrolysées. Passé ce délai, les boîtes ont été rincées à l'aide d'une solution de NaCl (**Annexe 7**) à 1 M pendant 20 minutes pour éliminer l'excès de colorant. L'apparition d'une zone claire autour de la colonie indique la dégradation du CMC par les cellulases produites par la souche considérée (**Figure 19**).

L'intensité de l'activité cellulolytique a été évaluée par la mesure du diamètre de la zone claire (en mm) et de l'indice d'hydrolyse (IH) (**Figure 19**) calculé selon la formule suivante :

$$IH = \frac{D - \text{zone claire}}{D - \text{zone colonie}}$$

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 s'exprime par :

$$IH = \frac{\sqrt{L - \text{zone claire}} \times l - \text{zone claire}}{\sqrt{L - \text{colonie}} \times l - \text{zone colonie}}$$

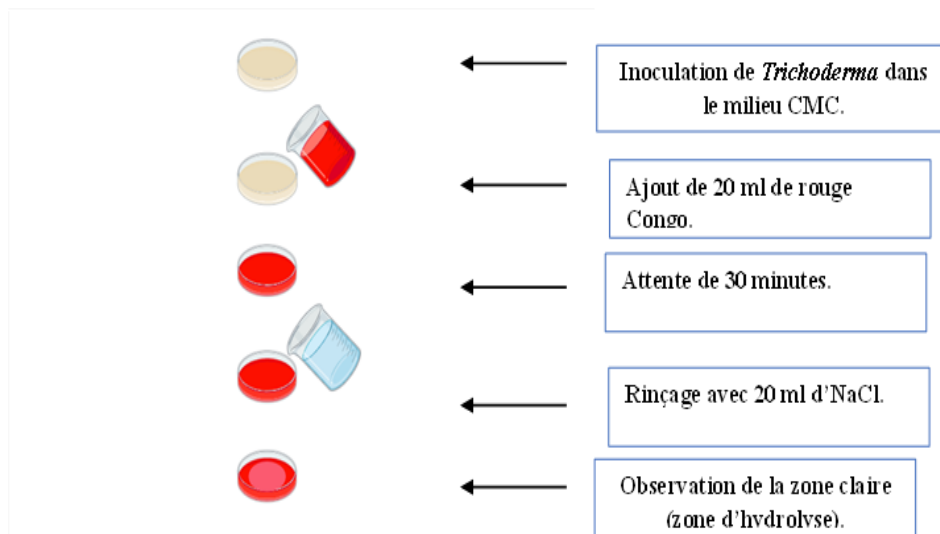


Figure 19: Détection de l'activité cellulolytique de *Trichoderma* sp.

Chapitre II : Résultats et discussion

1) Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Champignons isolés

Les isolements réalisés à partir des sols des régions de Sétif, Skikda et El Tarf ont permis l'obtention de 39 isolats. Parmi cette collection 11 isolats appartiennent au genre *Trichoderma*, lesquels ont pour origine Sétif et d'El Tarf. Aucun *Trichoderma* n'a été isolé de la région de Skikda. Afin de garantir des échantillons distincts pour la suite de l'étude, nous n'avons conservé qu'un seul isolat lorsque plusieurs colonies de *Trichoderma* présentaient des apparences externes similaires. Finalement, quatre isolats sont sélectionnés pour la suite des expérimentations (**Tableau 5**). Nous avons isolé d'autres champignons dont *Aspergillus*, *Penicillium*, *Verticillium*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Sclerotinia*, plus d'autres non identifiés. Cette collection est conservée en laboratoire.

Tableau 6: Isolats de *Trichoderma* sélectionnées pour l'expérimentation.

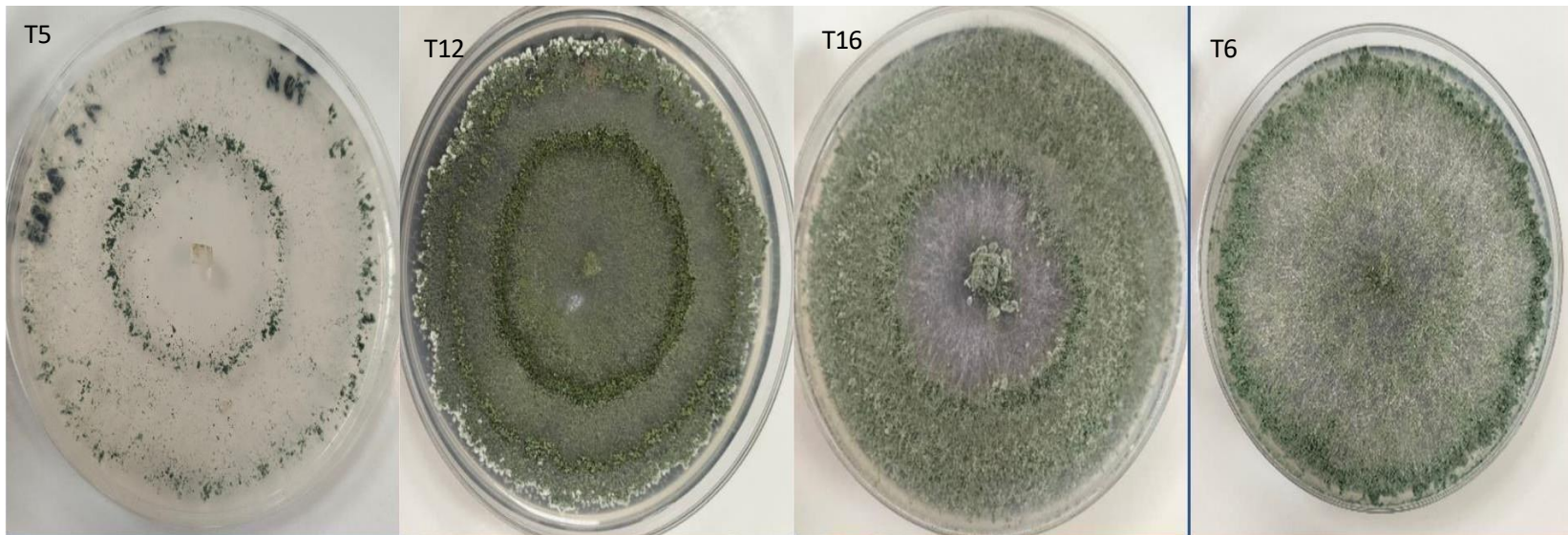
| Codification adoptée | Genre | Origine | Date d'isolement | Milieu de culture | Dilution |
|----------------------|------------------------|----------|------------------|-------------------|------------------|
| T5 | <i>Trichoderma</i> sp. | El-Taref | 01/12//2024 | PDA | 10 ⁻² |
| T6 | <i>Trichoderma</i> sp. | El-Taref | 05/12//2024 | PDA | 10 ⁻¹ |
| T12 | <i>Trichoderma</i> sp. | El-Taref | 01/11//2024 | PDA | 10 ⁻² |
| T16 | <i>Trichoderma</i> sp. | El-Taref | 01/12//2024 | RB-SF | 10 ⁻² |

Les explants mycéliens issus des cultures monospores sont prélevés à partir de la périphérie de la colonie de 5 jours. Ils sont mis dans des tubes Eppendorf stériles puis conservés dans l'obscurité, à 4°C, jusqu'à leur utilisation.

2.1 Caractérisation des *Trichoderma*

L'identification préliminaire des isolats de *Trichoderma* s'est basée sur des critères morphologiques macroscopiques (couleur, texture et taux de croissance des colonies) et microscopiques (morphologie des conidiophores et des conidies) (**Figure 20**). Nous avons noté certains caractères comme le nombre d'anneaux concentriques, la couleur des conidies, la couleur de l'agar, la structure du mycélium et des conidiophores, la forme des phialides et la taille des conidies selon les critères de (**Tableau 6**).

Caractères macro-scopiques



Caractères micro-scopiques

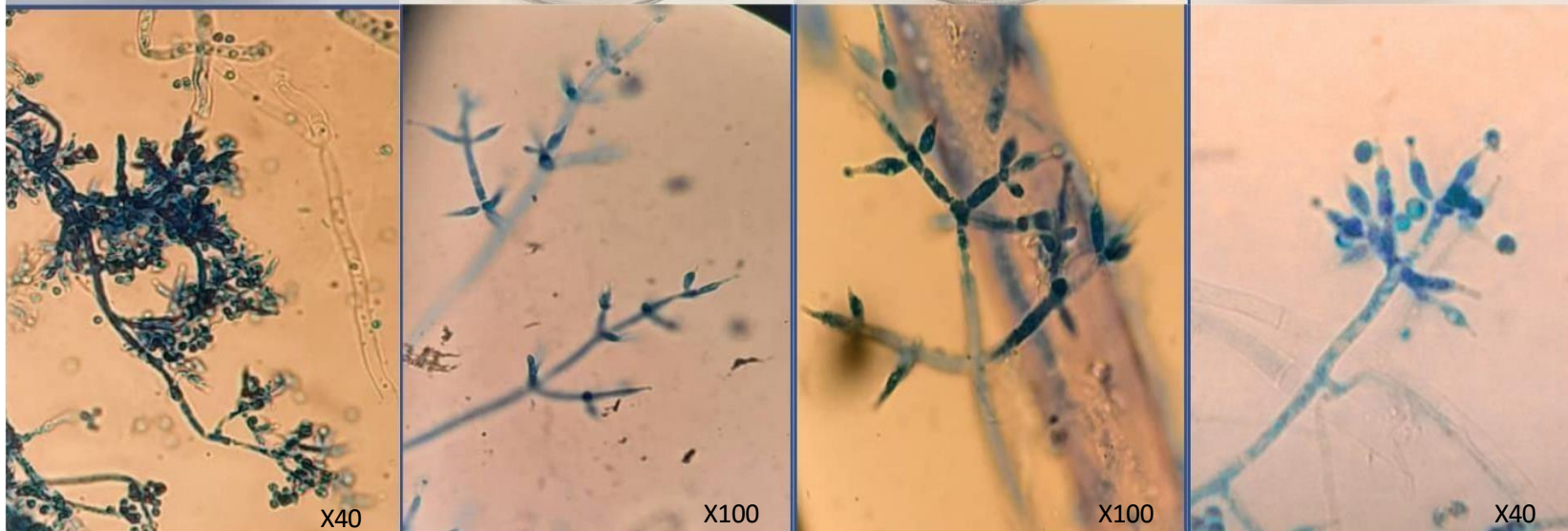


Figure 20: Aspects microscopiques des isolas de *Trichoderma* spp. Les structures des champignons sont colorées en bleu Coton

Tableau 7: Caractères morphologiques des isolats de Trichoderma.

| Caractéristiques | | T5 | T6 | T12 | T16 |
|------------------------------|-----------------------|--|--|--|--|
| Caractères macroscopiques | Anneaux concentriques | 2 | 3 | 3 | 3 |
| | Couleur des conidies | vert | vert | vert foncé | vert clair |
| | Couleur de la gélose | blanc | blanc | Pigment jaune orangé intense et diffusant | blanc |
| | Structure du mycélium | Présence de mycélium aérien | Mycélium aérien présent | Mycélium aérien présent | Mycélium aérien présent |
| | Odeur | Pas d'odeur particulière | noix de coco | noix de coco | noix de coco |
| Caractères microscopiques | Conidiophores | Très ramifié et s'étendant vers le haut en forme de pyramide | Très ramifié et s'étendant vers le haut en forme de pyramide | Très ramifié et s'étendant vers le haut en forme de pyramide | Très ramifié et s'étendant vers le haut en forme de pyramide |
| | Phialides | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 μm | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 μm | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 μm | En forme de flacon, généralement court et large, d'une longueur de 4 à 6 μm |
| | Conidies | 2 à 4 μm Globuleux à subglobuleux | 2-4 μm Globuleux à subglobuleux | 2-4 μm Globuleux à subglobuleux | 2 à 4 μm Globuleux à subglobuleux |

3.1 Evaluation in vitro du potentiel antagoniste de *Trichoderma* spp. vis- à-vis de FOC

3.1.1. Croissance mycélienne du parasite confronté à FOC

Afin d'évaluer l'efficacité antagoniste des isolats de *Trichoderma* vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC 132), le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène a été mesuré pour quatre isolats distincts : T5, T6, T12 et T16 (**figure 17**). Cette dernière montre que tous les isolats exercent une activité inhibitrice significative, avec des performances variables. L'isolat T12 se distingue par son activité plus marquée, atteignant un taux d'inhibition de la croissance du parasite avoisinant 60 %, pendant que T5 et T6 présentent des valeurs proches l'une de l'autre (environ 56 %), traduisant une efficacité modérée mais stable. L'isolat T16, quant à lui, affiche le taux d'inhibition le plus faible (~54 %), bien qu'il conserve une certaine activité antagoniste. Par ailleurs, la faible amplitude des barres d'erreur observées pour chaque isolat témoigne d'une bonne reproductibilité des essais et d'une robustesse expérimentale satisfaisante (**Annexe 8**).

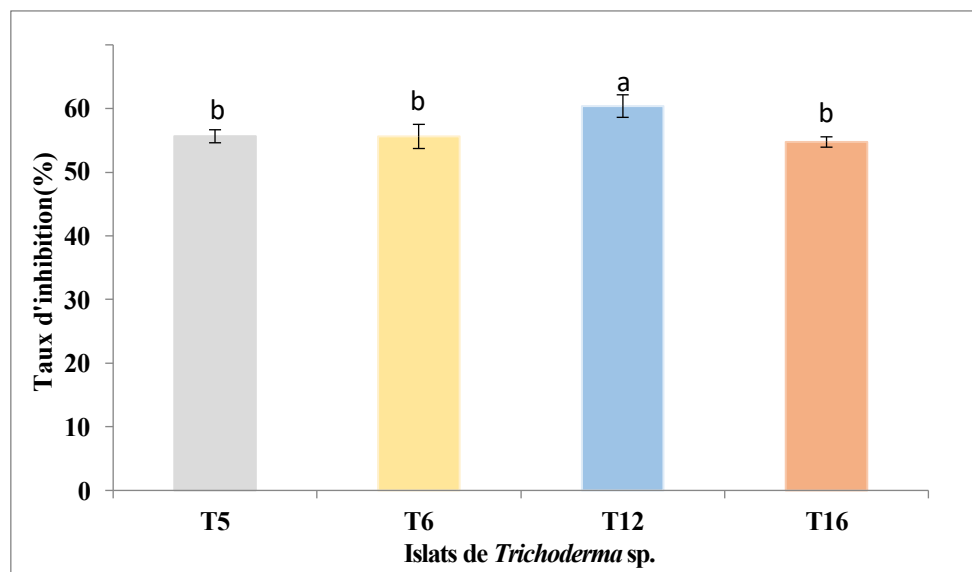


Figure 21: Taux d'inhibition de la croissance mycélienne de FOC 132 en présence de *Trichoderma* sp.

L'évolution de la croissance mycélienne de la souche pathogène de FOC 132 a été suivie sur une période de six jours (J2 à J7), en conditions *in vitro*. La **Figure 22** illustre les variations de la croissance mycélienne (exprimée en centimètres) en fonction du traitement appliqué. Une tendance générale à l'augmentation de la croissance au cours du temps est observée pour l'ensemble des modalités, mais avec des amplitudes distinctes selon l'isolat considéré. Tous les isolats de *Trichoderma* ont arrêté la croissance du pathogène, pratiquement dès le 4^{ème} jour.

L'isolat T5 se démarque par son effet marqué sur l'inhibition de la croissance du pathogène, traduisant une forte activité antagoniste. Les isolats T6 et T12 présentent également un effet inhibiteur, bien que modéré et relativement stable. En revanche, l'isolat T16 se révèle le moins performant, la croissance de FOC 132 s'en rapprochant de celle du témoin non traité. Cette dernière, observée en l'absence d'antagoniste, représente la croissance maximale du pathogène et constitue la référence comparative pour cette série d'essais.

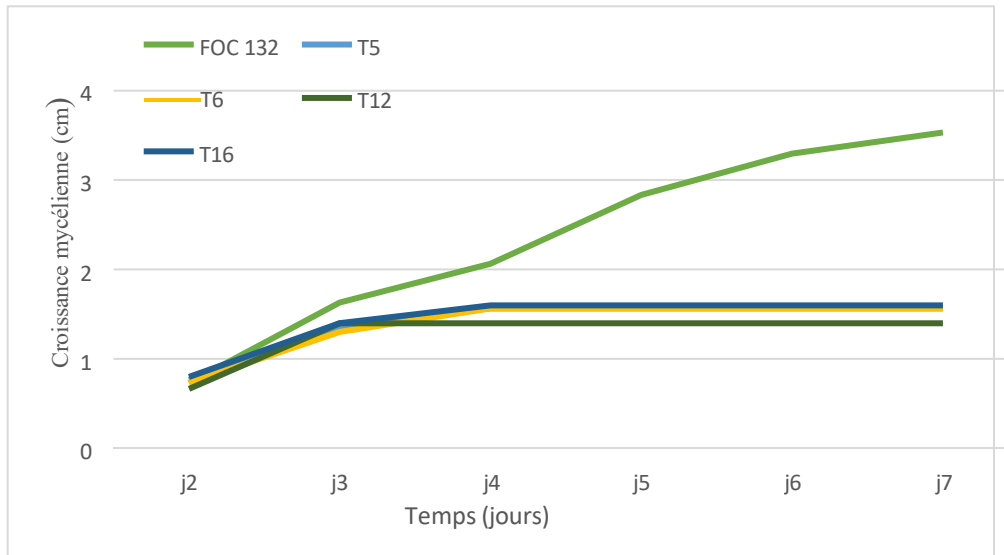


Figure 22: Évolution temporelle de la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC 132) en présence des isolats de *Trichoderma* (T5, T6, T12 et T16).

3.1.2. Évaluation du mycoparasitisme de *Trichoderma*

Les tests in vitro mettant en confrontation *Trichoderma* spp. Face à la souche pathogène FOC 132 ont démontré une activité mycoparasitaire remarquablement élevée pour toutes les souches choisies dans notre étude. Les colonies des antagonistes (T5, T6, T12 et T16) ont poussé sur le mycélium de FOC. Chaque isolat a montré une capacité significative à envahir presque entièrement le mycélium du pathogène, avec un taux d'invasion supérieur à 75 %, ce qui les classe dans la catégorie 4 selon l'échelle d'intensité mycoparasitaire (0-4) établie par Elias et al. (1993). Un mycoparasitisme de Classe 4 indique une invasion complète du mycélium pathogène associée à une sporulation active de *Trichoderma* sur la colonie de celui-ci. La classification de ces isolats dans la classe 4 met en évidence leur forte capacité non seulement à inhiber la croissance du *Fusarium*, mais aussi à sporuler activement sur son mycélium. Ceci est clairement démontré par les observations microscopiques (**Figure 23**) qui montrent l'enroulement des hyphes de *Trichoderma* autour des hyphes du parasite, ce qui conduit ensuite à la formation de structures spécialisées appelées appressoria, utilisées pour pénétrer la paroi cellulaire de l'hôte et absorber les nutriments.

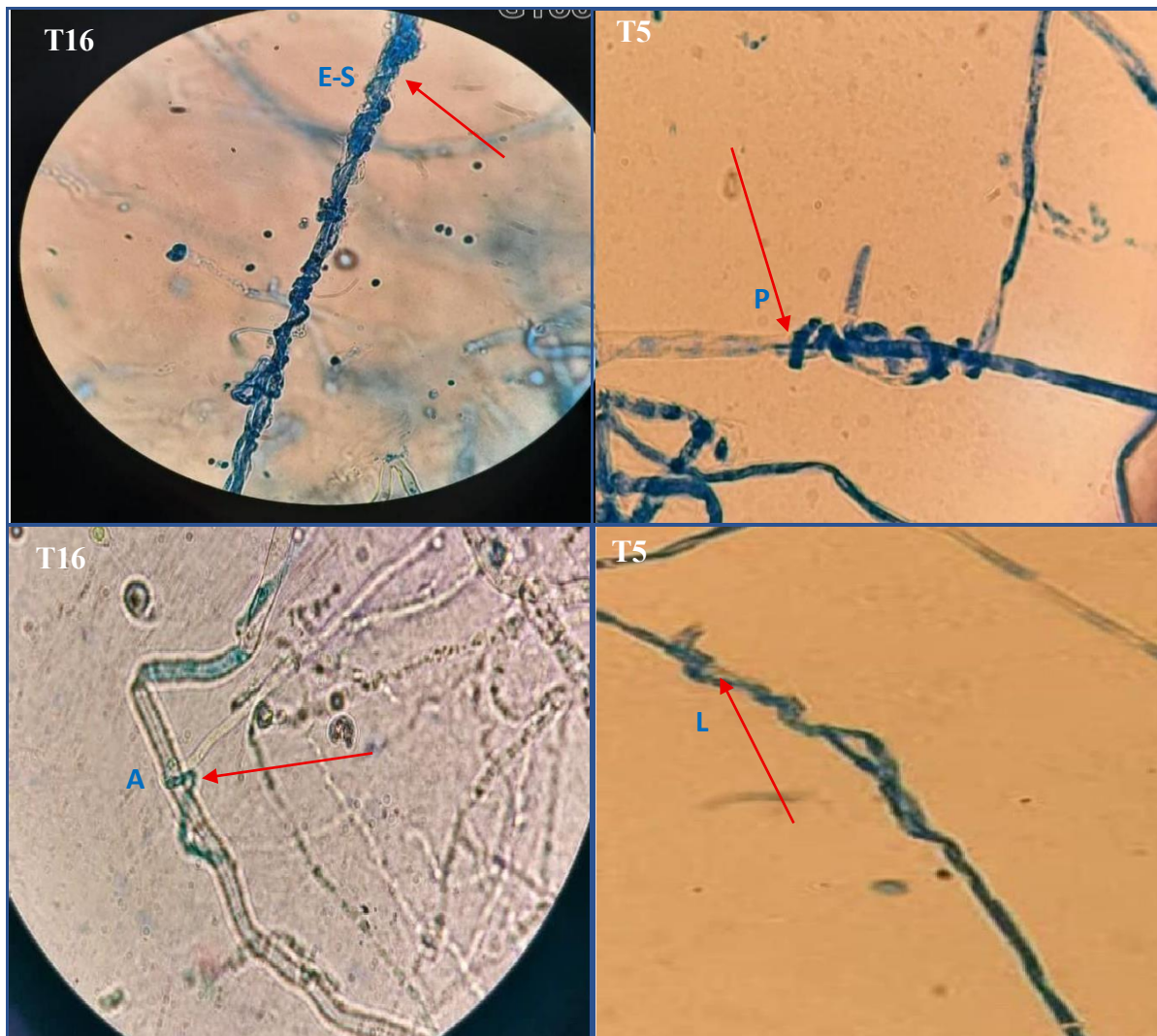


Figure 23: Observation microscopique de l'interaction des hyphes des antagonistes testés avec celles du pathogène (x100). E: Enroulent des hyohes de *Trichoderma* autour des hyphyes du parasite et sporulation sur ces dernières. P : Pénétration du mycélium de l'antagoniste à l'intérieur de celui de FOC. L : Lyse du mycélium de FOC. A: Appressorium formé par *Trichoderma* (Originale, 2025).

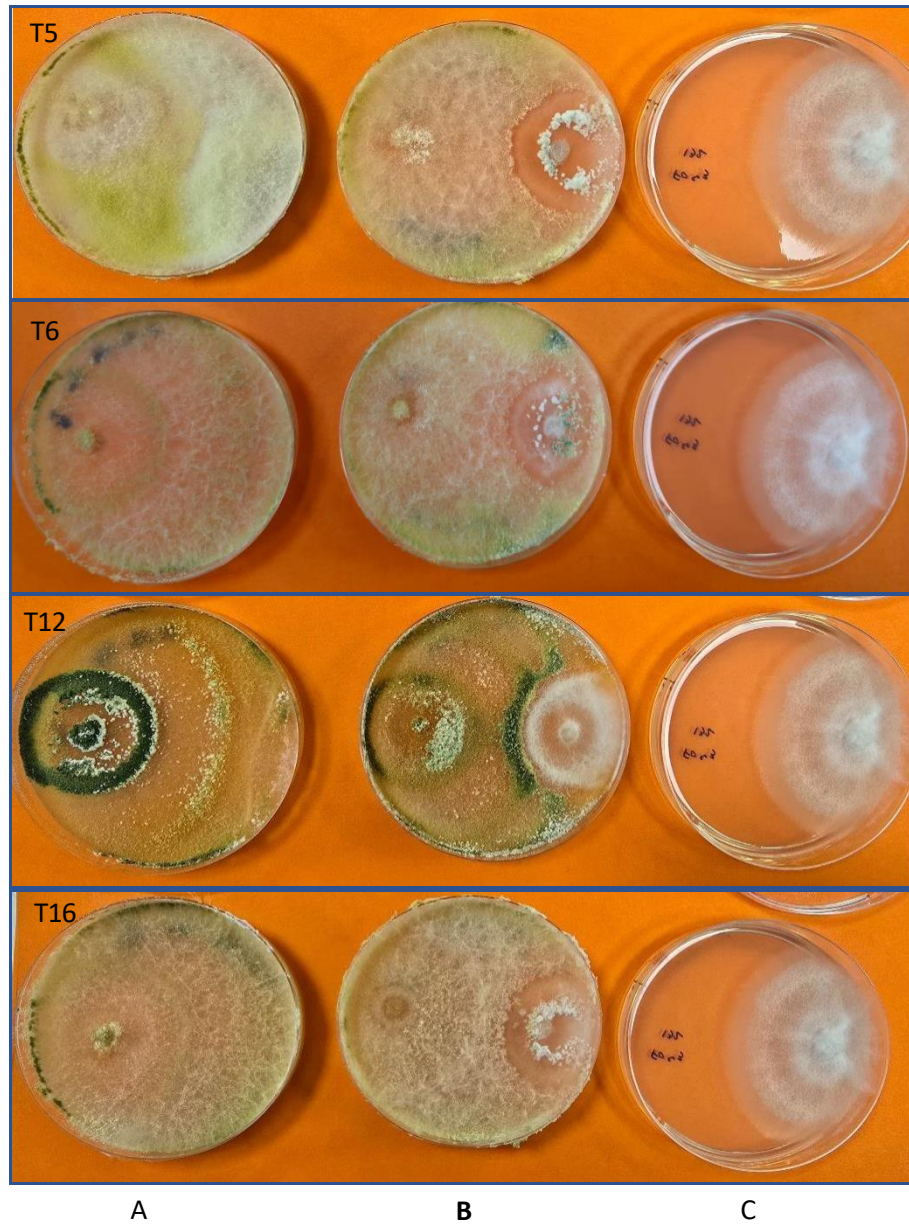


Figure 24: Effet in vitro des isolats de *Trichoderma* T5, T6, T12 et T16 vis-à-vis de FOC 132, après 7 jours de confrontation. (A): *Trichoderma* (Témoin) seul, non confronté, (B): Confrontation entre les souches de *Trichoderma* et FOC 132 (C): FOC132 seul, non confronté. (Originale, 2025).

4.1 Evaluation in vivo du potentiel antagonisme de *Trichoderma* spp. vis- à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*.

4.1.1. Incidence de la maladie

L'incidence correspond au pourcentage de plantes présentant des symptômes de fusariose. Elle a été évaluée 10 jours après inoculation, ce qui correspond à la fin de l'expérience.

Dés la première notation, soit 9 jours après l'inoculation, l'incidence de la maladie était déjà élevée pour T5+FOC 132 (100 %), T16+FOC (85,72) et FOC (89,29%).

A la dernière notation, soit 17 jours d'inoculation, les lots de plantules traités aux T5+FOC 132, T16+FOC 132 et FOC 132 ont montré un taux d'incidence de 100%, alors que le groupe de contrôle non inoculé est demeuré indemne de la maladie (**Figure 25**).

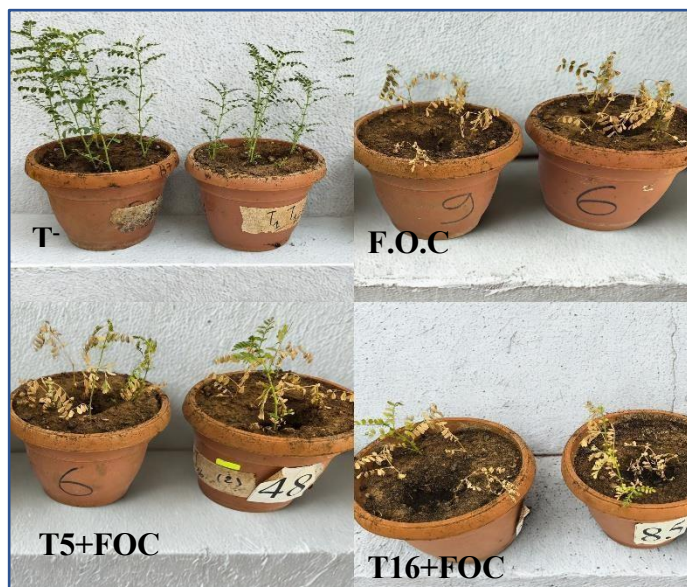


Figure 25: Symptômes de fusariose vasculaire sur plantules de pois chiche traitées notés 17 jours après l'inoculation avec *Trichoderma* T5 et T16 comparativement au témoin avec parasite (T+) et témoin sans parasite et sans *Trichoderma* (T-).

4.1.2. Analyse de l'AUDPC (Area Under Disease Progression Curve)

Les figures 26 illustrent l'évolution de la sévérité de la maladie sur les plants de pois chiche, mesurée respectivement par l'aire sous la courbe de progression de la maladie (AUDPC). Au cours des dix jours d'observations et de notations. La vitesse de progression de la maladie est légèrement plus rapide dans le cas des lots de plantules inoculés avec les mélanges des souches (T5+FOC et T16+FOC), relativement au lot inoculé avec FOC 132. En début des notations, soit 9 jours après inoculation, les AUDPC correspondantes aux traitement FOC132+T5 et FOC132+T16, sont égales à 46,42, comparativement au traitement FOC 132 qui montre une valeur de 43,75. A la fin de

l'expérimentation, soit 17 jours après inoculation, ses valeurs sont de 168,75 pour T5+FOC132, 175 (T16+FOC132) et 164, 29 (FOC 132). Le mélange de l'isolat de *Trichoderma* avec celle de FOC 132 a légèrement stimulé la maladie.

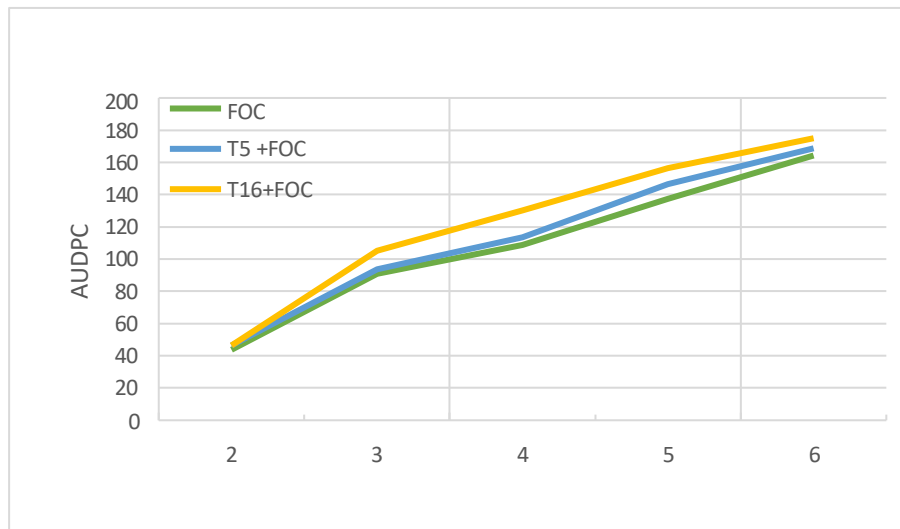


Figure 26: Evolution de l'AUDPC de la maladie notée sur plantules de pois chiche (ILC 3279) inoculées avec T16+FOC, T5+FOC et FOC 132.

5.1 Evaluation des *Trichoderma* spp. Pour leur potentiel à promouvoir la croissance des plantes de pois chiche

5.1.1. Estimation de paramètres biochimiques à l'aide d'un capteur optique «Dualex »

Les indices NBI, Chll et Flavonols sont notés à 7, 14, 21, 28 jours après inoculation, ce qui correspond à 16, 23, 30 et 37 jours après semis.

5.1.1.1. NBI (Nitrogen balance index)

La pince dualex donne un résultat, le NBI pour Nutrition Balance Index, qui est un rapport entre la teneur en chlorophylle et la teneur en flavonoïdes. Plus cet indicateur est haut, meilleure est la nutrition azotée qui favorise la synthèse de chlorophylle.

La figure 27 illustre les indices NBI enregistrés durant la période de l'essai. Nous remarquons que tous les traitements appliqués montrent une réduction progressive du NBI entre la première notation survenue le 16/03/2025 et la dernière le 06/04/2025. En effet, le contrôle négatif (T-) montre une réduction du NBI, puisque ce dernier était à 31,81 lors de la première notation et est passé à 21,31 à la fin de l'expérimentation, soit 4 semaines après, enregistrant ainsi une chute d'équivalent teneur azote de 10,50. Le traitement (T+) montre également un déclin de l'indice NBI, puisque celui-ci est passé 34,04 à 25,26, soit une réduction de l'ordre de 8,78. En revanche, les traitements au *Trichoderma* (T5 et T16) induisent des baisses insignifiantes à la fin de l'expérimentation. Ainsi, avec le T5, l'écart calculé est de 2,55 et avec le traitement T16, celui-ci était de 8.97 (**Figure 27**).(**Annexe 9**).

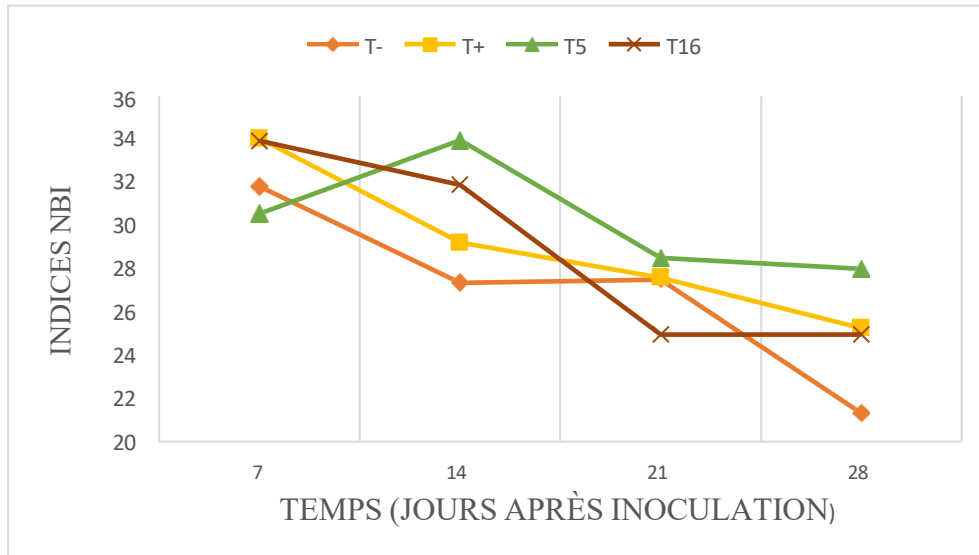


Figure 27: NBI du pois chiche traités aux *Trichoderma* (T16 et T5) et non traités (T- et T+).

5.1.1.2. Chlorophylle foliaire (Chl)

La figure 28 illustre l'indice équivalent chlorophylle des plantules de pois chiches. Nous observons une baisse significative de l'indice pour tous les traitements, mais celle-ci est plus marquée pour T- et T16 à J4. T+ et T5 montrent une meilleure stabilité de la chlorophylle en fin d'essai, ce qui traduit un meilleur état physiologique des feuilles.

Nous remarquons sur la figure 28 que quel que soit le traitement appliqué, une réduction progressive du NBI est observée. En effet, le contrôle négatif (T-) montre une réduction allant d'un indice de 32,85 à 22,95 enregistrés après une semaine et 4 semaines après inoculation, respectivement, soit une chute d'équivalent teneur chlorophylle de 9,9. Le traitement (T+) montre également un déclin de l'indice chlorophylle, puisque celui-ci est passé 32,8 à 24,37, soit une réduction de l'ordre de 8,43. Dans le cas des lots traités avec de T5 et T16 les écarts calculés affichent 9,68 et 12,7, respectivement (**Annexe 10**).

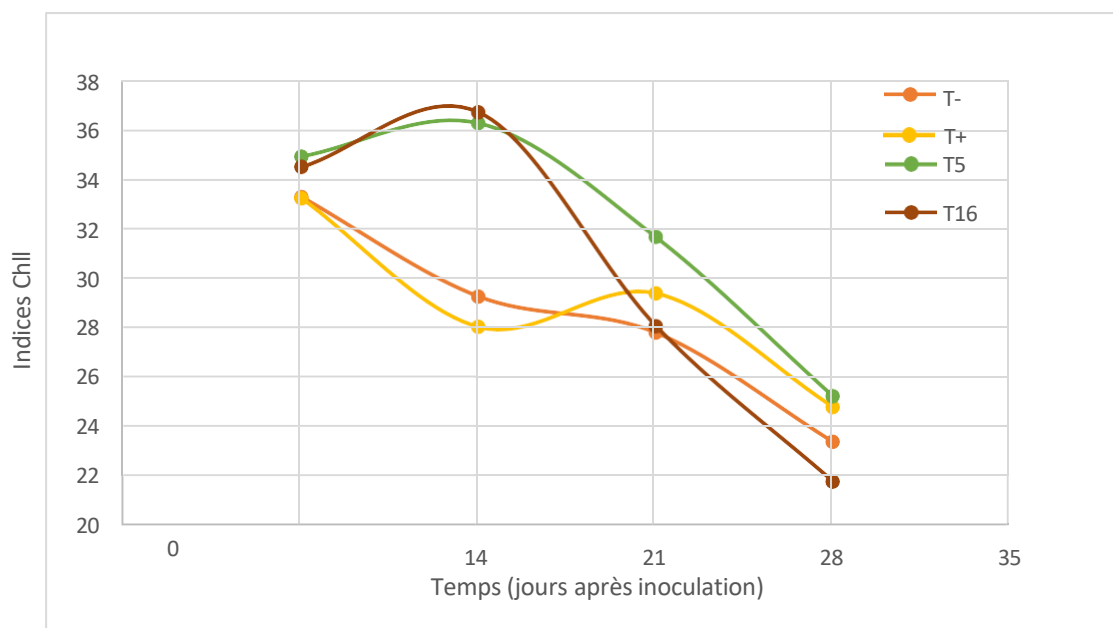


Figure 28: Indice chlorophylle (Chll) du pois chiche traités aux *Trichoderma* (T5 et T16) comparativement aux témoins (T- et T+).

5.1.1.3. Indice flavonoïdes (Flav)

La figure 29 montre les résultats des indices de flavonoïdes relevés durant les traitements des plantules de pois chiche avec les isolats de *Trichoderma* (T5 et T16) ou la souche FOC 132. Globalement, cette courbe montre des fluctuations de l'indice des flavonoïdes entre chaque date de notation, mais nous constatons une hausse des indices de ces indices dans le cas de T- et T16, passant de 1,06 durant la première notation à 1,16 à la 4ème notation, et de 0,99 à 1,16, respectivement (**Annexe 11**). Une chute de la valeur de l'indice est constatée dans le cas de T5 passant de 1,13 à 0,87 et une stabilité dans le cas de T+ avec une valeur 0,99.

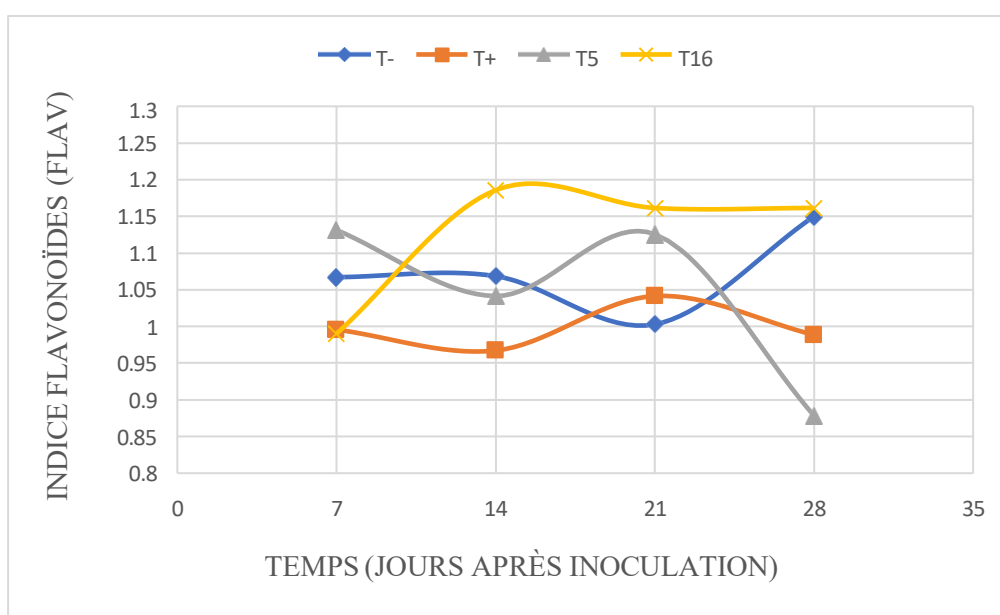


Figure 29: Indice flavonoïdes du pois chiche traités avec *Trichoderma* (T5 et T16) comparativement aux témoins (T- et T+).

6.1 Mesure des paramètres morphométriques des plantules

Nous pouvons évaluer et quantifier objectivement l'effet de stimulation de la croissance (**figure 30**) en comparant des plantes inoculées avec des isolats de *Trichoderma* à des plantes témoins non inoculées. Dans cette étude, nous avons mesuré la hauteur des plantules à la fin de l'expérience (60 jours après l'inoculation) et avons apprécié le développement racinaire.

6.1.1. Effet des traitements sur la croissance du pois chiche

La figure 31 illustre les données de la longueur du système aérien autrement dit la hauteur des plantules.

Le traitement T13 montre la valeur la plus élevée (42,71 cm), suivi par le traitement T+ (40,98 cm), le traitement I (40,34 cm) et enfin le témoin négatif T- (37,78 cm).

La vitesse de croissance moyenne (mm/jour) enregistrée dans le témoin positif (T+) est la plus élevée, suivi par T13 et I, qui montrent également une stimulation notable par rapport au témoin négatif (**Figure 31**).

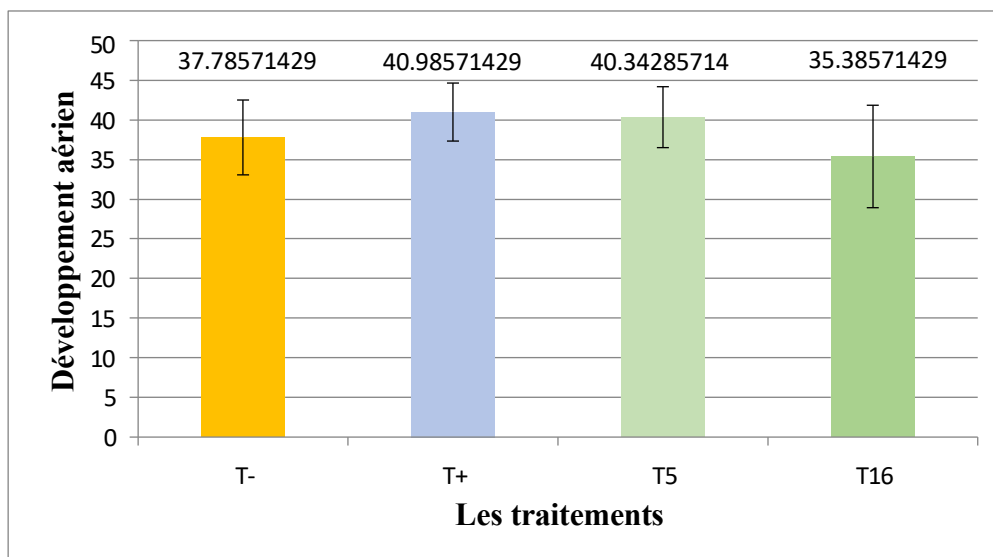


Figure 30: Hauteur des plantules du pois chiche traités aux *Trichoderma* (T5 et T16) et non traités (T- et T+). Les moyennes représentent la somme de 7 répétitions correspondant chacune à 1 plantule par pot (**Annexe 12**).

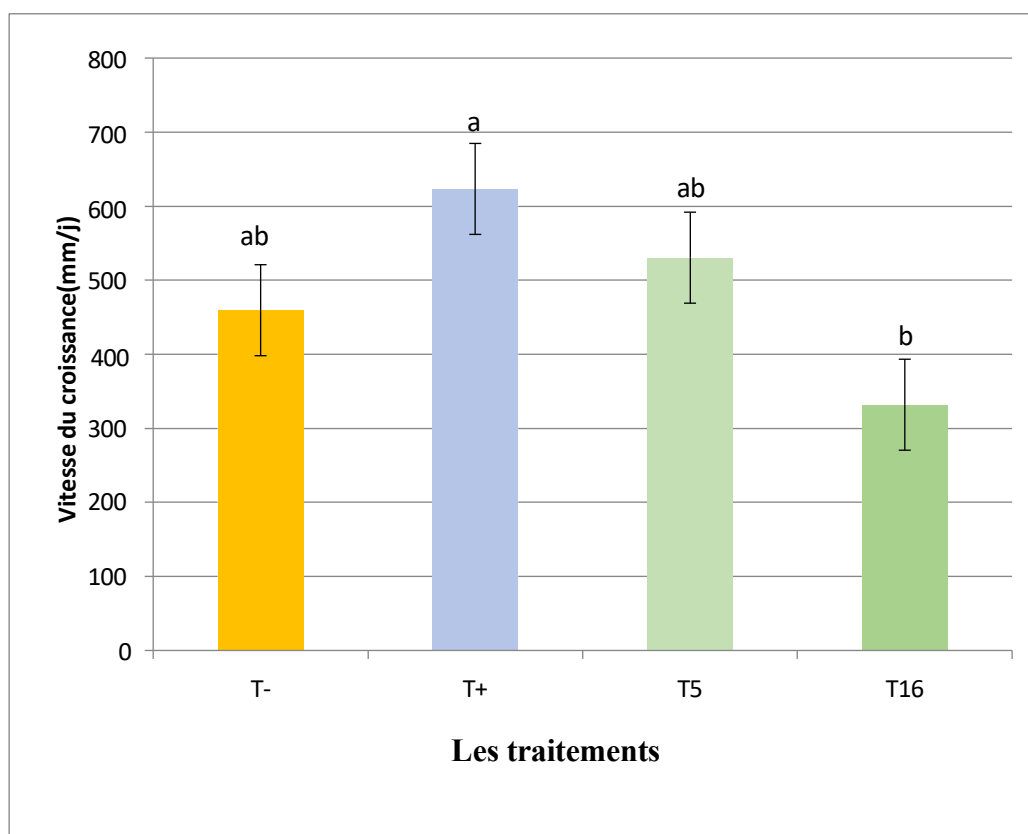


Figure 31: Vitesse de croissance des plantules de pois chiche traités avec T5 et T16, comparativement aux témoins non traités (**Annexe 12**).

L'isolat T5 a favorisé un développement racinaire remarquable, Les plantes traitées avec cette souche ont affiché un système racinaire considérablement plus étendu et vigoureux par rapport à celles du bloc (T-), suggérant une amélioration significative de l'absorption des nutriments. Cette dynamique pourrait être attribuée à une interaction bénéfique entre l'isolat T5 et la plante. À l'instar de l'isolat T5, T16 a présenté un développement racinaire très important, ce qui améliore sa capacité d'absorption des nutriments et renforce sa croissance (**Figure 32**).



Figure 32: Importance du volume racinaire d'une plantule de pois chiche traité avec *Trichoderma*, comparativement au témoin non traité. Photos prises 49 jours après inoculation. A : Témoin non traité ; B : pois chiche traité avec T5 ; C/D : pois chiche traité avec T16

7.1 Estimation des paramètres biochimiques des isolats de *Trichoderma*

7.1.1. Production d'AIA (Acide indole acétique) par les souches de *Trichoderma*

L'évaluation quantitative de la production d'IAA (exprimée en $\mu\text{g/ml}$) par les différents isolats a révélé des différences significatives entre les traitements. Les valeurs moyennes obtenues pour chaque isolat et chaque condition sont rapportées dans la **Figure 33**.

Dans la figure 33, isolats T5 et le mélange isolats T5/FOC132 présentent les plus fortes productions d'AIA, supérieures à $15 \mu\text{g/ml}$, tandis que les isolats T16 et le mélange T16/F. OC132 montrent des valeurs plus faibles, proches de $12,6 \mu\text{g/ml}$.

Une analyse de variance (ANOVA) effectuée sur les données AIA indique une différence hautement significative entre les traitements ($F = 18,48$; $p < 0,0001$) (**Annexe 13**). Ceci suggère que la capacité de production d'AIA est fortement influencée par l'isolat testé.

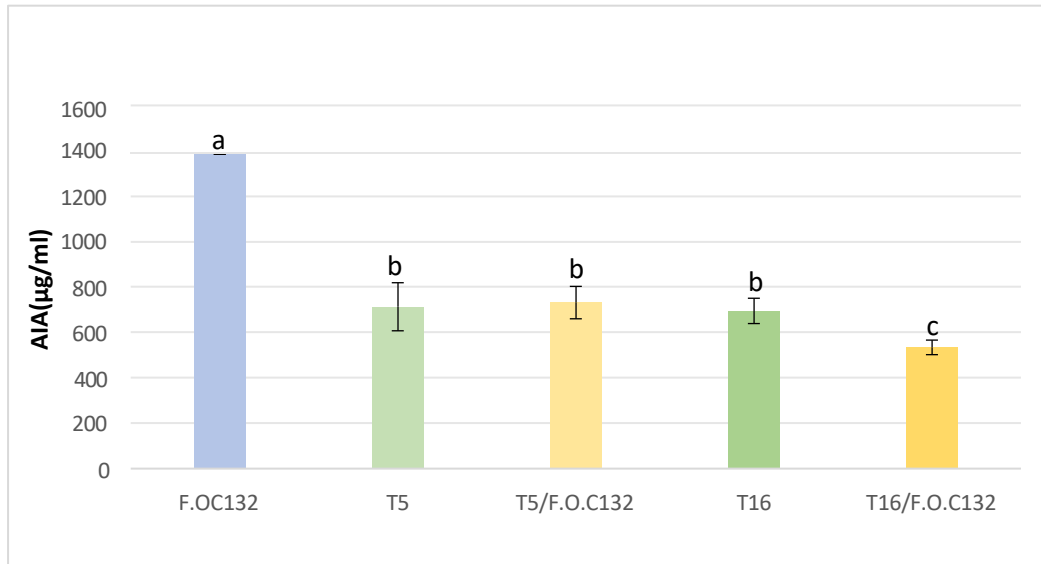


Figure 33: Effet différentiel des traitements microbiens sur la production d'AIA du pois chiche.

7.1.2. Détection de l'activité cellulolytique par hydrolyse du CMC

Afin d'évaluer l'activité cellulolytique des isolats fongiques étudiés, un test d'hydrolyse du carboxyméthylcellulose (CMC) a été réalisé en milieu solide.

La figure 34 illustre l'activité cellulolytique des isolats T5 et T16 de *Trichoderma*, cultivés sur ce milieu (**Figure 34**). Cette activité, qui indique une dégradation enzymatique de la cellulose, est visualisée par des halos clairs autour des colonies, qui sont révélés par une technique de double coloration utilisant l'iode de Lugol et le rouge Congo. Le milieu CMC facilite spécifiquement la détection de cette dégradation enzymatique.

Une zone claire distincte autour de l'isolat T16 a démontré son importante activité cellulolytique. En revanche, l'isolat T5 n'a produit aucune zone claire, ce qui indique une absence d'activité enzymatique détectable dans les conditions expérimentales.

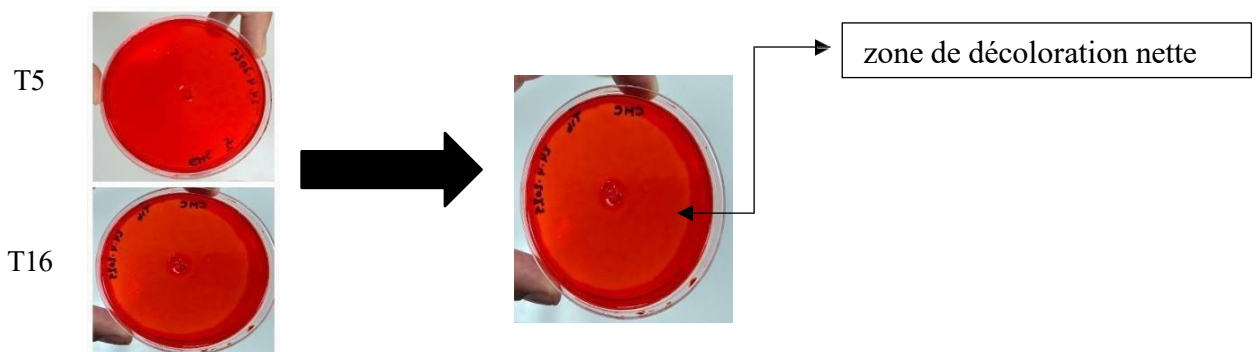


Figure 34: Évaluation de l'activité cellulolytique des deux isolats de *Trichoderma* (T5/T16).

L'indice d'hydrolyse (IH), calculé à partir du rapport entre le diamètre de la zone de lyse et celui de la colonie, constitue un indicateur quantitatif de la production de cellulases. Les résultats obtenus (Figure X) révèlent une différence significative entre les deux isolats testés. L'isolat T16 présente un IH élevé avec 0.95 , traduisant une forte capacité à hydrolyser la cellulose, ce qui témoigne d'une activité enzymatique intense.

À l'inverse, l'isolat T5 affiche un IH très faible avec 0.01 , indiquant une production négligeable de cellulases. Cette disparité enzymatique suggère que T16 dispose d'un arsenal hydrolytique plus développé, ce qui pourrait renforcer son aptitude à coloniser le substrat, à dégrader les parois cellulaires fongiques et à exercer une action mycoparasitaire efficace contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Ces résultats confirment l'intérêt de cet isolat comme candidat potentiel pour une stratégie de biocontrôle fondée sur la production d'enzymes extracellulaires.

2) Discussion

Dans les sols notamment au niveau de la rhizosphère, les *Trichoderma* exercent un antagonisme bénéfique sur la croissance et le développement des pathogènes telluriques (Dubey et al., 2007). Ils exercent également une action sur la promotion de la croissance des plantes (Harman, 2000). Leur utilisation en tant qu'agents de lutte biologique contre le *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* et en tant que promoteurs de la croissance des plantes (souvent appelé "phytostimulation") et ses interactions complexes avec les plantes.

L'absence d'isolats de *Trichoderma* dans les sols de Skikda pourrait s'expliquer par des conditions édaphiques défavorables à son développement. La croissance de ce champignon nécessite des substrats riches en matière organique et en carbone assimilable, avec un rapport C/N optimal avoisinant 45 (Horn et al., 2016). Or, les sols de Skikda présentent une faible teneur en matière organique et une structure souvent altérée par l'agriculture intensive (Bouziane et al., 2018), ainsi qu'un pH acide (5,2–6,5) et une faible capacité d'échange cationique (Mechakra et al., 2021), réduisant l'activité microbienne bénéfique.

La compétition avec d'autres microorganismes tels que *Penicillium*, *Aspergillus niger* et certaines actinobactéries, déjà bien établis dans la microflore locale, représente un autre obstacle à l'implantation de *Trichoderma* (Djelloul et al., 2017).

Ces facteurs combinés — pauvreté biologique, déséquilibre microbien et acidité — concordent avec les travaux de Harman et al. (2004) et Verma et al. (2007), soulignant l'importance d'un sol écologiquement équilibré pour favoriser les agents de biocontrôle comme *Trichoderma* spp.

Les souches de *Trichoderma* isolées des sols de Setif et d'El tarf ont montré un fort potentiel antagoniste *in vitro*, notamment parasitaire. Ces isolats ont toutes un degré 4, un indice maximal de mycoparasitisme selon l'échelle de Elias et al. (1993). Les observations microscopiques effectuées au microscope photonique montrent un enroulement et une sporulation- typiques de mycoparasitisme des hyphes de *Trichoderma*- autour des hyphes de FOC. Selon Harman (2000) ce phénomène est souvent précédé par une reconnaissance chimique suivie de la production d'enzymes hydrolytiques (*chitinases*, *glucanases*) qui dégradent la paroi cellulaire du champignon cible. L'observation directe de ces interactions apporte une preuve visuelle appuyant le potentiel de ces souches en tant qu'agents de biocontrôle dans la protection des cultures de pois chiche. Pourtant les deux souches sélectionnées pour le test *in vivo* n'ont pas montré les mêmes capacités que durant le test *in vitro*, puisqu'elles n'ont pas stoppé la maladie, mais l'ont juste ralenti. Leur introduction dans le sol en même temps que le parasite, aurait serait probablement à l'origine de ce manque d'efficacité. A l'avenir, il serait souhaitable de mettre en place un autre essai où le *Trichoderma* serait introduit dans le sol en premier, bien avant l'introduction du pathogène,

soit par exemple dans une cinétique de temps de 24, 48, 72 heures, ce qui permettrait peut-être la pleine expression des capacités de *Trichoderma*, car elles auraient peut être colonisé les racines du pois chiche avant que ces dernières ne soient en contact avec le parasite (FOC). Par ailleurs, à l'avenir il faudra aussi tester différentes concentrations d'inoculum.

Sur le plan de la promotion de la croissance des plantes de pois chiche, les isolats T5 et T16 ont remarquablement favorisé le développement racinaire. Les plantes traitées avec ces isolats disposent d'un système racinaire considérablement plus étendu et vigoureux par rapport aux plantes du bloc (T-), sans *Trichoderma*, suggérant ainsi une amélioration significative de l'absorption des nutriments.

Dans le cas de l'essai visant à évaluer l'impact de l'inoculation avec deux souches de *Trichoderma* (T5 et T16) sur l'indice NBI (Nitrogen Balance Index) de plants de pois chiche, comparativement à un contrôle négatif (sans *Trichoderma*) et un contrôle positif (T+). L'indice NBI est un indicateur de la teneur en azote des plantes, souvent corrélé à leur santé et à leur vigueur.

Les résultats suggèrent que l'isolat de *Trichoderma* T5 a eu un effet bénéfique notable sur le maintien de l'équilibre azoté (NBI) des plants de pois chiche sur 4 semaines, puisqu'elle a permis de limiter la dégradation du NBI à un niveau quasi insignifiant, T5 semble avoir aidé les plantes à mieux gérer leur statut azoté, potentiellement en améliorant l'absorption ou l'utilisation de l'azote.

En revanche, l'isolat T16 n'a pas démontré un tel effet protecteur sur l'indice NBI, affichant une performance similaire aux contrôles en termes de déclin.

L'indice chl illustrent l'indice d'équivalence en chlorophylle des semis de pois chiches dans les différents traitements au fil du temps. Cet indice est une mesure directe de la teneur en chlorophylle des feuilles, servant d'indicateur clé de l'efficacité de la photosynthèse et de la santé physiologique globale de la plante. Or, nous avons remarqué, une baisse de cet indice indique généralement un stress ou une baisse de vitalité. Aucun des traitements n'a réussi à empêcher complètement la dégradation de l'indice Chl des plantules de pois chiche sur la durée de l'essai. Le traitement T+ montre la baisse la moins prononcée, suggérant une légère atténuation du déclin. En revanche, les isolats de *Trichoderma* T5 et T16 n'ont pas démontré de capacité à stabiliser l'indice chlorophylle; T5 se comportant de manière comparable au contrôle négatif, et T16 entraînant même la dégradation la plus significative de la chlorophylle.

Ces résultats suggèrent que, dans les conditions de cette expérience, ces souches de *Trichoderma* n'ont pas eu l'effet bénéfique attendu sur la teneur en chlorophylle.

Dans le cas des flavonoïdes, seule l'isolat T5 s'est distinguée par une réduction des flavonoïdes, ce qui pourrait indiquer une diminution du stress chez la plante.

Si on examine maintenant de prêt les paramètres biochimiques des isolats de *Trichoderma* et du pathogène, il y a lieu de relever la capacité exceptionnelle de FOC 132 à induire la production d'AIA *in vitro*. Ce comportement pourrait être attribué à la présence de voies métaboliques fongiques spécifiques impliquant le tryptophane comme précurseur, tel que proposé par Spaepen et al. (2011) et confirmé par Kudoyarova et al. (2019). Cette capacité exceptionnelle de FOC à produire de l'AIA, est faite dans le but de manipuler la physiologie de l'hôte. En effet, selon Les pathogènes comme *Fusarium oxysporum* produisent de l'AIA non pas pour "aider" la plante, mais pour manipuler sa physiologie à leur propre avantage. Un excès ou un déséquilibre de l'AIA peut perturber la croissance normale de la plante. Par exemple, une concentration élevée d'AIA peut entraîner des symptômes de maladie, comme la prolifération anormale de tissus, la déformation des racines, ou la perturbation du transport de l'eau et des nutriments, ce qui favorise la colonisation et la propagation du pathogène, ce qui faciliterait l'infection (Ma et al., 2013),

Par ailleurs, l'isolat T16 se distingue par la formation d'un halo clair bien défini autour de la colonie sur milieu CMC, ce qui témoigne d'une dégradation effective de la cellulose. Cette activité est attribuable à la production d'enzymes cellulolytiques extracellulaires, notamment les endoglucanases, exoglucanases et β -glucosidases, enzymes clés impliquées dans l'hydrolyse des polymères cellulosiques complexes (Kubicek et al., 2009 ; Sandhya et al., 2022 ; de Souza et al., 2019).

Cette capacité enzymatique joue un rôle crucial dans le mycoparasitisme — en facilitant la pénétration des hyphes de champignons pathogènes — ainsi que dans la compétition pour les substrats carbonés du sol, conférant à l'isolat T16 un avantage écologique notable.

À l'inverse, l'isolat T5 n'a montré aucun signe d'activité cellulolytique visible, comme en témoigne l'absence totale de halo de dégradation. Ce résultat peut résulter soit d'une absence de production d'enzymes cellulolytiques, soit d'une non-induction de leur expression dans les conditions expérimentales, en raison de l'absence de cofacteurs ou d'inducteurs spécifiques dans le milieu (Zhang et al., 2014).

Conclusion générale

Conclusion générale

Cette étude a exploré le potentiel de souches de *Trichoderma* isolées de sols algériens, notamment de Sétif et d'El Tarf, comme agents de biocontrôle contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* (Foc) et comme promoteurs de croissance pour le pois chiche. Les résultats soulignent l'importance des conditions édaphiques sur la présence de *Trichoderma*, expliquant son absence dans les sols de Skikda par une faible teneur en matière organique, un pH acide et une forte compétition microbienne.

En laboratoire (*in vitro*), les souches de *Trichoderma* de Sétif et d'El Tarf ont démontré un mycoparasitisme élevé contre Foc, avec des observations directes d'enroulement et de sporulation, confirmant leur potentiel antagoniste via la production d'enzymes hydrolytiques. Cependant, leur efficacité *in vivo* a été limitée, les souches ne parvenant qu'à ralentir la maladie plutôt qu'à la stopper. Cette divergence suggère que le timing de l'inoculation du *Trichoderma* par rapport au pathogène est crucial, et des essais futurs devraient envisager une inoculation préalable du *Trichoderma* pour optimiser la colonisation racinaire et la pleine expression de leurs capacités.

Sur le plan de la promotion de la croissance racinaire, les isolats T5 et T16 ont significativement amélioré le développement du système racinaire des plants de pois chiche, ce qui les rend d'autant plus intéressantes pour leur utilisation pour l'absorption des nutriments. L'analyse des indices NBI et chlorophylle a montré des résultats plus nuancés, l'isolat T5 a démontré une capacité à maintenir l'équilibre azoté (NBI) des plants, car elle a limité sa dégradation de manière quasi insignifiante, suggérant une meilleure gestion du statut azoté. De plus, T5 est le seul isolat qui a entraîné une réduction de l'indice de flavonoïdes, ce qui pourrait indiquer une diminution du stress chez la plante hôte. En revanche, l'isolat T16 n'a pas eu d'effet protecteur sur le NBI, elle est même la cause de la dégradation la plus significative de la chlorophylle, et aussi la cause d'une augmentation des flavonoïdes, suggérant ainsi un potentiel impact négatif sur la santé physiologique des plants dans les conditions de notre essai.

L'étude a également révélé que le pathogène Foc 132 possède une capacité exceptionnelle à produire de l'AIA (*in vitro*). Cette surproduction d'AIA par le pathogène est interprétée comme un mécanisme de virulence visant à manipuler et perturber la physiologie de l'hôte.

L'isolat T16 a une forte activité cellulolytique, un avantage pour le mycoparasitisme et la compétition pour les ressources du sol, tandis que T5 n'a montré aucune activité cellulolytique visible, soulignant la diversité des mécanismes d'action entre les isolats de *Trichoderma*.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Agrichem. (2016). *Fiche technique : pois chiche*. <https://agrlichem.dz>
- Agriculture and Agri-Food Canada (AAC). (2023). *Pulse crop reports* (112 p.). Ottawa
- Agriculture and Agri-Food Canada. (2020). *Pulse market report*.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5th ed.). Elsevier Academic Press.
 - *Annales de l'INA, Tome X(2)*, 1–5.
- Anonyme. (1994). *Les cultures légumineuses alimentaires en Algérie*. Ministère de l'Agriculture, Algérie.
- Anonyme. (2005). *Profil du pois chiche au Canada*. Programme de réduction des risques liés aux pesticides, Centre pour la lutte antiparasitaire, Agriculture et Agroalimentaire Canada, en collaboration avec Pulse Canada. <https://www.pulsecanada.com>
- Armstrong, G. M., & Armstrong, J. K. (1981). *Formae speciales and races in Fusarium oxysporum causing wilt diseases*. In P. E. Nelson, T. A. Tousson, & R. J. Cook (Eds.), *Fusarium diseases: Biology and taxonomy* (pp. 391–399). Pennsylvania State University Press.
- Arroyo-García, R., Cenis, J. L., Tello, J., Martínez-Zapater, J. M., & Cifuentes, D. (2003). Genetic relationships among seven specialized forms and AFLPs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 3(1), 55–63. <https://doi.org/10.5424/sjar/2003031-170>
- Babar, B. M., Shah, T. M., Abbas, G., & Ahsanul Haq, M. (2009). Genotype × environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes developed through mutation breeding. *Pakistan Journal of Botany*, 41(4), 1883–1890.
- Bamouh, A., Noufiri, H., Zeggaf, T., & Moutawakel, H. (2002). Développement et application d'un modèle de simulation du bilan hydrique (AGROSIM) à la prévision des rendements de la fève et du pois chiche en zone semi-aride marocaine. In *Conférence Internationale « Politiques d'irrigation: considérations micro et macroéconomiques »* (Agadir, Maroc). Cité dans Ben Mbarek, K. (2011). *Comportement du pois chiche (Cicer arietinum) du type "Kabuli" vis-à-vis du stress hydrique et identification des génotypes tolérants la sécheresse* [Thèse de doctorat,

Institut supérieur agronomique de Chott Meriem – Tunisie].

- Bani, A., Khan, M. R., & Javaid, A. (2021). Biological management of Fusarium wilt of chickpea using bioformulations of Trichoderma spp. and Pseudomonas fluorescens. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31(1), 1–11.
- Barik, B. P., Tayung, K., Jagadev, P. N., & Dutta, S. K. (2010). Phylogenetic placement of an endophytic fungus *Fusarium oxysporum* isolated from *Acorus calamus* rhizomes with antimicrobial activity. *European Journal of Biological Sciences*, 2(1), 10–17.
- Beckman, C. H. (1987). *The nature of wilt of plants*. American Phytopathological Society.
- Bedrani, S., & Bourenane, N. (2017). *Politiques agricoles et transformations des systèmes de production en Algérie*. Oran : Éditions CRASC. <http://www.crasc.dz/publications>
- Ben Mbarek, K. (2011). *Comportement du pois chiche (Cicer arietinum) du type « Kabuli » vis-à-vis du stress hydrique et identification des génotypes tolérants la sécheresse* [Thèse de doctorat, Institut supérieur agronomique de Chott Meriem, Tunisie].
- Ben Mbarek, K., Boujelben, A., Boubaker, M., & Hannachi, C. (2009). Criblage et performances agronomiques de 45 génotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) soumis à un régime hydrique limité. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(3), 381–393.
- Benbelkacem, A., & Adli, B. (2019). Les légumineuses alimentaires en Algérie : enjeux et perspectives. *Revue Agricultura*, 12(3), 45–60.
- Berger, J., Abbo, S., & Turner, N. C. (2003). Ecogeography of annual wild *Cicer* species: The poor state of the world collection. *Crop Science*, 43(3), 1076–1090. <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.1076>
- Booth, C. (1971). *The genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute.
- Bouazza, M., Aissani, N., & Khellaf, N. (2012). Étude des sols et de la biodiversité microbienne dans la région de El Tarf (Nord-Est algérien). *Afrique Science*, 8(3), 43–52.
- Boutati, E. I., & Anaissie, E. J. (1997). *Fusarium*, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy: Ten years experience at a cancer center and implications for management. *Blood*, 90(3), 999–1008.

- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2), 414–431.
- Braun, P. H., Planquaert, P. H., & Wery, J. (1988). *Pois chiche : culture, utilisation* (11 p.). Paris : Éditions ITCF.
- Brink, M., & Belay, G. (2006). *Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1 : Céréales et légumes secs* (328 p.). Wageningen, Pays-Bas : PROTA/Backhuys Publishers/CTA.
- *Chickpea trends and market outlook* (45 p.). Hyderabad : ICRISAT.
- Cubero, J. I. (1987). Morphology of chickpea. In M. C. Saxena & K. B. Singh (Eds.),
- Cunnington, J., Lindbeck, K., Rodney, H., & Jones. (2009). Diagnostic methods for *Fusarium* wilt of chickpea (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*). *Padil Plant Biosecurity Toolbox*, 1–22.
- Dagher, D. J., Jaoude, A. A., & Rizk, Z. J. (2022). Biological control of soil-borne diseases using native *Trichoderma* isolates from Lebanon. *Journal of Plant Pathology*, 104, 1005–1016.
- Di Pietro, A., Garcia-Maceira, F. L., Huertas-González, D., Ruiz-Roldán, M. C., Carcuel, Z., Barbieri, A. S., & Roncero, M. I. G. (1998). Endopolygalacturonase PG1 in different formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(6), 1967–1971. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.6.1967-1971.1998>
- DSASI (Direction des statistiques agricoles et systèmes d'information). (2009–2017). *Statistiques agricoles "Série B"*. Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche, Algérie.
- DSASI (Direction des statistiques agricoles et systèmes d'information). (2015). *Statistiques agricoles "Série B"*. Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche, Algérie.
- Ellis, R. H., Lawn, R. J., Summerfield, A., Qi, R. M., Roberts, E. H., Chay, J. B., Brouwer, J. B., Rose, S. J., Yeates, S. J., & Sandover, S. (1994). Towards the reliable
 - *Experimental Agriculture*, 30(2), 193–210.
- *sp. ciceri* (Padwick) [Mémoire de Magister, Université d'Oran].
- Fabre, C. (2008). *Fiche technique production développement en Languedoc-Roussillon. Filière oléoprotéagineux* (septembre 2008).
- FAOSTAT. (2022). *Production mondiale de légumineuses*. FAO.

<http://www.fao.org/faostat>

- Flandez-Galvez, H., Ford, R., Pang, E. C. K., & Taylor, P. W. J. (2003). An interspecific linkage map of the chickpea (*Cicer arietinum* L.) genome based on sequence-tagged microsatellite site and resistance gene analog markers. *Theoretical and Applied Genetics*, *107*, 1447–1456. <https://doi.org/10.1007/s00122-003-1372-7>
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2020). *Crop statistics*. <https://www.fao.org/faostat/>
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2021). *FAO Statistical Databases*. <https://www.fao.org/faostat/>
- Food and Agriculture Organization (FAO). (2025). *FAOSTAT: Production de pois chiches (2019–2023)*. <http://www.fao.org/faostat/>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). *FAOSTAT statistical database*.
- Food and Agriculture Organization. (2020). *Statistiques des cultures légumineuses en Afrique du Nord*. FAO. <http://www.fao.org/statistics>
- Food and Agriculture Organization. (2023). *FAOSTAT Statistical Database*. FAO.
- Gaur, P. M., & Gour, V. K. (2002). Genetic diversity in chickpea. *Euphytica*, *127*, 343–366.
 - Hacini, N., & Morsli, A. (2015). Caractérisation agro-climatique de la région de Sétif en lien avec les systèmes de culture. *Revue des Bioressources*, *5*(1), 20–30.
- Haddoudi, I., Mlaouhi, A., & Benkirane, R. (2023). Integrated disease management strategies for controlling vascular wilt of chickpea in Morocco. *Acta Agriculturae Scandinavica*, *73*(3), 191–199.
- Hamadache, H., & Aït Abdallah, M. (1998). Contraintes techniques de la culture du pois chiche en zones semi-arides. Communication présentée au *Séminaire national sur les légumineuses*, ITGC, Algérie.
- Hanelt, P. (2001). *Mansfeld's encyclopedia of agricultural and horticultural crops (except ornamentals)* (1st English ed., 3645 p.). Springer Verlag.
- Hassan, F. (2006). *Heterologous expression of a recombinant chitinase from *Streptomyces olivaceoviridis* ATCC 11238 in transgenic pea (*Pisum sativum* L.)* [Thèse de doctorat en microbiologie, Université de Damas].

- Haware, M. P., & Nene, Y. L. (1982). Races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*. *Plant Disease*, 66(9), 809–810. <https://doi.org/10.1094/PD-66-809>
- Haware, M. P., Nene, Y. L., & Natarajan, M. (1996). Survival of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathologia Mediterranea*, 35(1), 9–12.
- ICARDA. (1992). *Annual report for 1992*. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria.
- Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC). (2018). *Brochure technique sur le pois chiche*. <https://www.itgc.dz>
- International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT). (2022).
- International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics. (2020). *Chickpea production trends in Asia* [Annual report].
- International Trade Centre. (2021). *Trade map: International trade statistics*.
- Jaiswal, R., & Singh, N. P. (2001). Plant regeneration from NaCl tolerant callus/cell lines of chickpea. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*, 8. ICRISAT.
- Jensen, E. S., Peoples, M. B., Boddey, R. M., Gresshoff, P. M., Hauggaard-Nielsen, H., Alves, B. J. R., & Morrison, M. J. (2012). Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32(2), 329–364.
- Jiménez-Díaz, R. M., Castillo, P., Jiménez-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. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.02.023>
- Jimenez-Gasco, M. D. M., Milgroom, M. G., & Jimenez-Diaz, R. M. (2004). Stepwise evolution of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequences. *Phytopathology*, 94(3), 228–235. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.3.228>
- Joshi, P. K., & Rao, P. P. (2021). Global pulses trade: Patterns and determinants. *Food Policy*, 98, 101953.
- Kamel, M. (1990). Winter chickpea: status and prospects. *Options Méditerranéennes, Série Séminaires*, 9, 145. CIHEAM.
- Kassem, Z., Lev-Yadun, S., Gopher, A., Weinberg, P., & Abbo, S. (2006). Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of*

Archaeological Science, 33(8), 1310–1316. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2006.01.003>

- Kaur, M., Dubey, A., & Singh, D. (2019). Host–pathogen interaction in chickpea (*Cicer arietinum*) and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Legume Research*, 42(4), 546–551.
- Knights, E. J., Açıkgöz, N., Warkentin, T., Bejiga, G., Yadav, S. S., & Sandhu, J. S. (2007). Area, production and distribution. In S. S. Yadav, R. J. Redden, W. Chen, & B.
- Knights, E. J., Hobson, K. B., & Farfan-Caceres, L. M. (2023). Recent advances in chickpea production. *Advances in Agronomy*, 178, 215–290. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2022.12.003> (ajoutez le DOI si disponible)
- Kthiri, Z., Nasraoui, B., & Hibar, K. (2021). Evaluation of *Trichoderma harzianum* against *Fusarium* wilt of chickpea under greenhouse conditions. *International Journal of Agricultural Research*, 16(3), 101–108.
- Kumar, A., Tiwari, A. K., & Kumar, R. (2020). Breeding for fusarium wilt resistance in chickpea: Progress and prospects. *Plant Pathology Journal*, 36(2), 83–92.
- Kumar, S., Gupta, S., & Singh, B. B. (2021). Global pulses production: Recent trends and future prospects. *Agricultural Systems*, 189, 103040.
- Ladizinsky, G. (1975). A new *Cicer* from Turkey. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh*, 34, 201–202.
- Ladizinsky, G. (1998). *Plant evolution under domestication* (pp. 174–176). Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic.
- Laouar, M., & Zine, F. (1998). État des légumineuses alimentaires en Algérie : Cas des ressources phylogénétiques de pois chiche dans la région de Béjaïa. Communication au *Séminaire national sur les légumineuses alimentaires*, Tizi Ouzou.
- Laumont, P., & Chevassus. (1956). Notes sur l'amélioration du pois chiche en Algérie.
- LI, M., MA, G. shu, LIAN, H., SU, X. lin, TIAN, Y., HUANG, W. kun, MEI, J., & JIANG, X. liang. (2019). The effects of *Trichoderma* on preventing cucumber fusarium wilt and regulating cucumber physiology. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(3), 607–617. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62057-X](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62057-X)
- Ling, L. Y., & Robinson, R. J. (1976). Extracting and fractionating lipids from chickpea. *Cereal Foods World*, 21, 424.
- Loomis, R. S., & Connor, D. J. (1992). *Crop ecology: Productivity and management in*

agricultural systems. Cambridge University Press.

- Malhotra, M. C. (1998). *Germplasm program legumes: Annual report*. Aleppo, Syria: ICARDA.
- Maougal, R. T. (2004). *Techniques de production d'inoculum rhizobial : Étude de cas pois chiche (Cicer arietinum L.) : Inoculation et nodulation* (Mémoire de magister, Université Mentouri, Constantine, Algérie), p. 15.
- Melakhessou, Z. (2007). *Étude de la nuisibilité directe des adventices sur la culture de pois chiche d'hiver (Cicer arietinum L.) variété ILC 3279, cas de Sinapis arvensis L.* [Mémoire de magistère, Université El-Hadj Lakhdar, Batna, Algérie].
 - *Microbiological Reviews*, 59(1), 124–142.
- Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR). (2021). *Stratégie nationale de développement agricole durable*. Gouvernement Algérien. <http://www.minagri.dz/rapports>
- Muehlbauer, F. J., & Rajesh, P. N. (2008). Chickpea, common source of protein and starch in the semi-arid tropics. In P. H. Moore & R. Ming (Eds.), *Genomics of tropical crop plants* (pp. 67–79). Springer.
- Muehlbauer, F. J., & Sarker, A. (2017). Economic importance of chickpea: Production, value, and trends. In *The Chickpea Genome* (pp. 1–11). Springer.
- Muehlbauer, F. J., & Tullu, A. (1997). Chickpea improvement: An overview. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 57(Special Issue), 1–13.
- Munier-Jolain, N., & Carrouée, B. (2003). Considering pea in sustainable agriculture: Agricultural and environmental arguments. *Cahiers d'Études et de Recherches Francophones / Agricultures*.
- O'Neil, C. E., Nicklas, T. A., & Fulgoni, V. L. (2014). Chickpeas and hummus are associated with better nutrient intake, diet quality, and levels of some cardiovascular risk factors: National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2010. *Nutrition & Food Science*, 44(1), 1–7.
- Odds, F. C., Van Gerven, F., Espinel-Ingroff, A., Bartlett, M. S., Ghannoum, M. A., Lancaster, M. V., Pfaller, M. A., Rex, J. H., Rinaldi, M. G., & Walsh, T. J. (1998). Evaluation of possible correlations between antifungal susceptibilities of filamentous fungi in vitro and antifungal treatment outcomes in animal infection models. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 42(2), 282–288.

<https://doi.org/10.1128/AAC.42.2.282>

- Office National des Statistiques (ONS). (2021). *Annuaire des statistiques agricoles*. ONS Algérie. <http://www.ons.dz/agriculture>
- Ohri, D., & Pal, M. (1991). The origin of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Karyotype and nuclear DNA amount. *Heredity*, 66, 367–372.
- Pacucci, G. C., Troccoli, B., & Leoni, B. (2006). Effect of supplementary irrigation on yield of chickpea genotypes in a Mediterranean climate. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 8, 216–223.
- Pakdaman, B. S. (2013). Toward the Quantification of Confrontation (Dual Culture) Test: A Case Study on the Biological control of *Pythium aphanidermatum* with *Trichoderma asperelloides*. *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 04(02). <https://doi.org/10.4172/2155-6202.1000137>
- Patel, D., Patel, A., Vora, D., Menon, S., Vadakan, S., Acharya, D., & Goswami, D. (2018). A resourceful methodology to profile indolic auxins produced by rhizo-fungi using spectrophotometry and HPTLC. *3 Biotech*, 8(10), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1428-3>
- Paul, E. A., & Clark, F. E. (1996). *Soil Microbiology and Biochemistry* (2nd ed.). Academic Press.
- Pieckova, E., & Jesenska, Z. (1999). Microscopic fungi in dwellings and their health implications in humans. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 6(1), 1– 11.
- prediction of time to flowering in six annual crops: V. Chickpea (*Cicer arietinum* L.).
- Rekha, K. T., & Thiruvengadam, M. (2009). An efficient micropropagation of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Philippine Agricultural Scientist*, 92(3), 320–326.
- Rizwan, M., Nawaz, M., & Mehmood, A. (2022). Chickpea: A nutritional and agronomic perspective for sustainable agriculture. *Legume Science*, 4(2), e108.
- Rouibah, M. (1987). *The contribution to the study of the wilting of the chickpeas in Algeria* (51 p.). Institut National Agronomique El-Harrach, Algérie.
- Roy, F., Boye, J. I., & Simpson, B. K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. *Food Research International*, 43(2), 432–442.
- 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). <https://doi.org/10.3390/f12070945>

- Saccardo, F., & Calcagno, F. (1990). Consideration of chickpea plant ideotypes for spring and winter sowing. *Options Méditerranéennes, Série Séminaires*, 9, 35–41. CIHEAM.
- Saccardo, F., & Calcagno, F. (1990). Consideration of chickpea plant ideotypes for spring and winter sowing. *Options Méditerranéennes, Série Séminaires*, 9, 35–41. CIHEAM.
- Sanjeeva, W. T., Wanasundara, J. P., Pietrasik, Z., & Shand, P. J. (2010). Characterization of chickpea (*Cicer arietinum* L.) flours and application in low-fat pork bologna as a model system. *Food Research International*, 43(2), 617–626. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.025>
- Saxena M.C., 1987. Agronomy of chickpea. Pages 207-232 in *The chickpea* (Saxena, M . C, and Singh, K.B., eds.). Wallingford, Oxon , UK: CAB International.
- Saxena M.C., 1987. Agronomy of chickpea. Pages 207-232 in *The chickpea* (Saxena, M . C, and Singh, K.B., eds.). Wallingford, Oxon , UK: CAB International.
- Saxena, M. C. (1990). Chickpea production in the Mediterranean basin. *Options Méditerranéennes, Série A*.
- Saxena, M. C. (1992). Current status and prospects of kabuli chickpea production. In *Disease resistance breeding in chickpea* (p. 185). International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo, Syria.
- Saxena, M. C., & Singh, K. B. (1984). *Ascochyta blight and winter sowing of chickpeas*. Proceedings of the Workshop on Ascochyta Blight and Winter Sowing of Chickpeas, ICARDA, Aleppo, Syria.
- Schouten, A., Van Der Berg, G., Edel-Hermann, V., Steinberg, C., Gautheron, N., Alabouvette, C., De Vos, C. H., Lemanceau, P., & Raaijmakers, J. M. (2004). Defense responses of *Fusarium oxysporum* to 2,4-diacetylphloroglucinol, a broad-spectrum antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Phytopathology*, 94(11), 1201–1211. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1201>
- Sekkal, I., Mahiout, D., Ben-dahmane, 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
- Septiani, D. I. A., Suryadi, H., Mun'im, A., & Manguwardoyo, W. (2019). Production

of cellulase from *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei* mixed culture in carboxymethylcellulose medium as sole carbon. *Biodiversitas*, 20(12), 3539–3544. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d201211>

- Sharma (Eds.), *Chickpea breeding and management* (pp. 10–11). Wallingford, UK: CAB International.
- Singh, F., & Diwakar, B. (1995). *Chickpea botany and production practices* (Skill Development Series No. 16, pp. 502–324). ICRISAT, India.
- Singh, K. B. (1977). *Chickpea (Cicer arietinum L.)*. Hyderabad, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).
- Singh, K. B. (1987). Chickpea breeding. In M. C. Saxena & K. B. Singh (Eds.), *The chickpea* (pp. 62–xx). Wallingford, UK: CAB International.
- Singh, K. B. (1997). Chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Field Crops Research*, 53(3), 161–
- Singh, K. B., & Reddy, M. V. (1994). Registration of eight *Ascochyta* blight-resistant, early-maturing, large-seeded chickpea germplasms. *Crop Science*, 34(5), 1416–1417. <https://doi.org/10.2135/cropsci1994.0011183X003400050058x>
- Singh, P., Kalra, A., & Aggarwal, R. (2023). *Trichoderma* spp. as growth promoters and biocontrol agents: A comprehensive review. *Rhizosphere*, 27, 100635.
- Singh, P., Singh, J., Ray, S., Rajput, R. S., Vaishnav, A., Singh, R. K., & Singh, H. B. (2020). Seed biopriming with antagonistic microbes and ascorbic acid induce resistance in tomato against *Fusarium* wilt. *Microbiological Research*, 237(February). <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126482>
- Singh, U. (1985). Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum L.*): Current status and future research needs. *Quality Plant Foods and Human Nutrition*, 35, 339–351.
- Singh, U. (1985). Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum L.*): Current status and future research needs. *Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition*, 35, 339–351. <https://doi.org/10.1007/BF01091674>
- Slama, F. (1998). *Cultures industrielles et légumineuses à graines* (en arabe). Centre de diffusion universitaire. Cité dans Ben Mbarek, K. (2011). *Comportement du pois chiche (Cicer arietinum) du type « Kabuli » vis-à-vis du stress hydrique et identification des génotypes tolérants la sécheresse* [Thèse de doctorat, Institut supérieur agronomique de Chott Meriem, Tunisie].

- Smithson, J. B., Thompson, J. A., & Summerfield, R. J. (1985). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In R. J. Summerfield & E. H. Roberts (Eds.), *Grain legume crops* (pp. xx–xx). London, UK: Collins. (*Indiquer les pages exactes si possible*)
- Smýkal, P., Coyne, C. J., Ambrose, M. J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M. W., ... & Berger, J. (2015). Legume crops phylogeny and genetic diversity for science and breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1-3), 43–104.
- Snyder, W. C., & Hansen, H. N. (1940). The species concept in *Fusarium*. *Annual Journal of Botany*, 27(1), 64–67.
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F., & Sharma, A. (2020). Trichoderma: The “secrets” of a multitasking biocontrol agent. *Plants*, 9(6), 1–25. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
- Stagnari, F., Maggio, A., Galieni, A., & Pisante, M. (2017). Multiple benefits of legumes for agriculture sustainability: An overview. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4, 2.
- Summerbell, R. C., & Schroers, H. J. (2002). Analysis of phylogenetic relationships of *Cylindrocarpon lichenicola* and *Acremonium falciforme* to the *Fusarium solani* species complex and a review of similarities in the spectrum of opportunistic infections caused by these fungi. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(8), 2866–2875. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.8.2866-2875.2002>
- *The chickpea* (p. 207). CAB International.
- *The chickpea* (pp. 207–232). Wallingford, UK: CAB International.
- *The chickpea* (pp. 35–66). CAB International.
- Tlemsani, M. (2010). *Contribution à l'étude du flétrissement vasculaire du pois chiche (Cicer arietinum L.) causé par Fusarium oxysporum Schlecht. Emend. Snyd. & Hans.*
- TSA. (2022). Le double objectif du plan de relance de la culture des légumes secs en Algérie. *Tout sur l'Algérie (TSA)*. <https://www.tsa-algerie.com>
- TSA. (2022). Le plan de relance de la culture des légumes secs en Algérie. *Tout sur l'Algérie (TSA)*. <https://www.tsa-algerie.com>
- Upadhyaya, H. D., Bramel, P. J., & Singh, S. (2001). Development of a chickpea core collection using geographic distribution and quantitative traits. *Crop Science*, 41, 206–210.
- Van Rhijn, P., & Vanderleyden, J. (1995). The Rhizobium-plant symbiosis.

- Van der Maesen, L. J. G. (1987). Origin, history and taxonomy of chickpea. In M. C. Saxena & K. B. Singh (Eds.), *The chickpea* (pp. xx–xx). Wallingford, UK: CAB International.
- Verghis, T. I., McKenzie, B. A., & Hill, G. D. (1999). Phenological development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 27(1), 27–35. <https://doi.org/10.1080/01140671.1999.9514093>
- Wang, N., Hatcher, D. W., Tyler, R. T., Toews, R., & Gawalko, E. J. (2010). Effect of cooking on the composition of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and chickpeas (*Cicer arietinum* L.). *Food Research International*, 43(2), 589–594.

Zin, N. A. M., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168–1

Annexe

Les Milieux de culture

LE RB-S-F de McFadden et Sutton (1975)

Le milieu sélectif RB-S-F a été préparé dans un erlenmeyer d'un litre, contenant initialement 500 mL d'eau distillée stérile. Sous agitation constante à l'aide d'un agitateur magnétique, les composants ont été incorporés un à un pour assurer une dissolution homogène. Les substances ajoutées sont : 1 g de phosphate monopotassique (KH_2PO_4), 0,5 g de sulfate de magnésium heptahydraté ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 5 g de peptone comme source d'azote, et 10 g de glucose servant de source principale de carbone. Ensuite, 17 mg de Rose Bengal ont été incorporés pour limiter la croissance excessive de certaines colonies fongiques, puis 30 mg de sulfate de streptomycine, un antibiotique permettant de supprimer les bactéries. Enfin, 20 g d'agar ont été ajoutés pour la solidification du milieu.

La solution a été chauffée doucement jusqu'à dissolution complète, puis complétée avec de l'eau distillée pour atteindre un volume final de 1 000 mL. Le pH a été vérifié et ajusté si nécessaire, avant d'être stérilisé à l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes. Après stérilisation, 0,2 mL de formol stérile a été ajouté à chaud (environ 45–50 °C) afin d'augmenter le pouvoir sélectif du milieu. Ce milieu doit être utilisé rapidement après sa préparation et est particulièrement recommandé pour l'isolement de *Trichoderma* spp. à partir d'échantillons de sol ou de végétaux.

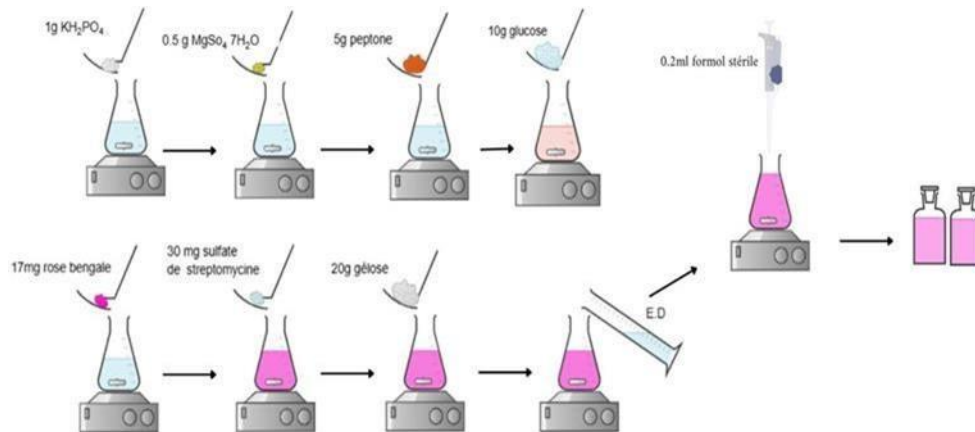


Figure : Préparation du milieu de culture au rose Bengal.

Le réactif de Salkowski :

Est couramment utilisé pour la détection qualitative de l'acide indole-3-acétique (AIA), une auxine végétale. Sa préparation nécessite la combinaison de trois solutions distinctes. La solution principale est composée de 50mL d'acide perchlorique à 35 %, servant de milieu acide favorable à la réaction colorée. À cela, on ajoute 1mL d'une solution de chlorure ferrique (FeCl_3) à 0,5 M, agissant comme catalyseur de la réaction. Ces deux composants sont mélangés avec précaution, généralement à l'abri de la lumière et sous hotte, en raison de la nature corrosive et oxydante de l'acide perchlorique. Le mélange doit être préparé fraîchement avant usage afin de garantir la stabilité et la sensibilité optimale du réactif.

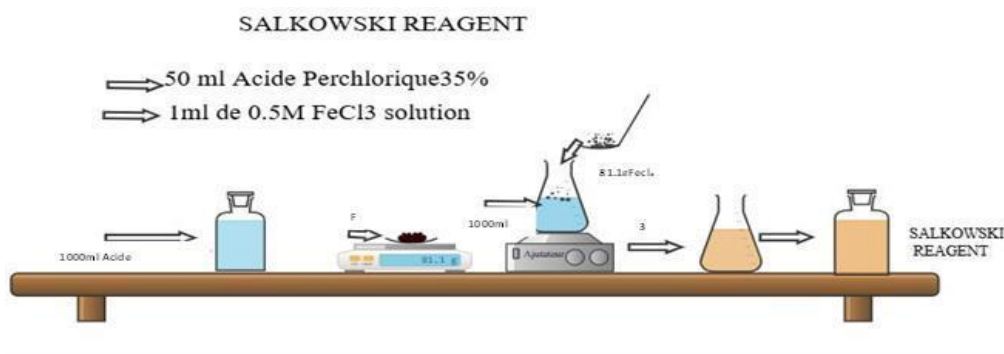
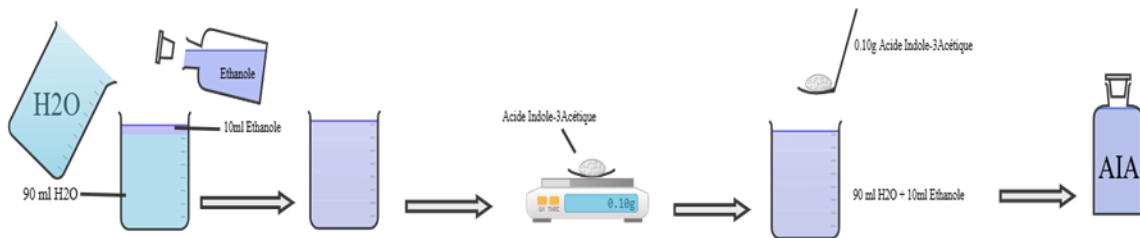


Figure : Préparation du réactif de Salkowski

Annexe 03

AIA

La solution mère d'acide indole-3-acétique (AIA) a été préparée en dissolvant avec précision 0,10 g de la substance dans un mélange hydroalcoolique composé de 90 mL d'eau distillée et de 10 mL d'éthanol absolu, permettant une solubilisation optimale de la molécule. Cette préparation a permis d'obtenir une concentration finale de 1 mg/mL. La solution obtenue a ensuite été incorporée au milieu de culture Potato Dextrose Broth (PDB), en y ajoutant 1,10 mL de solution mère, conformément au protocole standard. Afin de permettre une quantification fiable de l'AIA, une courbe d'étalonnage a été réalisée par spectrophotométrie. Pour cela, une série de dilutions successives de la solution mère a été préparée dans le PDB (par exemple : 1/2, 1/4, 1/5, 1/10), notamment en ajoutant 0,5 mL de solution mère à 4,5 mL de PDB pour obtenir une dilution au 1/10^e. L'absorbance de chaque dilution a été mesurée à une longueur d'onde de 280 nm, le PDB seul servant de blanc pour corriger l'absorbance de fond. Les valeurs obtenues ont permis de tracer une courbe standard liant l'absorbance aux concentrations connues d'AIA, constituant ainsi un outil de référence pour le dosage quantitatif de l'AIA dans les échantillons expérimentaux.



Parti 02: Courbe d'AIA

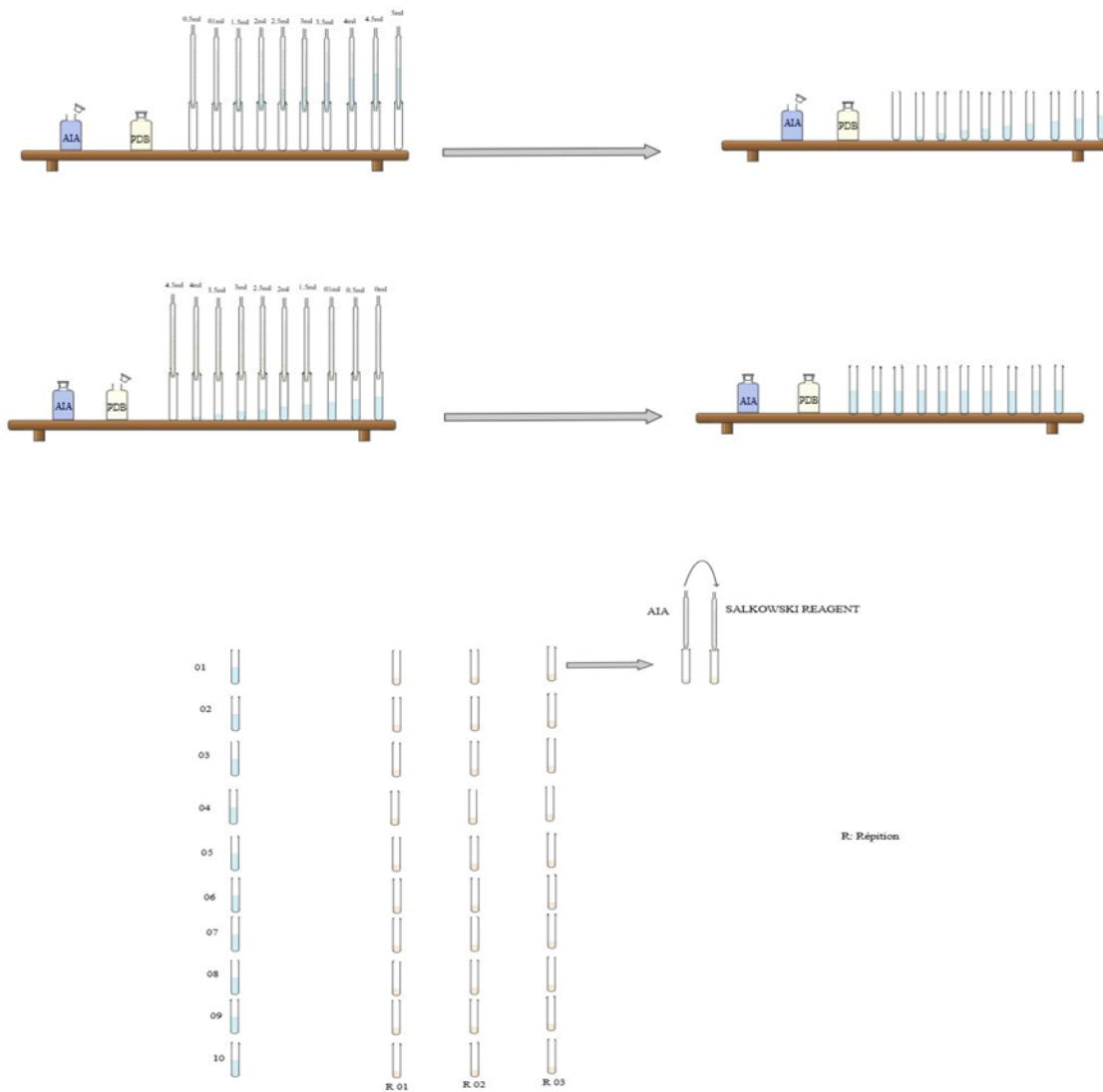


Figure : courbe d'AIA.

Annexe 04

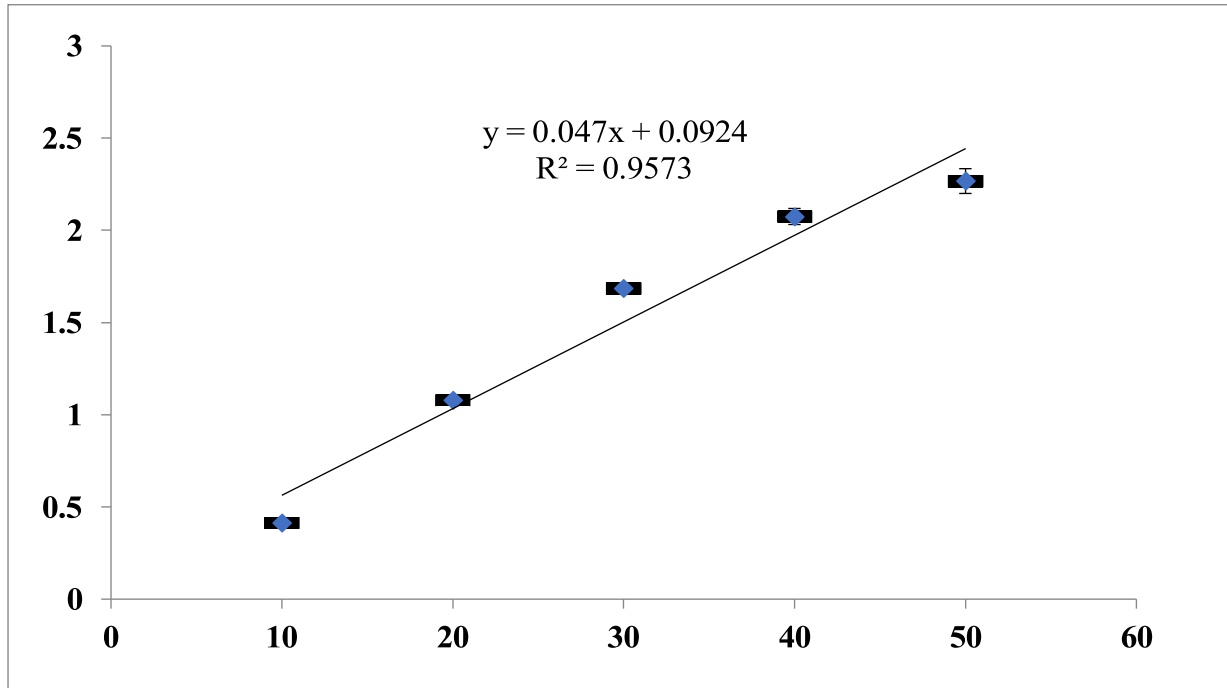


Figure : Courbe d'AIA

Annexe 05

0,1 g de NaNO_3 , 0,05 g d'extrait de levure, 0,1 g de KH_2PO_4 , 0,1 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ et 0,1 g de glucose (Murti et al., 2018).

Le Rouge Congo :

La solution de Rouge Congo a été préparée en dissolvant 4 g du colorant dans 400mL d'eau distillée, sous agitation magnétique pendant 10 minutes, afin d'assurer une homogénéité complète.

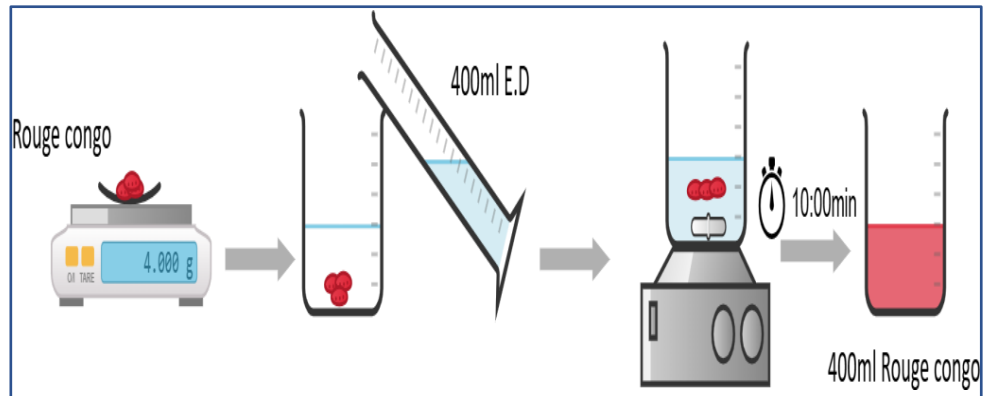


Figure: Préparation de la solution de rouge Congo.

Annexe 07

LA SOLUTION D'NaCl :

Un poids de 23,36 g d'NaCl a été dilué dans 400mL d'eau distillée La solution a été agitée magnétiquement pendant 10 minutes pour assurer une homogénéisation complète.

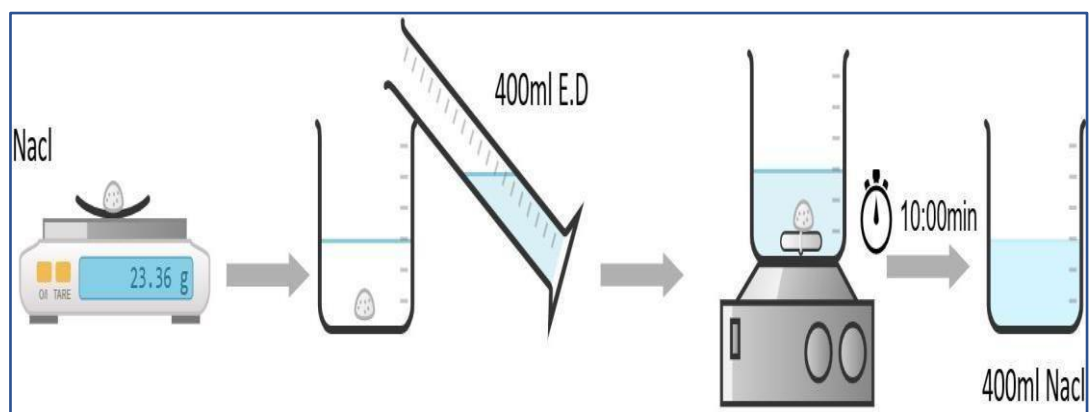


Figure : Préparation de la solution de NaCl

Annexe 08

LE BLEU COTON

Le colorant utilisé pour la mise en évidence des structures fongiques est le bleu coton, préparé selon le protocole EGRAF. La première étape consiste à dissoudre 1 g de bleu d'aniline dans 50 mL d'eau distillée pour obtenir une solution mère. Parallèlement, une solution lactophénol-glycérol est préparée en faisant fondre doucement 10 g de phénol cristallisé au bain-marie (à 50 °C), puis en y ajoutant successivement 10 mL de glycérol, 50 mL d'acide lactique. Une fois homogénéisée, cette solution est mélangée à 10 mL de la solution de bleu d'aniline. Le mélange obtenu est conservé dans un flacon en verre ambré, protégé de la lumière par un recouvrement en aluminium. Ce colorant, fortement utilisé en microscopie mycologique, permet une meilleure visualisation des parois cellulaires des champignons grâce à son affinité tinctoriale particulière.

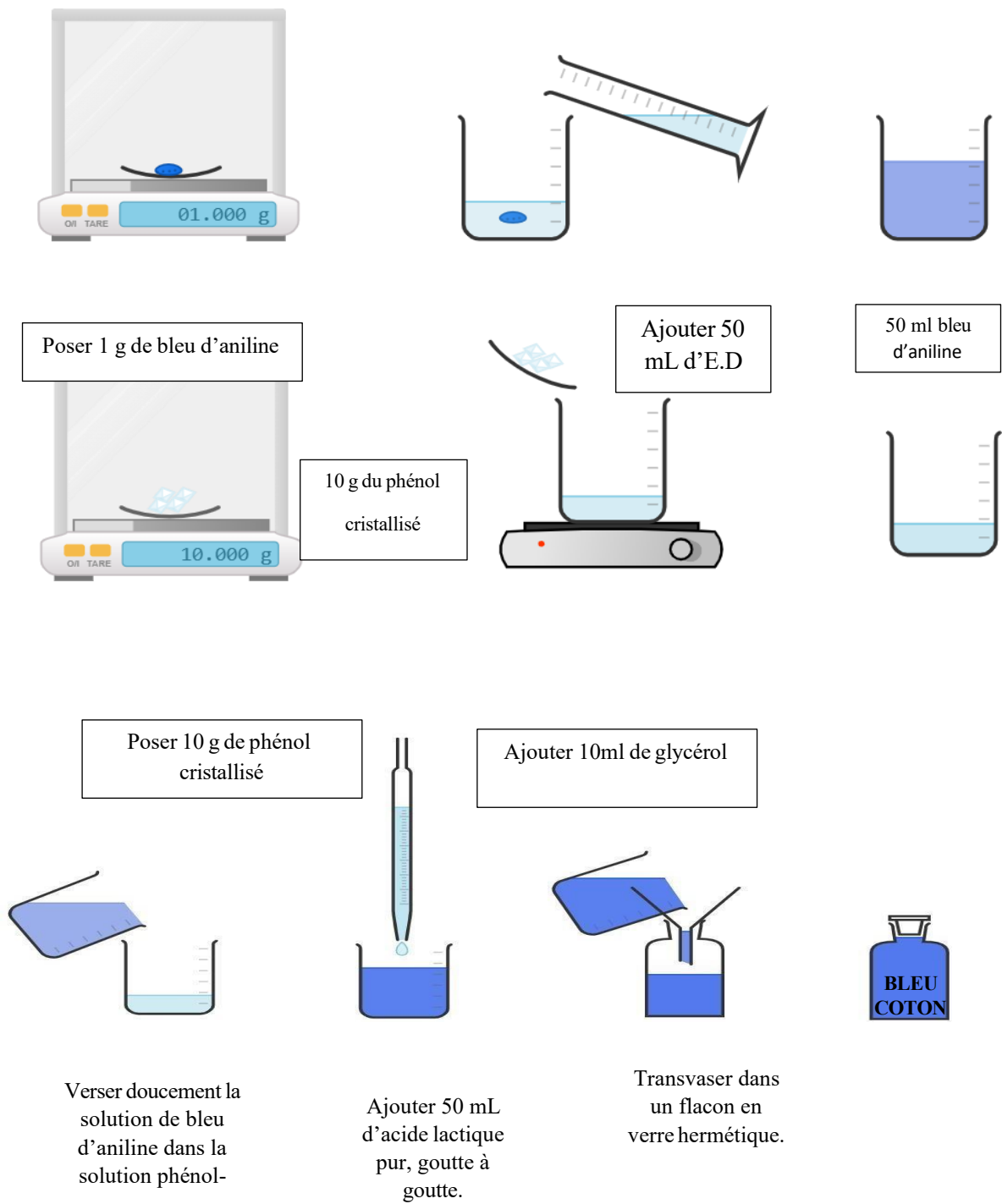


Figure : Schéma de préparation du colorant Bleu coton.

