

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Agro-alimentaire

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master
en :

Spécialité: Nutrition et Diététique Humaine

Filière: Sciences Alimentaires

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Thème

*Isolement et caractérisation morphologique de *Fusarium oxysporum* f. sp. Ciceris à partir de cultures de pois chiche et effet antagoniste de quelques souches d'actinobactéries.*

Présenté par :

Maouchi Marwa

Ladjedje fatima zouhra

Devant le jury composé de:

Mme. Boulkour S.	MCB	U.S.D., Blida	Présidente
Mme. Ben Mansour N.	MCB	U.S.D., Blida	Examinatrice
Mme. Merrouche R.	MCA	E.N.S., Kouba, Alger	Promotrice

Année universitaire: 2019-2020



REMERCIEMENTS

Je tien d'abord à remercier dieu le tout puissant de m'avoir donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je tien à remercier notre chef de département le Professeur MEGATLI SMAIN pour son énorme soutien. J'adresse aussi mes remerciements à Mr le doyen BNE RIMA ATIKA pour son soutien.

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de Biologie des systèmes Microbiens (LBSM) de l'Ecole Normal Supérieure de Kouba (Alger) dirigé par le professeur Zitouni Abdelghani, Nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude pour nous avoir donné la chance de réaliser ce travail au sein du laboratoire.

Nous tenons tout d'abord à remercier infiniment Dr. Merrouche Rabiaa, Maitre de Conférence A, et directrice de mémoire, pour nous avoir dirigé dans ce travail, pour la qualité de son encadrement et ses fructueux conseils, pour son extrême gentillesse, sa simplicité, sa disponibilité, son aide et son accueil, toujours aussi agréable, qu'elle accepte le témoignage de notre profonde gratitude .

Nous tenons également à remercier Mlle Yousfi Kheira, Maitre Assistante à l'ENS de Kouba, pour sa grande contribution à ce travail de recherche, pour son aide précieuse, pour son soutien et sa gentillesse.

Nous souhaitons également remercier Dr. Boulkour S. Maitre de Conférence B à l'université de Saad – Dahlab, Blida, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury et pour nous avoir recommandé le SBSM de l'ENS de Kouba afin d'y réaliser notre mémoire.

Nous adressons nos remerciements à Dr. Ben Mansour N., qui a accepté d'examiner notre travail.

Nous exprimons également nos remerciements et notre reconnaissance à tous nos enseignants, du primaire à l'université.

Enfin, je tien également à remercier tout les personne qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A tout, Merci.



Dédicaces

Je remercie, tout d'abord, dieu tout puissant, pour avoir guidé mes pas vers un avenir prometteur inchaallah, où le travail, la persévérance et la quête du savoir seront ma devise.

Je dédie affectueusement ce travail :

A mes chers Parents. Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude qui je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices qui vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être. Que Dieu le tout-Puissant vous garde et vous procure la santé, le bonheur infini et une longue vie pour que vous demeuriez le flambeau illuminant pour nous.

Mes chères sœurs: Asma, Somiya, ainsi que leur marie Tarke, Farid, et leurs enfants: Adem, Mahedi et Aya.

A mon chère frère Mohmed sa femme Meriem

A Mme Merrouche R. pour sa patience, sa générosité et son énorme contribution. C'est grâce à vous madame qu'on a pu accomplir ce travail. J'avais l'honneur de vous reconnaître et travailler avec vous madame.

A ma binôme ZAHRA ainsi qu'à toute sa famille.

Mes adorables amies: Fadia, Nessrin et Raouf.

À toute la promotion de nutrition.

À toute ma famille proche et loin.

A tous ceux qui ont participé de près ou le loin à la réalisation de ce travail.

Enfin, à tous ceux qui m'ont donné le sourire et m'ont souhaité la bonne continuité.

Marwa.





Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes chers parents

Ma chère mère

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

Mon cher père

Ma source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié

Pour ma réussite.

A mes frères Amine, Salime, Adem et Sidahmed

A mes sœurs Asma, Ikrame, Imen et Soumia

La joie de ma vie

A mon binôme Marwa

Merci pour ton soutien et d'être une bonne amie.

*A toutes les personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui
étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant
mon chemin d'études supérieures : mes aimables amis, collègues
d'études et toute personne ayant contribué à la réalisation de ce
travail.*

zahra



Sommaire

INTRODUCTION	1
---------------------------	----------

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUES.

I. Plante hôte: Pois chiche.....	03
1. Origine	03
Origine géographique	03
1.2. Origine génétique.....	03
2. Taxonomie	04
3. Caractéristiques botaniques	04
4. Cycle de développement.....	06
5. Propriétés et bienfaits nutritionnels	06
6. Importance écologique et agronomique.....	07
7. Situation économique de la culture en Algérie.....	08
8. Contrainte phytosanitaire.....	09
Les maladies cryptogamiques.....	09
Insectes ravageurs	11
Les nématodes.....	11
II. Agent pathogène: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	12
1. Généralité sur le genre <i>Fusarium</i>	12
2. Complexe d'espèces de <i>Fusarium oxysporum</i>	13
3. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	13
Incidence et symptomologie	14
Distribution du <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	15
La reproduction chez le FOC... ..	15
Pathogénèse	15
Lutte contre le FOC.....	16
Pratiques culturales	16

Lutte chimique	16
Lutte biologique	17
III. Agent de biocontrôle: Actinobactéries.....	18
1. Généralités sur les actinobactéries	18
2. Taxonomie des actinobactéries	20
3. Ecologie des actinobactéries	22
Distribution dans l'environnement	23
Distribution dans les sols sahariens algériens	23
4. Importance des actinobactéries	23
4.1. En biotechnologie	23
4.2 En agronomie	24

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I. Objectif du travail	26
II. Isolement et purification de l'agent pathogène	26
1. Matériel végétal	26
2. Isolement.....	27
3. purification.....	28
4. Culture monospore.....	28
III. Identification morphologique de l'agent pathogène	29
1. Identification macroscopique.....	29
2. Identification microscopique	30
IV. Effet antagonistes de quelques souches d'actinobactéries contre les isolats de l'agent pathogène.....	31
1. Souches d'actinobactéries.....	31
2. microorganismes-cibles	33
3. Test d'antagonisme par la méthode des cylindres d'agar.....	33

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats	35
1. L'identification des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i> (FOC).....	35
L'isolement	35

La culture monospore	35
Etude macroscopique	36
Etude microscopique	39
2. Evaluation du potentiel antifongique.....	43
II. Discussion	45
Conclusion et perspectives	47
Références bibliographiques.....	49
Annexes	69

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Morphologie de la plante du pois chiche <i>Cicer arietinum</i> L	5
Figure 2. Evolution des superficies et des productions du pois chiche en Algérie	9
Figure 3. Symptômes du flétrissement du pois chiche : A, sur plant entier ; B, sur coupe longitudinale de la tige.....	11
Figure 4. Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries mycéliennes sporulantes	20
Figure 5. Représentation schématique de la micromorphologie de quelques genres d'actinobactéries	21
Figure 6. Différentes applications biotechnologiques des actinobactéries	25
Figure 7. Les symptômes de la fusariose vasculaire du pois chiche. A: syndrome de flétrissement, B; syndrome de jaunissement.....	26
Figure 8. Isolement et purification des isolats de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>ciceris</i>	27
Figure 9. La culture monospore	29
Figure 10. Mise en évidence de l'activité antagoniste antifongique des souches d'actinobactéries par la méthode des cylindres d'agar... ..	34
Figure 11. La monospore en germination	35
Figure 12. La culture pure à partir de 2 monospores	36
Figure 13. La variabilité morphologique des six isolats de FOC sur milieu PDA.....	38
Figure 14. Taux de croissance des six isolats de FOC	39
Figure 15. Les différentes structures observées chez les six isolats de FOC	42
Figure 16. La forme de spores observées chez les six isolats de FOC.....	43
Figure 17. Spectre d'activité antifongique des actinobactéries Contre les champignons cibles, sur milieu ISP2.....	44
Figure 18. Activité antifongique de la souche Ac51 sur milieu PDA semi solide par la méthode des disques d'agar, contre les isolats du FOC	44

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Valeur nutritive du pois chiche.....	7
Tableau 2. Les souches d'actinobactéries utilisées pour évaluer leurs propriétés antagoniste	32
Tableau 3. Caractérisation macromorphologique des six isolats de FOC... ..	37
Tableau 4. Caractérisation micromorphologique des six isolats de FOC	41

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARNr16S : Acide Ribonucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S

Ac : Actinobactérie

C/N : Carbone sur l'azote

CLA : Carnation Leaf-Piece Agar

ENS : Ecole Normal Supérieure

F: *Fusarium*

FOP: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*

FOC: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

f. sp. : Forma specialis

G + C: Guanine + Cytosine

I.T.G.C: Institut Technique des
Grande Culture

ISP2: International *Streptomyces* Project 2

LBSM: Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens

PCNB: Peptone Pentachloronitrobenzene

PH: Potentiel d'hydrogène

PDA: Potato dextrose agar

SNA: Spezieller Nährstoffarmer Agar

Spp: Plusieurs espèces

Résumé

L'étude que nous avons effectuée porte l'isolement et l'identification morphologique de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), agent causale de la fusariose vasculaire du pois chiche, ainsi que l'évaluation du potentiel antagoniste d'une collection d'actinobactéries d'origine saharienne.

L'échantillonnage des plantes de pois chiche symptomatique a été effectué au niveau de trois wilayas (Tlemcen, Ain Temouchent, Chleff). L'isolement de FOC, a été effectué sur la base des symptômes typiques de la maladie observés. Douze isolats ont été prélevés à partir des plants de pois chiche issus des trois wilayas. La culture monospore a permis de purifier 6 isolat, dont 3 appartiennent à la wilaya de Chleff (notés: FPW3, FPY2 et FPY4), 2 à la wilaya de Ain Temouchent (notés: FPW1 et PFW5) et un isolat appartient à la wilaya de Tlemcen (noté: FPW6).

L'étude macromorphologique a montré des différences remarquables entre les 6 isolats. Le mycélium peut être clairsemé et dispersé ou floconneux avec une couleur blanche, beige pale ou allons vers le rose. La croissance mycélienne pour tous les isolats a montré un diamètre de colonies compris entre 29,4 mm et 41 mm (après 3 jours d'incubation).

L'étude microscopique a révélé la présence de 3 types de spores; les macroconidies avec une faible variabilité entre les 6 isolats (libres ou porté par les conidiophores, avec une taille comprise entre 15 à 18 μm), les microconidies avec une variabilité importante par rapport à leur taille (3-6 μm ou 8-10 μ) et leur forme (ovoïde, cylindrique non septé et falciforme à une cloison ou 2 cloisons), les chlamydospores intercalaires ou terminales avec une coloration généralement claire.

L'évaluation du potentiel antifongique a montré que parmi les 88 souches d'actinobactéries testés, 19 souches ont donnés des activités antifongiques moyennes à fortes. Au totales parmi les 19 souches actives 57,89 % apparentés au genre *Streptomyces*, 26,31 % sont des *Saccharothrix* et 15,78 % sont apparentés aux autres genres.

Mots clés: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), flétrissement vasculaire, pois chiche, actinobactéries, caractérisation morphologique, activité antifongique.

Abstract

The present study was performed to isolate and characterize the pathogenic *F. oxysporum* f.sp. *ciceris* (FOC) as the causal agent of fusarium wilt of chickpea in Algeria and determined the in vitro antagonistic potential of 88 strains of actinobacteria against FOC isolats.

The symptomatic plants were collected from fields localized in three towns (Ain Temouchent, Chleff and Tlemcen). The fungi was isolated from damaged stem parts and purified using monospore culture in PPA and PDA media respectively. The Six isolats obtained from the monospore (FPW3, FPY2 et FPY4, FPW1, PFW5 and FPW6) are objected for the morpholgical study growth pattern and antagonist test.

The fungal species produced floccose or sparse aerial mycelia and range in color from white to pale violet accompanying with orange, dark violet or brown pigments on PDA. The purified colony of *F. oxysporum* ranged diameter of 29,4 - 41 mm PDA medium at third day of inoculation.

This identification was further confirmed by Microcopy. Microscopic observation of isolates shows that its conidiophores are unbranched and monophialides, its microconidia have oval-ellipsoidal shape with no septate (3-6 μm) or slightly curved shape with one septate rarely tow septate (8-10 μm). Its macroconidia are of 15-18 μm sizes and are falcate to almost straight with 3-5 septate.

Among 88 strains, we recovered 19 strains that proved active against the most of the 6 *Fusarium* isolats obtained from the monospore culture. Among of 19 strains; 57,89 % belong to *Streptomyces* genus and 26,31 % belong to *Saccharothrix* genus while 15,78 % are related to other genera.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), Wilt Disease, chickpea, actinobacteria, morphologic characterization, antifungal activity.

ملخص

يهدف العمل الذي قُمنَا به إلى العزل ووصف المورفولوجي للعامل المسبب للذبول الوعوي نبي الحمص (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)، وكذلك تقيّم القدرة التضادية لمجموعة من البكتيريا الشعاعية Actinobactéries المعزولة من تربة صح اوية.

تم أخذ عينات من نباتات الحمص التي ظهرت عليه أعراض الذبول الوعوي من ثالث ولوات (تلمسان، عين تموشنت، الشلف). تم عزل نطر النوازوم FOC على أساس الأعرض النموذجية للمرض. وسمحت التقيّم أحادية البوغ monospore بتقيّم 6 عزلت، 3 منها تنتمي إلى ولوة شلف (FPW3 و FPY2 و FPY4)، 2 إلى ولوة عين تموشنت (FPW1 و PFW5) و واحدة تنتمي إلى ولوة تلمسان (FPW6).

أظهرت الدابة الماكرومورفولوجية macromorphologique أن هناك اختلافات ملحوظة بين العزلت الست. قد يكون الميسليوم منزائياً أو وطنياً بلون أبيض أو أبيض شاحب أو وردي. كما أظهر النمو النظري لحميع العزلت أن قطر المسنعة يتراوح بين 2..2 مم و 24 مم (بعد 3 أيام من الحضارة).

كشنت الدابة المجهرية لنطر النوازوم عن وجود 3 أنواع من الأبواغ الماكروكونيديا macroconidia التي أظهرت نباتياً منخضراً بين 6 عزلت (حررة أو محمولة بوسطة حامل الأبواغ conidiophores، بحجم يتراوح بين 41 إلى 41 ميكرومتر)، ميكروكونيديا microconidies مع نباتين كبيرين يتغلق بحجمها 6- ميكرومتر أو 1-41 (3 ميكرومتر) (وشكلها) بيضاوي أسطولي بدون حواجز أو شكل جناحي مع حاجز واحد أو حاجزين، الكامبوسبور chlamydospores الطرية أو البيضة ولدي تنلون بوضوح بشكل عام.

أظهر تقيّم القدرة المضادة للنطريات أنه من بين 11 سالة من البكتيريا الشعاعية المخيرة أعطت 4 سالة أنشطة مضادة للنطريات متوسطة إلى قوية. في المجموعة نانه، من بين 4 سالة نشطة: 18.1% مرتبطة بالجنس *Streptomyces*، 26.31% من *Saccharothrix* و 41.81% مرتبطة بأجناس أخرى

الكلمات المفتاحية: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)، الذبول الوعوي، الحمص، البكتيريا الشعاعية، الوصف المورفولوجي، النشاط المضاد للنطريات.

INTRODUCTION
GENERALE

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), est parmi les légumineuses alimentaires les plus consommées dans le monde et en Algérie, elle occupe la troisième position après la le petit pois et le haricot (Fao, 2019). Le pois chiche est considéré parmi les aliments de base pour une large couche de la population algérienne, il constitue une importante source en carbohydrates et en protéines, ainsi, la consommation des graines de pois chiche fournit au consommateur environ 14,9 à 24, 6% de protéine (kumar, 2018). Ces graines de valeur alimentaire riche sont introduites dans plusieurs plats algériens notamment le couscous (abdelgherfi et al., 2001).

Les cultures des légumineuses alimentaires et en particulier le pois chiche, sont favorisées en rotation avec les céréales grâce à leur capacité symbiotique qui permet la fixation d'azote et la réduction des coûts de production par l'économisassions des engrais (Bacha et al., 2003; Khan et al., 2009).

En Algérie, malgré la forte augmentation des emblavures de la culture du pois chiche, les rendements sont restés très faibles. Ils ne dépassent guère les quatre quintaux à l'hectare. Cette faible production est due à une pluviométrie faible et irrégulièrement répartie dans le temps et dans l'espace (abdelgherfi et al., 2001). A cela, s'ajoutent la prolifération des mauvaises herbes et les contraintes biologiques. Quant aux contraintes biologiques, l'antracnose causée par *Ascochyta rabei*, la pourriture racinaire causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* et le flétrissement vasculaire causé par *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* sont les maladies les plus répandues (Rekha et Thiruvengadam, 2009).

Fusarium oxysporum f. sp. *ciceris*, est un champignon tellurique qui infecte spécifiquement le pois chiche et cause des pertes de rendement estimé entre 10 et 15 %. Ces pertes, pourrait être plus élevées selon la virulence et l'agressivité du pathogène. La maladie a été signalé initialement en inde et par la suite dans de nombreux pays (Westerlund et al., 1974; Nene, 1979; Allen, 1983). La bonne reconnaissance de l'agent pathogène est une étape primordiale dans le programme de lutte contre l'agent pathogène.

Selon Michielse et Rep (2009), l'utilisation de variétés résistantes est la meilleure mesure pratiquée pour lutter contre la maladie sur le terrain. Cependant cette solution est limitée en raison des caractéristiques agronomiques indésirables des cultivars résistants, ainsi que la forte variabilité pathogène de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* qui peut limiter l'efficacité de la résistance (Jiménez-Díaz et al., 1993). Dans les serres, la

stérilisation du sol peut être effectuée (**Michielse et Rep, 2009**).

Le phylum *Actinobacteria*, affilié au domaine des *Bacteria*, est nouvellement décrit dans le Manuel de Systématique de Bergey publié en 2012. Il est défini comme rassemblant les bactéries à Gram positif possédant un pourcentage élevé de guanine et de cytosine (G + C) (supérieur à 55%) et qui sont réparties actuellement en 221 genres appartenant à 50 familles taxonomiques différentes (Manuel de Bergey, 2012).

L'exploitation du potentiel microbien du sol est devenue un moyen inévitable dans le programme de lutte contre les agents pathogènes et dans la biofertilisation. Certaines bactéries peuvent coloniser différentes niches écologiques telle que la rhizosphère et même les tissus de la plante (bactéries endophytes) et ont pu diminuer le pouvoir pathogène et promouvoir la croissance des plantes (**Hartmann, 2005**). Ces bactéries font l'objet des travaux de recherche, à fin de les transformer en produits commercialisés qui remplacent les pesticides chimiques. Les actinobactéries font partie de cette communauté bénéfique. Elles présentent plusieurs mécanismes de lutte biologique et de promotion de la croissance des plantes (**Goudjal et al., 2014; Zammoum et al., 2016**). Afin d'exploiter ce potentiel dans l'agriculture durable, certaines bactéries actinomycétales, isolées du sol ou de la rhizosphère, sont formulées et commercialisées en tant que biopesticides à usage agronomique sous différents noms tels que Actinovate®, Actino-iron® et Mycostop® (**Strap, 2011**).

L'objectif de la présente étude est la caractérisation morphologique des isolats de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*, et le test du potentiel antifongique des souches d'actinobactéries contre le même pathogène. Pour cela nous avons suivi les démarches suivantes:

- L'isolement de l'agent pathogène à partir de plants de pois chiche symptomatique.
- La purification du champignon.
- La caractérisation macroscopiques, microscopiques et l'évaluation de la croissance du champignon.
- Enfin, le test de l'activité antifongique des actinobactéries contre les isolats de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*.

CHAPITRE I
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Plante hôte: Pois chiche

1. Origine

Origine géographique

Cicer arietinum est composé du terme latin « Cicer », dérivé du mot grec «Kikus = solide», et le terme latin «arietinum» traduit du mot «Krios», une allusion de la forme des graines qui ressemblent à la tête de bélier (**Van Der Maesen, 1987; Singh et Diwakar, 1995**).

D'après les études archéobotaniques, *Cicer arietinum* L. communément appelé «Pois chiche» est l'une des premières légumineuses alimentaires à avoir été domestiquée par l'homme à travers les civilisations (**Zine-Zikara et al., 2015**). Les premières traces d'utilisation du pois chiche comme aliment remontent à environ 7000 ans (**Van Der Maesen, 1987**).

L'aire de distribution du *Cicer arietinum*, se situe approximativement au sud-est de la Turquie et ses frontières avec l'Iran et l'ex-URSS (Union des républiques socialistes soviétiques) (**Ladizinski, 1975**). Cette culture a réussi à conquérir plusieurs régions du monde dont la partie septentrionale de l'Afrique. Ainsi l'Afrique du nord constitue un centre de diversité important pour cette espèce (**Zine -Zikara et al., 2015**). En Algérie, la culture de pois chiche était pratiquée bien avant le colonialisme (1830) (**Laumont et Chevassus, 1956; Labdi, 1990**). En 1956, Ducellier a donné des indications très intéressantes sur la large gamme de pois chiches cultivées en Algérie (**Laumont et Chevassus, 1956**).

Origine génétique

Davis (1969) et Ladizinsky (1975) ont découvert deux espèces sauvages au Sud Est de la Turquie, dénommées respectivement *Cicer echinospernum* Davis et *Cicer reticulatum* Ladiz. Ces deux espèces ont des caractères morphologiques en commun avec l'espèce cultivé *Cicer arietinum* L., en addition, *Cicer reticulatum* Ladiz (2n=16) a été identifié comme étant l'espèce ancestrale du pois chiche cultivé. Ces résultats ont été démontrés par l'analyse des profils électrophorétiques des protéines et des enzymes. En Algérie, le pois chiche est caractérisé par un potentiel de variabilité génétique (Laumont et Chevassus, 1965). D'après **Sadiki et Halila (1997)**, le pois chiche a développé une large diversité et une forte adaptation aux conditions du climat méditerranéen.

2. Taxonomie

Le pois chiche appartient à la famille des Fabaceae, qui compte plus que 700 genres et 1800 espèces. Ce genre comporte 44 espèces dont neuf espèces sont annuelles et 35 sont des espèces pérennes (**Yadav et al., 2007**). L'ensemble sont divisées en quatre sections: Monocicer, Chamacicer, Polycicer et Acanthocicer (**Van Der Maesen, 1987**).

L'ordre de la classification du pois chiche est cité au-dessous (**Yadav et al., 2007**):

Règne	Plantae
Section	Monocicer
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales
Ordre	Rosales
Famille	Fabaceae
Sous-famille	Papilionaceae
Genre	<i>Cicer</i>
Espèce	<i>Cicer arietinum</i> L.

3. Caractéristiques botaniques

Le pois chiche est une espèce herbacée, annuelle, autogame, qui présente moins de 1% d'hybridation naturelle (**Singh et Reddy, 1991**).

Le système racinaire pivotant est vigoureux, il peut atteindre jusqu'au 2,0 m de profondeur, et porte des racines latérales secondaires, tertiaires et quaternaires (**Cubero, 1987**). Cette architecture permet aux racines d'explorer un volume maximal du sol et confère à la plante une tolérance à la sécheresse (**Slama, 1998**). En ajoute, les nodules développés sur les racines, permettent la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Ce processus qui atteint son optimum à la floraison, couvre 80% des besoins de la plante en azote assimilable (**Bouzerzour, 1998**). En revanche, dans les zones humides, les sols salins, lourds, stagnants et à réchauffement lent au printemps, les racines ont un développement limité et la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique est réduite (**Jaiswal et Singh, 2001**).

La tige est dressée, ramifiée, visqueuse, velue, cylindrique, herbacée, verte et solide. Les branches sont généralement quadrangulaires, côtelées. On distingue des ranches primaires, secondaires et tertiaires (**Cubero, 1987**).

Les feuilles ont la forme imparipennée et sont composées de 7 à 15 folioles ovales et dentelées, sans vrilles, en position alternée sur un rachis (**Saxena, 1984**). Les faces inférieures des feuilles sont couvertes par un duvet formé de poils unis ou pluricellulaires,

Ces poils renferment des glandes qui synthétisent des acides organiques tels que l'acide oxalique (Slama, 1998).

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

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

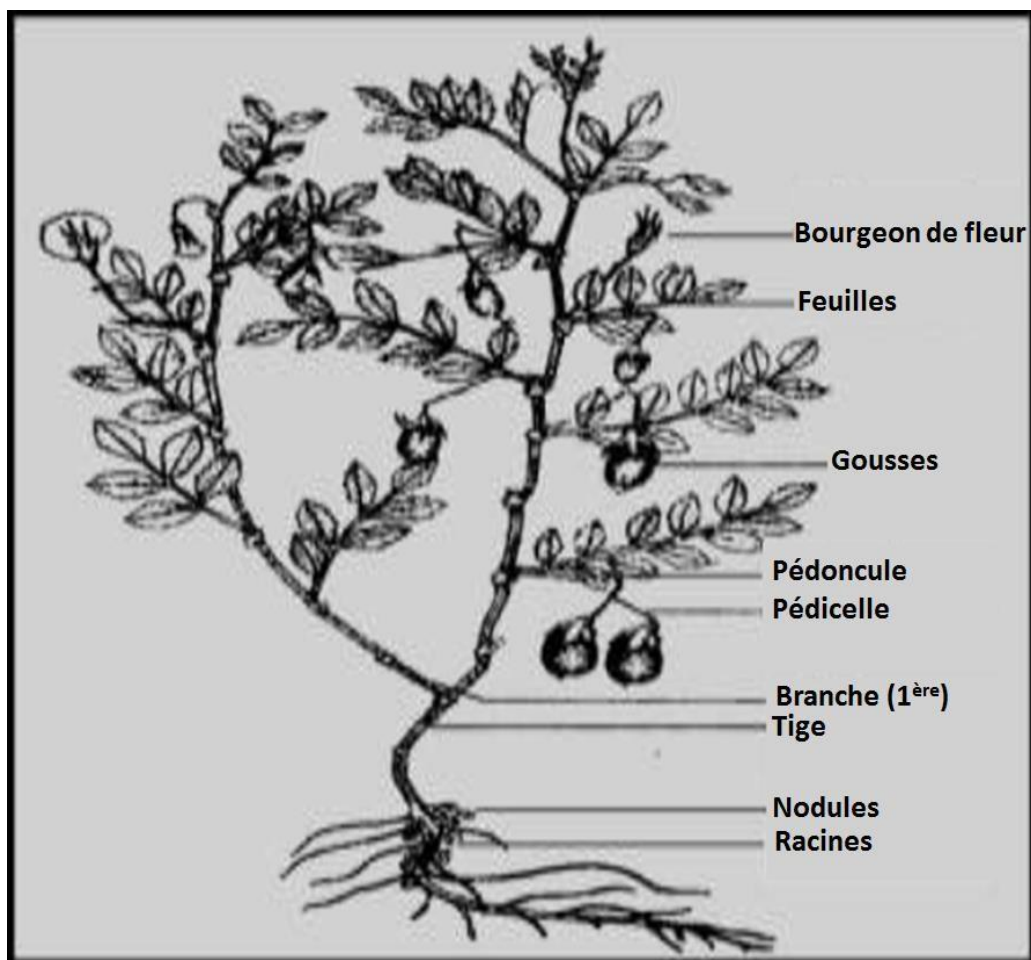


Figure 1. Morphologie de la plante du pois chiche *Cicer arietinum* L. (Singh et Diwakar, 1995).

4. Cycle de développement

Dans le bassin méditerranéen, le pois chiche est considéré comme une culture de printemps. En général, la plante se développe vigoureusement et complète son cycle évolutif en 4 mois (**Bryssine, 1955**). La longueur du cycle du pois chiche dépend de la chaleur et de l'humidité disponible dans le sol. La récolte peut avoir lieu si l'humidité des grains est de l'ordre de 18% (**Jaiswal et Singh, 2001**).

Le cycle de développement du pois chiche comprend deux périodes bien distinctes:

- **Période végétative:**

Cette période s'étend de la germination jusqu'à la ramification (**I.T.G.C., 2003**). La germination est hypogée (**Sassene, 1989**), suivi par la levée et l'apparition des feuilles cotylédonaire, l'élongation des entre-noeuds et enfin la ramification de la tige principale (**Kechache, 2005**).

- **Période reproductrice:**

Cette période est marquée par l'apparition et le développement des ébauches florales suivi par un effectif élevé en fleurs et un rendement en gousses appréciable (**Singh et Jauhar, 2005**). Enfin la maturation est caractérisée par un jaunissement des gousses accompagné d'une chute des folioles et d'un durcissement des graines (**Kheloufi, 2006**).

5. Propriétés et bienfaits nutritionnels

Il est conseillé d'introduire le pois chiche dans le régime alimentaire quotidien en raison de sa richesse en nutriments essentiels tels que les protéines, les glucides, le fer, l'acide folique, le phosphore et les fibres alimentaires. La teneur en protéines varie considérablement en pourcentage de la masse totale de graines sèches avant (17–22%) et après (25,3–28,9%) décorticage (**Kumar et al, 2018**). Les graines contiennent également des glucides, des lipides, des fibres alimentaires. En addition, la teneur en minéraux est estimé comme suit: le phosphore, calcium, magnésium, fer et du zinc (**Pratap et Kumar, 2011**).

Le pois chiche est aussi une source importante de vitamines (A, B1, B2, B3, B5, B6, B12, C, D, E, K et biotine). Il est évident que ces vitamines sont primordiales pour les fonctions vitales. En prenant l'exemple la biotine, c'est un élément qui représente un cofacteur essentiel aux carboxylases et décarboxylases, enzymes clés de la majorité des cycles métaboliques (**Broughton et al., 2003**).

En revanche, la présence de facteurs antinutritionnels (les tanins, acide phytique, inhibiteur de la trypsine et composés phénoliques) dans les légumineuses limite leur valeur nutritive. Il a été rapporté que la cuisson améliorerait la qualité nutritive par destruction ou inactivation des facteurs antinutritionnels thermolabiles (**Wang et al., 1997; Chau et al., 1997**). La germination améliore également la valeur nutritive des légumineuses en induisant la formation d'enzymes qui éliminent ou réduisent les facteurs antinutritionnels et indigestes dans les légumineuses (**El-Adawy, 2002; Gupta et al. 2017**).

Tableau 1: Valeur nutritive du pois chiche (**Singh et Jauhar, 2005**).

Eléments	Valeur nutritive mg/100g
glucides	62
lipides	2,70-6,48
Fiber alimentaires	18-22
phosphore	343
calcium	186
magnésium	141
fer	7
zinc	3

6. Importance écologique et agronomique

L'insertion des légumineuses dans les systèmes de cultures est une alternative très intéressante aussi bien pour la durabilité des exploitations agricoles que pour la préservation des différents compartiments de l'environnement. Les légumineuses ont une énorme importance dans la fixation biologique de l'azote (**Costalima, 2015**).

Le pois chiche, par exemple, est capable de couvrir 80% de ses besoins de nitrogène grâce à la relation symbiotique avec *Mesorhizobium ciceri* (**Esfahani et al., 2014**). En effet, la culture pourrait fixer plus de 140 kg N/ha (**Singh et Jauhar, 2005**). Ces résultats encouragent la pratique des légumineuses en rotation avec les céréales (**Gupta et al., 2014**).

L'introduction de légumineuses au sein d'une succession culturale ou en association dans les prairies génère plusieurs effets positifs sur l'environnement, à commencer par une réduction des émissions de gaz à effet de serre. Ces plantes, capables de capter l'azote de l'air et apportant de la diversité végétale, favorisent les économies d'intrants à l'échelle des rotations : principalement des engrais azotés, mais aussi des produits phytosanitaires (**Ademe, 2015**).

Les légumineuses ont un rapport C/N faible (23.4 pour le pois chiche), par conséquent, une vitesse de décomposition rapide se traduisant par une libération très rapide de l'azote (**Aita et Giacomini, 2003; Costalima, 2015**) affirme que les résidus issus des cultures des légumineuses, dont le pois chiche fait partie de cette expérimentation, induisent une fourniture nette de l'azote, représentant 3 à 14 % de l'azote apporté à 56 jours d'incubation, et concluant que la dynamique de l'azote obtenue après incorporation des résidus de légumineuses est de même nature que celle obtenue pour d'autres résidus de culture et que les quantités d'azote minéralisées sont fortement reliées au rapport C/N des résidus.

En outre, nos sols algériens sont caractérisés par un taux élevé de calcaire. Cet élément augmente le pH du sol et provoque des liaisons covalentes entre le Ca^{+2} et le phosphore (P) (**Tunesi et al., 1999**). Par conséquent, la plante est incapable de bénéficier du P adsorbé. Malgré la nécessité du phosphore notamment pour la fixation symbiotique, le pois chiche est cultivé dans les sols pauvres en P. cela pourrait être expliqué à la sécrétion des exsudats racinaires (protons, acides organiques des phosphatases) lors de la déficience en P qui implique à la solubilisation de la fraction immobile (P adsorbé ou P organique) et à l'augmentation de sa biodisponibilité (**Neumann et Römheld, 1999**). La rhizosphère du pois chiche est aussi riche en microorganismes qui contribuent à la solubilisation du P, les rhizobia (**Lazali et al., 2014**), *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Empedobacter*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Ralstonia* sont prouvés leur capacité à améliorer la nutrition minérale (**Mulissa et al., 2015**).

7. Situation économique de la culture en Algérie

En Algérie, 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 2**) (**DSASI, 2017**).

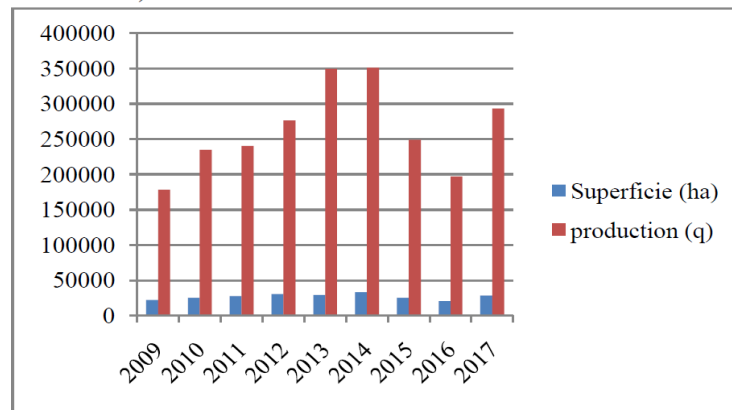


Figure 2. Evolution des superficies et des productions du pois chiche en Algérie.

L'Algérie est contrainte d'importer annuellement des quantités importantes de pois chiche pour faire face aux besoins sans cesse croissants. L'accroissement des superficies et l'amélioration des rendements permettront une diminution de ces importations. En effet, l'introduction de cette culture dans la rotation permettra aux agriculteurs d'augmenter leurs revenus par la diminution des superficies en jachère, notamment dans les zones potentielles où la pluviométrie annuelle est située entre 450 et 600 mm, ainsi qu'une économie dans les amendements en engrais azotés utilisés dans la culture des céréales (DSASI, 2017).

8. Contrainte phytosanitaire

Les maladies cryptogamiques

Plusieurs maladies bactériennes, fongiques et virales ont été rapportées sur le pois chiche, dont certaines sont économiquement importantes par rapport aux nombreux dégâts qu'elles entraînent. Parmi ces maladies, nous pouvons citer, l'anthracnose, la pourriture racinaire et le flétrissement (Rekha et Thiruvengadam, 2009).

- **L'anthracnose**

L'agent causal de cette maladie est *Ascochyta rabei*. Elle est transmise par les semences et persiste jusqu'à 2 ans dans les résidus de récolte. L'infection provoque des taches brunes, circulaires sur les feuilles et les gousses et allongées sur les tiges (Khan et al. 1999).

- **La pourriture racinaire**

Deux types de pourriture racinaire sont distingués, noire et sèche. La pourriture noire est causée par le *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Cette maladie, se caractérise par une pourriture noire des organes souterrains et un jaunissement des organes aériens (Alvarez et Briner, 1987). Cependant, la pourriture sèche est causée par les espèces pathogènes

appartenant au genre *Rhizoctonia* spp. Cette maladie débute par un dessèchement brusque de la plante, qui évolue du bas vers le haut, les racines se dessèchent et deviennent fragiles et les feuilles prennent une couleur jaune pâle (**Rouibah, 1989**).

- **Le flétrissement**

Le flétrissement est causé par un groupe de champignons phytopathogènes notamment, *Rhizoctonia bataticola*, *R. solani*, *Fusarium solani* et *F. oxysporum* f.sp. *ciceri* (**Grewal, 1982; Fahim, 1987; Labdi, 1990**).

Les symptômes du flétrissement vasculaire du pois chiche causé par *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (appelé également fusariose vasculaire) peuvent se manifester à deux stades de développement de la culture du pois chiche. Le flétrissement précoce commence à apparaître de trois semaines jusqu'à 25 jours après le semis (**Haware et al., 1996; Raju et al., 2008; Shah et al., 2009**), tandis que le flétrissement tardif appelé aussi jaunissement vasculaire se manifeste au stade de remplissage de gousses (**Navas-Cortés et al., 1998; Pande et al., 2007**). Le flétrissement tardif cause moins de perte que le flétrissement précoce (**Pande et al., 2007**) (**Figure 3**).

Le flétrissement vasculaire du pois chiche est répandu presque dans toutes les régions de culture de cette plante. Il peut être parmi les facteurs majeurs limitant la productivité du pois chiche, et provoquant des pertes de rendement qui peuvent atteindre les 100%. Il est surtout présent dans les sols lourds et les sols mal drainés des terres de basse altitude (**Haware et al., 1996; Landa et al., 2004**).



Figure 3. Symptômes du flétrissement du pois chiche : A, sur plant entier ; B, sur coupe longitudinale de la tige (**Cunnington, 2009**).

Insectes ravageurs

Les insectes sont des facteurs limitants pour la production des légumineuses. En effet, cette limitation pourrait être effectuée soit directement par la nutrition sur les organes différents de la plante, ou indirectement par les sécrétions sucrées qui attire les champignons ou un vecteur biologique virales (**Huignard et al. 2011**).

Helicoverpa armigera est très nuisible pour le pois chiche. L'insecte se nourrit de feuillage, de fleurs et de graines en développement. Une seule larve pourrait endommager plusieurs gousses et le jeune feuillage de pois chiche par jour, entraînant des pertes graves du rendement (**Singh et Yadav, 2007**).

Les larves de *Bruchidae* creusent des galeries dans des cotylédons utilisant les réserves contenues à ce niveau et rejettent leurs excréments riches en acide urique dans ces galeries. L'adulte émerge en découpant le tégument de la graine au niveau des réserves contenues dans les graines. Les larves modifient donc la qualité des graines, l'accumulation d'acide urique et la présence de fragments de chitine les rendent inconsommables par l'homme (**Merad Boudaia, 2017**).

Les nématodes

L'infection des racines par *Meloidogyne* spp. réduit la croissance et le rendement des plantes. Les sites d'alimentation des nématodes agissent comme des puits d'épuisement des photo assimilés des plantes, ce qui cause une diminution de la croissance et du développement des plantes malades (**Castillo et al., 2003**).

II. Agent pathogène: *Fusarium oxysporum* f sp. *Ciceris*

I. Généralité sur le genre *Fusarium*

Le genre *Fusarium* comprend un grand nombre d'espèces diverses de modes de vie différents. Beaucoup d'entre eux sont des agents pathogènes opportunistes infectant plusieurs espèces végétales, d'autres préfèrent les espèces animales et certains sont toxicogènes qui produisent des mycotoxines variables regroupées sous le terme de fusariotoxines, tels que, les trichothécènes, les fumonisines, la zéaralénone, la moniliformine, etc. (**Sophie, 2015; Stępień et al., 2019**). En outre, Le *Fusarium* est aussi un pathogène émergent chez les patients immunodéprimés (**O'Donnell et al. 2004**) et d'autres mammifères (**Ortoneda et al. 2004**).

Le genre *Fusarium* a été décrit pour la première fois par Link en 1809 sous le nom de

Fusisporium (Wollenweber et Reinking, 1935). Depuis cette date, plus d'un millier d'espèces ont été identifiées, dont 70 sont bien connues (Stepień *et al.*, 2019). Les premières classifications taxonomiques ont été créées à partir des caractères morphologiques des espèces et des croisements tests (Leslie et Summerell, 2006). Plus tard, grâce aux outils génétiques et bio-informatiques, les espèces ont été classées à l'aide d'analyses phylogénétiques (Stepień *et al.*, 2019).

Les *Fusaria* diffèrent aussi concernant l'hôte infecté. *Fusarium graminearum* et *Fusarium verticilloides* sont des pathogènes à gamme d'hôtes étroite infectant principalement les céréales, tandis que *Fusarium oxysporum* a une gamme large d'hôtes et infecte à la fois les monocotylédones et dicotylédones (Armstrong et Armstrong, 1981).

Les espèces de *Fusarium* varient dans la stratégie de reproduction; *F. oxysporum* est asexué, d'autres sont à la fois asexués et sexuels avec soit une autofécondité (homothalisme), soit un croisement obligatoire (hétérothalisme). Les espèces de *Fusarium* produisent des spores méiotiques (sexuelles) et au moins trois types de spores mitotiques (asexuées). Cependant, toutes les espèces de *Fusarium* ne produisent pas tous les types de spores. De plus, moins de 20% des espèces de *Fusarium* se reproduisent sexuellement (Rana *et al.*, 2017).

2. Complexe d'espèces de *Fusarium oxysporum*

On définit, le complexe d'espèces de *Fusarium oxysporum* par l'ensemble d'individus qui appartiennent à l'espèce *Fusarium oxysporum*, dont l'infection est restreinte à une hôte unique. Par conséquent, le complexe est subdivisé en formes spéciales (formae speciales). Le concept de la forme spéciale (forma specialis: f. sp.) a été introduit pour la première fois dans la taxonomie du *Fusarium* par Snyder et Hansen (1940, 1941, 1945) (Leslie et sammurelle, 2006).

Les formes spéciales du complexe *Fusarium oxysporum* (FOSC) ont un poids économique considérable en raison des dégâts engendrés et la distribution géographique large, ils sont extrêmement communs dans divers sols et plantes, provoquant des flétrissures vasculaires, une fonte des semis et des pourritures de la couronne et des racines sur un large éventail d'hôtes économiquement importants (Aoki *et al.* 2014).

Selon Rana *et al.* (2017), l'espèce est capable d'infecter près de 150 hôtes différentes. En référent à la revue publiée par de Hermann et lecomte, (2019), 106 formes spéciales sont largement documentés, 37 autres sont insuffisamment connues et 58 plantes hôtes qui nécessite l'identification.

3. *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*

Fusarium oxysporum f. sp. *Ciceris* (FOC), est la forme spéciale qui infect le pois chiche. Le terme «*ciceris*» se réfèrent au nom du genre. Dans la plus part des cas on distingue entre les différents formes spéciales par l'addition du nom du genre légèrement modifié et terminé par «i» à la suite du nom de l'espèce tel que «*pisi*» pour le petit pois. Dans d'autre cas on réfère au nom de l'espèce comme: «*lycopersici*» pour *Solanum lycopersicum* (tomate), «*tuberosi*» pour *Solanum tuberosum* L. (la pomme de terre) et «*melongenae*» pour *Solanum melongena* L. (aubergine). Ainsi, la variabilité au sein des formes spéciales est déterminée par deux autres concepts, les races physiologiques et les groupes végétatives compatible. Le premier concept se relie à la virulence, alors que le deuxième est en relation avec la reproduction.

Le concept des races physiologiques est mentionné pour *Puccinum graminis* par Takman en 1930. Il est défini comme le biotype ou le groupe de biotypes à ordre inférieur qui pourrait être distingué avec facilité et certitude d'un autre biotype par un caractère physiologique comme la pathogénicité. Les races sont distinguées par rapport au gène de la virulence de l'agent pathogène, par rapport aux gènes de résistance de la plante hôte et parfois par rapport aux symptômes observés sur la plante hôte (**Hermann et lecomte, 2019**).

Chez le FOC la discrimination entre les races est basée sur des réactions d'un ensemble de cultivars différentiels de pois chiche à la maladie (**Haware et Nene 1982 ; Jiménez-Díaz et al., 1993**). Par rapport à cette définition, huit races pathogènes ont été identifiées jusqu'à l'heure actuelle (0, 1A, 1B/C, 2, 3, 4, 5 et 6). Ces races se regroupent en deux pathotypes différents qui sont distingué par les symptômes observés et elles sont signalées dans des régions différentes (**Jiménez-Gasco et al., 2004**).

La compatibilité végétative signifie que deux hyphes peuvent s'anastomoser et fusionner pour former un hétérocaryon stable. On dit que les souches qui peuvent former un hétérocaryon stable sont végétativement compatibles et appartiennent au même groupe de compatibilité végétative (VCG), tandis que celles qui ne peuvent pas former de tels hétérocaryons, sont végétativement incompatibles et sont dans des VCG différents.

Selon **Aoki et al. (2014)**, 125 VCG ont été identifiés parmi les isolats phytopathogènes du FOOSC qui correspondent à plus de 30 formes spéciales. De même, la relation entre les races et le VCG a également été étudiée dans plusieurs FOOSC phytopathogènes. Cette relation est compliquée. En effet, la compatibilité végétative ne peut pas toujours être utilisée pour identifier les races au sein d'une forme spéciale parce

que plus d'une race a été rapportée dans un seul VCG; aussi, des isolats d'une seule race peuvent aussi appartenir à différents VCG (**Rana et al., 2017**). Pour le FOC, malgré le degré élevé de variabilité, une série d'études a montré que tous les isolats du pathogène étudié; quels que soient leur pathotype, leur race et leur origine géographique; sont génétiquement identiques et forme un seule groupe végétative compatible (**Jiménez-Gasco et al., 2004**).

Incidence et symptomologie

Le FOC est un pathogène d'origine tellurique et l'agent causal du flétrissement vasculaire du pois chiche le seule genre cultivé du genre *Cicer*. La maladie est l'un des facteurs les plus limitant de la production mondiale de pois chiches avec l'antracnose causé par *Ascochyta rabei*. En générale le FOCS est classé parmi les «top 10» agents pathogènes d'intérêt économique à cause des dégâts engendré par cette espèce (**Dean et al., 2012**).

Deux pathotypes ont été distingués au sein de FOC basé sur les syndromes distincts de jaunissement ou de flétrissement qu'ils provoquent chez les pois chiches (**Trapero-Casas et Jiménez-Díaz 1985**). Le pathotype jaunissant induit un jaunissement foliaire progressif avec décoloration vasculaire, tandis que le flétrissement induit une chlorose sévère et rapide, une flaccidité et une décoloration vasculaire. Les races 0 et 1B/C induisent des symptômes de jaunissement (pathotype jaunissant), tandis que les races restantes provoquent un flétrissement (pathotype flétrissement) (**Correll, 1991; Jiménez-Gasco et al., 2001; Kelly et al., 1994**).

Distribution du *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*

Les FOCS sont des espèces cosmopolites, répandues partout dans le monde entier, et signalées même dans les sols de la toundra, dont elles existent sous forme de saprophytes et d'endophytes de racines de plantes envahissantes (**Stoner, 1981; Leslie et sammurelle, 2006**).

Quant au FOC les huit races ont une distribution géographique distincte. Les races 0, 1B/C, 5 et 6 se trouvent dans le Bassin méditerranéen et Californie (USA) (**Jiménez-Díaz, 1993; Halila et Strange, 1996; Jiménez-Gasco et al., 2001**). La race 1A a été signalé dans le sous-continent indien (**Brown, 1995**), en Californie et le bassin méditerranéen (**Flor 1971 ; Haware et Nene 1982 ; Haware et al., 1978**), alors que les races 2 et 3 ont été signalée en Éthiopie, en Inde et en Turquie (**Haware et Nene 1982; Dolar, 1997; Shehabu et al., 2008**) et la race 4 n'a été signalée qu'en Éthiopie et en Inde

(**Haware et Nene 1982; Shehabu et al., 2008**).

La connaissance de la répartition géographique des races de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* est essentiel à la gestion de la maladie, car les races individuelles varient dans leur interaction avec les lignées différentielles de pois chiches ainsi que dans la quantité d'inoculum nécessaire pour induire une quantité donnée de maladie chez les pois chiches sensibles (**Navas-Corté, 2000, 2007**).

La reproduction chez le FOC

Le *Fusarium oxysporum* se reproduit de manière asexuée et son état sexuel n'a jamais été observé (**Booth, 1971**). Le champignon produit trois types de spores: chlamydospores, des microconidies et des macroconidies (**Nelson et al. 1983**). Les microconidies sont uninucléées qui germent mal avec une efficacité de germination allant de 1 à 20% (**Ebbole et Sachs, 1990**). Les macroconidies sont multinucléées et germent rapidement. Les chlamydospores résultent de la modification structurelle des hyphes végétatifs ou des cellules conidiales et spores accessoires (**Schippers et van Eck, 1981**). Le *F. oxysporum* est diversifié sur la forme des macroconidies, la structure des microconidiophores, la formation des chlamydospores (**Leslie et Summerell, 2006**).

Pathogénèse

On définit la pathogénèse comme étant le processus complet décrivant le développement de la maladie chez l'hôte, de l'infection initiale à la production des symptômes (**Lucas, 1998**). La pathogénicité est la capacité de pathogénèse (**Rana et al., 2017**).

En l'absence de blessures, la plupart des formes spéciales de *F. oxysporum* peuvent pénétrer dans l'hôte à travers une variété de tissus racinaires, y compris le méristème racinaire, les poils racinaires et différentes zones de la racine et de la graine (**Nelson, 1981**). Le pathogène colonise les espaces intercellulaires des assises les plus externes du cortex, puis il augmente l'intensité et la vitesse de la croissance jusqu'à la colonisation du cylindre centrale. La vitesse et l'intensité de pénétration varie selon l'interaction plant-pathogène, elle est corrélée positivement avec l'agressivité (**Upasani et al., 2016 ; - Jiménez-Fernandez, 2013**).

Le pathogène prolifère dans les vaisseaux de xylème et le passe via ce tissu à la partie aérienne. Au cours de cette étape, le syndrome de flétrissement (la chlorose, l'affaissement des pétioles) est observé. Une fois que les nutriments de l'hôte soient épuisés

(en raison du flétrissement), le pathogène passe à la conidiation, entraînant une réduction de la masse mycélienne (**Upasani et al., 2016**).

Lutte contre le FOC

Pratiques culturales

Les pratiques culturales visent à limiter l'accroissement du taux de l'inoculum de FOC dans le sol. Elle consiste à utiliser une semence saine, à éliminer les résidus de cultures contaminés par des labours profonds et à pratiqué la rotation culturale du pois chiche de plus de 06 ans avec des cultures non hôte (**Gupta, 1987; Chérif et al., 2007**). Par contre les pratiques du travail minimum du sol augmente l'incidence du flétrissement vasculaire (**Benfreha Benyelles, 2010**), le pathogène peut survivre à l'état saprophytique dans les débris végétaux et la rhizosphère des plantes non hôtes (**Booth, 1971**).

Certains auteurs ont noté que l'ajustement des dates de semis joue un rôle important dans le contrôle du flétrissement vasculaire des pois chiche (**Navas-corté 2000; Landa et al., 2004; Chérif et al., 2007**). D'après **Navas-Cortés et al. (1998)**, l'avancement de la date de semis du pois chiche du début de printemps vers la fin de l'hiver empêche le développement épidémique du flétrissement et minimise la sévérité de la maladie.

Lutte chimique

La lutte chimique est l'une des méthodes les plus utilisées contre le flétrissement vasculaire causé par le FOC. Parmi les fongicides qui ont été fréquemment utilisés nous citons: Benlat-T , Benomyl 30%+ Thiram 30% à 1.5 % (**Hawar et al.,1978**), Vitavax et Ziran (**Kaur et Mukhopadhyay, 1992**). (**Benfreha Benyelles, 2010**) a noté l'effet antifongique des molécules triazoles à des concentrations bien définies contre le FOC. Les triazoles ayant une activité antifongique systémique, ils agissent en empêchant la formation d'ergostérol (composant principale de la membrane plasmique des champignons) dans les cellules fongique (**Hu et al. 2017**).

Plusieurs fongicides chimiques sont utilisés pour contrôler les maladies des plantes causés par les agents pathogènes. Cependant, l'utilisation répétée des produits de synthèse entraîne souvent la pollution de l'environnement, l'apparition de souches résistantes qui posent des problèmes sur la santé humaine (**Ozbay et Newman, 2004**). Face à une demande croissante pour des alternatives à la lutte chimique, les efforts des chercheurs sont orientés vers le développement et l'utilisation des agents naturels biologiques (**Singh et al., 2003**).

Lutte biologique

La lutte biologique (ou biocontrôle), est définie selon l'Organisation Internationale de Lutte Biologique, par l'utilisation des organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs et agents phytopathogènes. Ces agents naturels sont réunis sous le concept de biopesticides (**Upadayay et Mukerji, 1999**).

Plusieurs travaux de recherche ont montré l'utilité des microorganismes pour protéger les plantes contre la maladie de flétrissement vasculaire causé par *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* (comme par exemples *Bacillus* spp, *Trichoderma harzianum* et *Pseudomonas* spp, etc.) (**Gupta, 2006; Kaur et al., 2007; Abed et al. 2016**). Parmi ces microorganismes, les actinobactéries, en particulier, les espèces appartenant au genre *Streptomyces* ont été largement utilisés et ont montré leurs grande efficacité (**Dhedhi et al., 1990; Zaim et al., 2010; Amini et al., 2016; Anusha et al., 2019**). **Merrouche et al. (2017)**, ont montré que la souche d'actinobactérie *Saccharothrix algeriensis* a permis une réduction de 73,3 % sur l'incidence de la maladie du flétrissement vasculaire du pos chiche.

Les actinobactéries présentent plusieurs mécanismes de lutte biologique, tel que, la production de divers substances microbiens (antagonisme), la production des enzymes lytiques qui jouent un rôle important dans la lyse de la paroi des agents pathogènes, la production des sidérophores qui permettent de chélater le fer ferrique du sol et priver les microorganismes pathogènes et l'induction de la résistance systémique par le déclenchement des mécanismes de défenses chez les plantes hôtes (**Gethe et al., 2005; Goudjal et al., 2014**).

L'antagonisme est défini comme l'activité inhibitrice présentée entre deux microorganismes. Plusieurs actinobactéries appartenant aux différents genres, sont connues par leurs activités antagonistes contre les *Fusaria* (**Goudjal et al., 2014; Zammoum et al., 2016; Merrouche et al. 2017**).

Les actinobactéries peuvent également jouer un rôle dans le biocontrôle de divers agents phytopathogènes, par un effet indirect lié à l'induction des mécanismes de promotion de la croissance des plantes, tels que, la production des phytohormones qui jouent un rôle crucial dans les interactions plantes-microorganismes, la fixation de l'azote atmosphérique et la solubilisation des phosphates et des potasses inorganiques essentiels pour la croissance des plantes (**Errahki et al. 2007; Zammoum et al., 2016**).

Les actinobactéries qui ont montrés plusieurs mécanismes de biocontrôle et de promotion de la croissance des plantes, ont été exploités dans l'agriculture par la formulation des biopesticides utilisé dans la lutte biologique des maladies des plantes.

Parmi les biopesticides à base d'actinobactéries commercialisés, le Mycostop, formulé à base de *Streptomyces griseoviridis* K61, L'Actinovate formulé à base de *Streptomyces lydicus* WYEC 108 (Sabaratnam et Traquair, 2001; Elliott *et al.*, 2009).

III. Agent de biocontrôle: Actinobactéries

1. Généralités sur les actinobactéries

Le phylum Actinobacteria, affilié au domaine Bacteria, est décrit dans le Manuel de Systématique de Bergey publié en 2012. Il est défini comme rassemblant les bactéries à Gram positif possédant un pourcentage élevé de guanine et de cytosine (G+C) (supérieur ou égal à 55 %) (Ludwig *et al.*, 2012). Le pourcentage de G+C de la majorité des espèces affiliées à ce groupe se situe entre 63 et 79 %, seuil supérieur connu pour les bactéries (Madigan *et al.*, 2012). La découverte permanente de nouveaux taxons identifiés comme actinobactéries ne fait qu'augmenter leur nombre dans ce phylum. Ainsi, ce dernier comprend à l'heure actuelle 6 classes et 23 ordres, dont Actinomycetales en représente l'ordre-type (Ludwig *et al.*, 2012).

Traditionnellement, les actinobactéries (bactéries mycélienne) étaient considérés comme étant des formes intermédiaires ou transitionnelles entre les champignons et les bactéries (Krassilnikov, 1941). En effet, la plupart des actinobactéries ont le pouvoir de former un réseau mycélien assimilé à celui élaboré par les champignons filamenteux, ce qui explique leur dénomination ancienne «actinomycètes (encore utilisée à ce jour)», qui signifie littéralement «champignons rayonnants» ou «ray-fungi» (Ait Barka *et al.*, 2016). Cependant, le diamètre de leurs filaments mycéliens est plus fin par rapport à celui des champignons. La plupart des actinobactéries mycéliennes peuvent produire des spores dont la germination assure le démarrage d'un nouveau cycle de vie (Figure 4).

De nombreux genres forment une variété de spores asexuées. Les spores formées sont généralement non mobiles, mais parfois mobiles comme celles libérées à partir des sporanges du genre *Actinoplanes* ou des synnemata chez le genre *Actinosynnema*, et qui sont flagellées. En revanche, le mode de sporulation des actinobactéries mycéliennes est diversifié et constitue un critère micromorphologique important dans leur taxonomie (Prescott *et al.*, 2013).

Les espèces d'actinobactéries sont d'une remarquable variabilité morphologique. Elles comprennent à la fois celles dont le mycélium est rudimentaire, voire même inexistant, ayant ainsi la forme d'une cocci ou d'un bâtonnet (*Micrococcus*,

Mycobacterium), celles se caractérisant par un cycle bâtonnet-cocci (*Arthrobacter*), celles dont les hyphes se fragmentent totalement (*Rhodococcus*) ou partiellement (*Nocardia*), et enfin celles à mycélium développé, bien différencié et persistant, dont le diamètre des filaments varie entre 0,5 et 2 μm , mais est généralement inférieur à 1 μm (*Streptomyces*) (Ludwing *et al.*, 2012).

Parmi les formes mycéliennes, on distingue celles qui ne forment qu'un mycélium du substrat (MS) poussant à la surface et dans le milieu de culture et celles qui élaborent en plus un mycélium aérien (MA) issu du MS. De plus, il existe une curiosité biologique représentée par le genre *Sporichthya*, qui produit seulement un MA dont les hyphes sont attachés au substrat par des cellules "crampons", d'où absence du MS (Normand et Benson, 2012).

Physiologiquement, les actinobactéries sont, en général, des bactéries aérobies mais certaines sont aérobies facultatives ou même anaérobies. Ces bactéries sont chimio-hétérotrophes, et la plupart sont capables d'utiliser une grande variété de source d'énergie, y compris les polymères complexes. Ce sont généralement des saprophytes, mais il existe des formes pathogènes et sont aptes à dégrader la matière organique sous forme polymérique (kératine, cellulose, lignine), mais certaines d'entre elles sont pathogènes ou encore symbiotiques des plantes ou des animaux (Zimmerman, 1990; Suzuki *et al.*, 1994; Peltola, 2001).

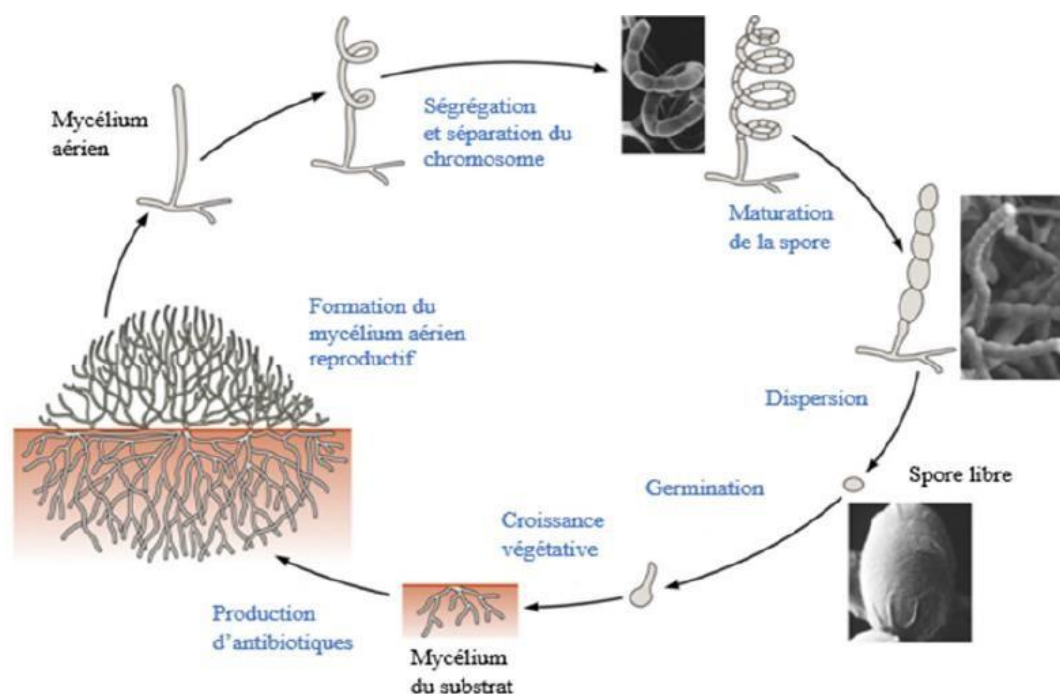


Figure 4. Représentation schématique du cycle de vie des actinobactéries mycéliennes sporulantes (Ait Barka *et al.*, 2016).

2. Taxonomie des actinobactéries

L'identification taxonomique des actinobactéries est basée sur une approche polyphasique qui est la résultante d'une combinaison de plusieurs critères. Ainsi, la plupart des genres peuvent être définis par des critères morphologiques et chimiques, tandis que la détermination des espèces repose sur les critères physiologiques et moléculaires.

L'étude morphologique des actinobactéries se base essentiellement sur la présence ou l'absence du mycélium du substrat et le mycélium aérien, la couleur du mycélium, la production et la couleur des pigments diffusibles, la production de pigments mélanoides et la structure et la forme des spores (**Prauser, 1981**). La micromorphologie des principaux genres d'actinomycètes est illustrée dans la **figure 5**.

Selon, la chimiotaxonomie consiste en l'utilisation des caractères chimiques dans la classification des organismes. Ces caractères ont été surtout étudiés au niveau des parois cellulaires ou des cellules entières. Les composés majeurs ayant une importance taxonomique sont les acides aminés pariétaux, les lipides des enveloppes cellulaires et les sucres cellulaires ainsi que les acides gras et les ménaquinones (**Lechevalier et Lechevalier, 1980; Goodfellow et Minnikin 1985; Kroppenstedt, 1985**).

Les tests physiologiques sont déterminés par l'étude de la capacité des actinomycètes à dégrader différents composés tels que les glucides, les lipides, protéines et les polymères complexes. D'autres tests interviennent parfois dans la détermination des espèces, comme la résistance à certains agents antimicrobiens et la tolérance à certaines conditions (température, pH, salinité, etc). Ces tests physiologiques (en nombre élevé) ont été utilisés dans le cadre d'une taxonomie numérique (**Athalye et al., 1985**).

Pour distinguer les espèces entre elles, les méthodes taxonomiques classiques (Caractéristiques morphologiques, chimiques et physiologiques) ne suffisent pas et l'utilisation des méthodes moléculaires fiables est impérative. Les principales techniques moléculaires utilisées pour l'identification des actinobactéries sont le séquençage de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16S, l'hybridation ADN-ADN et à un degré moindre, le pourcentage de guanine-cytosine (**Goodfellow et al., 1988; Stackebrandt et al., 1997; Stackebrandt et Schumann, 2006; Wellington et Ul-Hassan, 2009**). L'identification des genres est facilitée par les études morphologiques et chimiques tandis que les critères physiologiques et moléculaires séparent les espèces.

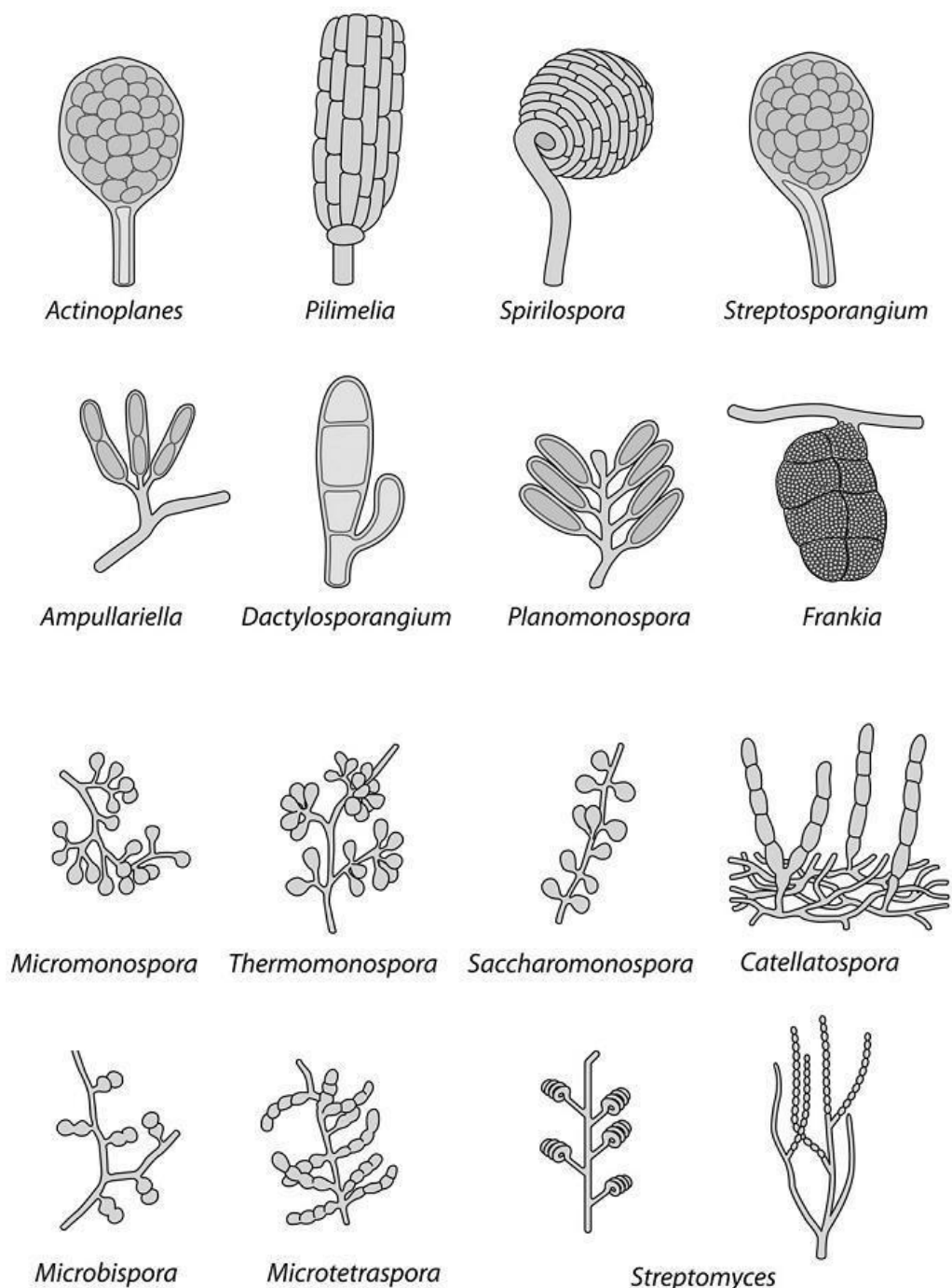


Figure 5. Représentation schématique de la micromorphologie de quelques genres d'actinobactéries (Ait Barka *et al.*, 2016).

3. Ecologie des actinobactéries

Distribution dans l'environnement

Du fait de leur grande capacité adaptative, les actinobactéries sont des organismes ubiquitaires présents dans une grande variété d'habitats. On les retrouve dans le sol, l'air, les eaux douces, les eaux de mer, les composts, les débris végétaux, le pollen, les abeilles

mellifères, les plantes (endophytes), les lichens et plusieurs autres substrats (Weyland 1981; Goodfellow et Williams 1983; Lacey, 1997; Kim *et al.*, 1998; Taechowisan *et al.*, 2003; González *et al.*, 2005; Promnuan *et al.*, 2011).

Toutefois, la majorité des actinobactéries est d'origine tellurique, et c'est à partir du sol qu'elles peuvent coloniser les autres milieux (Dommergues et Mangenot, 1970). Ces bactéries ont également la faculté de coloniser d'autres biotopes particuliers tels que les déserts chauds, les glaciers, les sites pollués par des hydrocarbures ou par des métaux lourds, les grottes naturelles, les lacs extrêmement alcalins, certains milieux très salés ou encore les sédiments marins profonds (Lechevalier 1981; Groth *et al.*, 1997; Sabaou *et al.*, 1998; Moncheva *et al.*, 2002; Pathom-aree *et al.*, 2006; Okoro *et al.*, 2009; Santhanam *et al.*, 2012).

Le sol est le réservoir le plus important en actinobactéries (10 à 20% de la microflore tellurique). Même si elles sont généralement moins nombreuses que les autres bactéries, leur nombre en terme de propagules est plus important que celui des champignons, avec une densité qui varie entre 10^6 et 10^9 propagules par gramme de sol sec et avec une dominance du genre *Streptomyces* qui représente entre 80 et 95 % des isolats actinobactériens d'origine tellurique (Goodfellow et Williams, 1983; Theilleux, 1994). L'abondance des actinobactéries au niveau du sol est influencée par plusieurs facteurs physico-chimiques tels que la nature et la richesse en matières organiques, la température, le pH, la profondeur, l'aération et l'humidité. Leur répartition verticale va de la surface à plus de 2 mètres de profondeur avec un optimum entre 2 et 15 cm (Breton *et al.*, 1989).

Les actinobactéries préfèrent un pH compris entre 7 et 8 et une humidité réduite de l'ordre de 5 à 25%. A l'instar des autres bactéries du sol, la majorité des actinobactéries sont mésophiles, basophiles ou neutrophiles. Certaines espèces sont acidophiles ou halophiles (Hagedorn, 1976; Meklat *et al.*, 2011; Meklat *et al.*, 2012). Certains genres, tels que les *Thermospora*, sont thermophiles (Sabaou *et al.*, 1998).

Distribution dans les sols sahariens algériens

En Algérie, Sabaou et ses collaborateurs, les actinobactéries peuvent représenter jusqu'à 80% de la microflore des sols sahariens, soit une concentration de l'ordre de 10^5 à 10^7 UFC/gss (Unités Formant Colonies par gramme de sol sec) avec une prédominance du genre *Streptomyces* (Sabaou *et al.*, 1980; Sabaou *et al.*, 1992; Sabaou *et al.*, 1998). A une profondeur de plus de 2 m, le pourcentage des actinobactéries devient encore plus élevé et

peut atteindre jusqu'à 95% de la microflore totale (Sabaou *et al.*, 1998). Différents travaux d'isolement menés par Sabaou et ces collaborateurs ont permis, via l'utilisation des méthodes sélectives, d'isoler un nombre important de souches appartenant à des genres considérés comme peu fréquents à rares, et ont également permis la découverte de nouvelles espèces (Sabaou *et al.*, 1998 ; Zitouni *et al.*, 2004a,b; Meklat *et al.*, 2012; 2013; 2014; Boubetra *et al.*, 2013 a, b) et de 2 nouveaux genres (*Mzabimyces* et *Bounagaea*) (Saker *et al.*, 2014; Meklat *et al.*, 2015).

De plus, l'importance des actinobactéries d'origine saharienne à produire de nombreuses substances antibiotiques, a été soulignée plusieurs fois et a permis de découvrir diverses molécules bioactives nouvelles. Parmi ces antibiotiques nous citons: des antibiotiques nucléosidiques, des macrolides et des anthracyclines (Zitouni *et al.*, 2004 a,b; Zitouni *et al.*, 2005), des antibiotiques aromatiques (Badji *et al.*, 2006; Badji *et al.*, 2007; Badji *et al.*, 2011), des angucyclines (Boudjella 2006; Boudjella *et al.*, 2010), des dithiolopyrrolones (Lamari *et al.*, 2002 a,b; Merrouche *et al.*, 2010; 2011 ; 2018, 2019 et 2020) et des saquayamycines (Aouiche *et al.*, 2014).

4. Importance des actinobactéries

En biotechnologie

Les actinobactéries sont très utiles en biotechnologie, leur hétérogénéité métabolique et leur diversité écologique assez exceptionnelles font d'elles des producteurs potentiels de nombreuses molécules à propriétés très diverses et intéressantes en industrie pharmaceutique et alimentaire (Abbas, 2006; Anandan *et al.*, 2016). Les actinobactéries présentent la source de nombreux importants métabolites, qui peuvent être des antibiotiques, des enzymes, des inhibiteurs d'enzymes, des vitamines, des antimétabolites, des antihistaminiques, des analgésiques, des vasodilatateurs, des immunostimulants et des immunosuppresseurs (Rawasheh *et al.*, 2005; Demain, 2006; Reis *et al.*, 2012; Yassien *et al.*, 2015). Ils peuvent également produire des substances ayant des activités antiparasitaires telles que les antimalaria (distamycine), les acaricides (altémicidine), les anticoccidiens, les insecticides (avermectine), les miticides (tétranactine), les antihelminthiques (avermectines) et les piscicides (antimycine A) (Ikeda *et al.*, 2014; Samri *et al.*, 2017; Sreedharan & Rao, 2017).

Les actinobactéries sont de remarquables producteurs d'antibiotiques, qui peuvent être des agents antibactériens, antifongiques ou antiviraux. Ils peuvent être aussi à propriétés antitumorales et cytostatiques (carcinostatine, adriamycine, anthramycine,

daunomycine, rebeccamycine, etc.) (Harvey, 2008). Les *Streptomyces* sont particulièrement prolifiques (Ozbay *et al.*, 2004). Ainsi, 80% des antibiotiques d'origine microbienne commercialisés proviennent du genre *Streptomyces* (Thakur *et al.*, 2007). D'autres genres producteurs peuvent être cités: *Micromonospora*, *Nocardia*, *Actinomadura*, *Actinoplanes*, *Nocardiosis* et *Saccharothrix*. Parmi les molécules élaborées par les actinobactéries, seulement 20% représentent des antifongiques (Sanglier *et al.*, 1993; Jose et Jebakumar, 2013).

En agronomie

Les actinobactéries mycéliennes jouent un rôle important dans le domaine agronomique. Environ 15 % de l'azote mondial est fixé naturellement par les relations symbiotiques entre diverses espèces du genre *Frankia* et plusieurs plantes dicotylédones. Le genre *Frankia* vit en association avec de nombreux arbres tel que *Casuarina* l'orme, l'aulne, etc., il forme des nodules racinaires où l'azote gazeux est fixé (Maggia, 1991; Thajuddin *et al.*, 2015; Anandan *et al.*, 2016).

Les actinobactéries ont un rôle important dans les processus de recyclage et de biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux et contribuent ainsi à la fertilisation des sols. Il sont capables de dégrader des substances organiques complexes difficilement ou non dégradables par les autres microorganismes, tels que les polymères complexes, les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine, etc. (Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983 ; Anandan *et al.*, 2016). Elles sont aussi capables de dégrader ou de recycler certaines toxines produites par des champignons toxinogènes et réduire ainsi leur teneur dans les produits finaux en agro-alimentaire (Holzapfel *et al.*, 2002; Verheecke *et al.*, 2014, 2015).

Les actinobactéries ont un intérêt en tant que sources de composés agro-actifs en favorisant la croissance des plantes et comme outils de lutte biologique contre les agents phytopathogènes d'origine tellurique (El-Tarabily *et al.*, 2009; Qin *et al.*, 2009; Khamna *et al.*, 2010; Singh Saharan *et al.*, 2014; Jog *et al.*, 2016). En effet, ces dernières années, les différents aspects des interactions actinobactéries-plantes ont fait l'objet de plusieurs études approfondies et ont révélé des résultats prometteurs (Uroz *et al.*, 2010; Sessitsch *et al.*, 2012; El-Shatoury *et al.*, 2013; Viaene *et al.*, 2016; Sathya *et al.*, 2017).

Les actinobactéries produisent aussi des antibiotiques spécialement développés pour le marché agricole. Environ 60% des nouveaux insecticides et herbicides signalés au cours des 5 dernières années proviennent de *Streptomyces* (exemples : la blasticidine, la

kasugamycine, les polyoxines, etc.), et utilisées dans le contrôle de diverses maladies fongiques d'arbres fruitiers et de légumes (Anandan *et al.*, 2016; Arasu *et al.*, 2016).

La **Figure 6** présente une brève description des applications importantes des actinobactéries.

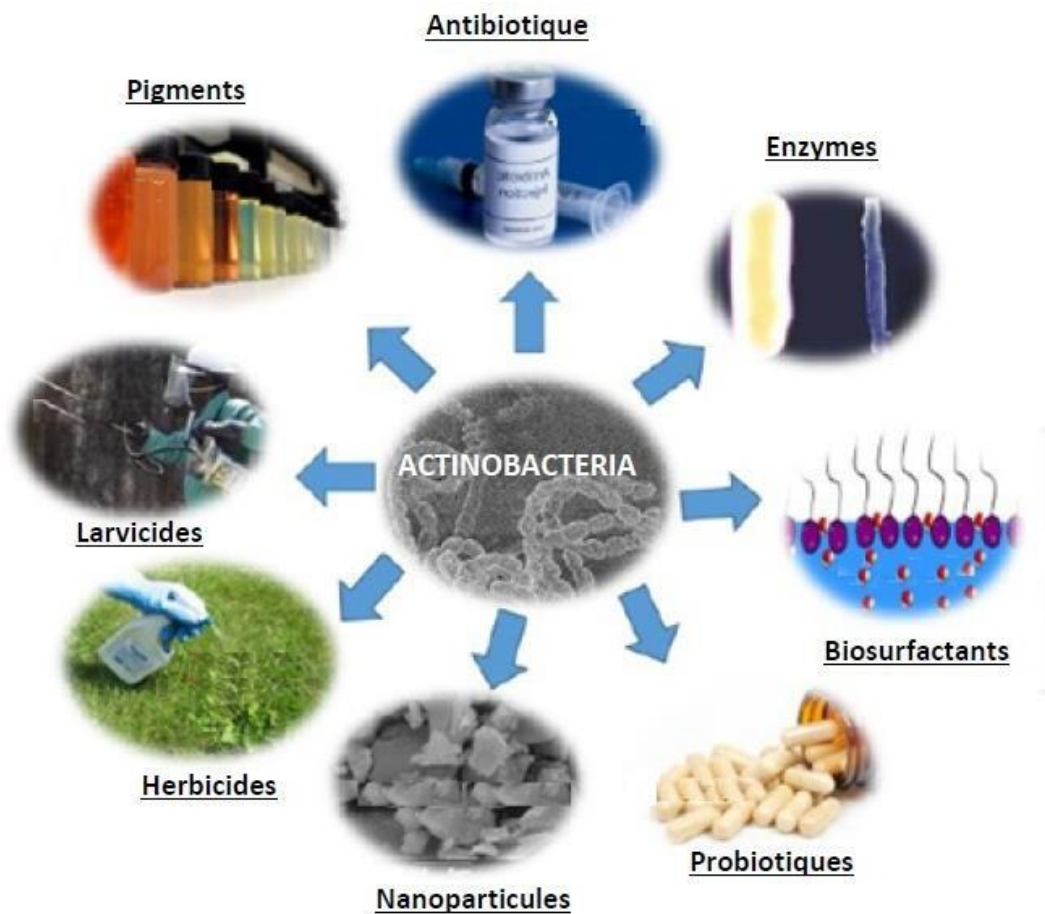


Figure 6. Différentes applications biotechnologiques des actinobactéries (Anandan *et al.*, 2016).

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

I. Objectif du travail

Notre stage pratique de fin d'étude a été réalisé pendant deux mois (entre début Février et fin Mars) au sein du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de l'E.N.S Kouba, Alger. L'objectif du présent travail était, l'isolement et l'identification morphologique de l'agent causale de la fusariose vasculaire chez le pois chiche, ainsi que l'évaluation du potentiel antagoniste d'une collection d'actinobactéries appartenant au LBSM. Pour la réalisation de ce travail toute une démarche a été suivie, expliquée dans les points qui suivent.

II. Isolement et purification de l'agent pathogène

1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude a été récolté durant la campagne agricole 2018-2019 par l'équipe du LBSM. L'échantillonnage des plantes de pois chiche symptomatique a été effectué au niveau de trois wilayas (Tlemcen, Ain Temouchent, Chleff). La période d'échantillonnage a été coïncidée avec la période de la floraison, dont deux pathotypes ont été visés (symptômes de jaunissement et de flétrissement) (Figure 7). Pour chaque région 10 plants ont été pris, dont 5 portent des symptômes de jaunissement et 5 autre portent des symptômes de flétrissement. Chaque plant a été mis individuellement dans une enveloppe en papier fermée et conservé jusqu'à la date de l'isolement.



Figure 7. Les symptômes de la fusariose vasculaire du pois chiche. A: syndrome de flétrissement, B; syndrome de jaunissement

2. Isolement

L'isolement de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC), agent causal de fusariose vasculaire du pois chiche, a été effectué sur la base des symptômes typiques de la maladie observés sur les plants de pois chiche. L'étape de l'isolement est commencée par le rinçage et le séchage des plants symptomatique entiers et le choix de l'endroit de la prise des fragments. Les fragments de tiges nécrosés de 9 mm ont été découpés longitudinalement, trempés à l'hypochlorite de sodium 2,5% pendant 3 min afin de les stériliser, puis rincé 3 fois par l'eau distillée stérile (Haware *et al.*, 1996). Les fragments ont été séchés avant de les mettre dans des boîtes de pétrie (9 cm) contenant un milieu sélectif pour les *Fusaria* (peptone PCNB agar, voir annexe 1) (Leslie et Sammurell, 2006). Chaque boîte de pétrie est ensemencée par 3 fragments (Figure 8). Par la suite, les boîtes ont été incubées à 28°C pendant une semaine (Leslie et Sammurell, 2006).



Figure 8. Isolement et purification des isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*:
1- découpages des fragments nécrosés, 2- Rinçage des fragments avec l'hypochlorite de sodium et l'eau distillée, 3-séchage des fragments, 4- dépôt des fragments sur un milieu sélectif des *Fusaria*.

3. purification

La purification a concerné principalement les colonies dont l'aspect cultural est similaire à celui du *Fusarium*. Il s'agit donc de prélever une petite bouture mycélienne et de l'ensemencer de manière aseptique au centre d'une boîte de Pétri contenant du PDA. Les isolats sont purifiés par repiquage successif sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar, annexe 1) (**Rapilly, 1969**).

L'observation des boîtes au microscope permet de s'assurer que la colonie est exempte de contamination. Néanmoins, la culture monospore présente le procédé le plus sûr pour éviter tout risque de contamination (**Rapilly, 1969**).

4. Culture monospore

La technique de la culture monospore (Figure 9) permet d'obtenir une culture pure à partir des spores fongiques par étalement sur milieu PDA.

Dans un premier temps, la souche à monosporer est repiquée dans une boîte contenant du milieu PDA et laissée se développer sur la totalité de la surface de la boîte pendant 7 jours. Un explant est prélevé à partir de la périphérie de la boîte et introduit dans un tube contenant 10 mL d'eau distillée stérile, après agitation, une suspension sporale est obtenue à partir de laquelle des dilutions au dixième sont réalisées comme suit:

- 01 mL de la suspension sporale est prélevé puis introduite dans un tube contenant 09 mL d'eau distillée stérile. Cette opération est reproduite jusqu'à l'obtention des dilutions de 10^{-4} et de 10^{-5} .
- A partir des 2 dernière dilutions, 01 mL est prélevé puis étalé à l'aide de billes stériles sur milieu PDA.
- Après 24 h d'incubation à 28°C, à l'aide du microscope, le repérage et la délimitation des spores en germination sont effectués. Les spores sont prélevées et déposées dans de nouvelles boîtes de Pétri contenant du milieu PDA puis incubées à 28°C pendant une semaine (**Rapilly, 1969**).

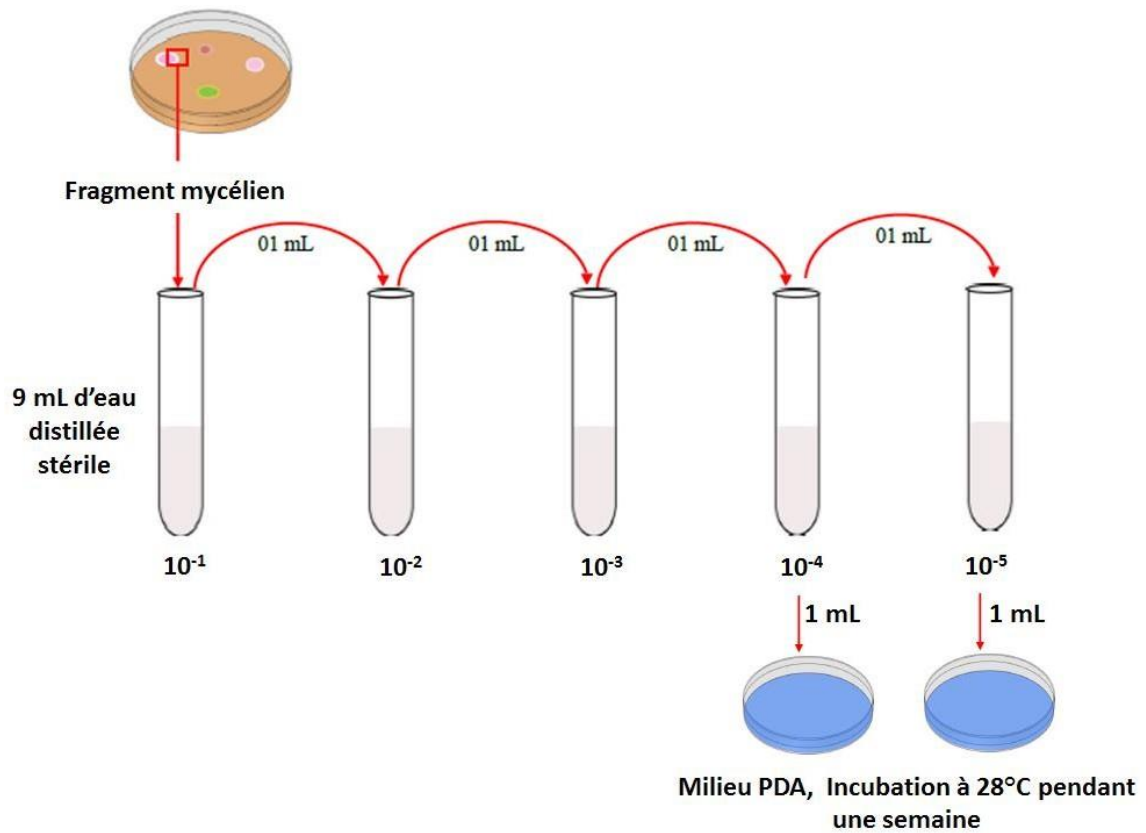


Figure 9. La culture monospore.

III. Identification morphologique de l'agent pathogène

Les espèces de *Fusarium* présentent une grande variabilité naturelle de la morphologie, qui est influencée par la nature du substrat nutritif sur lequel le champignon s'est développé (Champion, 1997).

1. Identification macroscopique

L'identification consiste à vérifier les paramètres observés à l'œil nu, elle se base essentiellement sur la notation des caractères morphologiques variables des colonies sur un milieu PDA, selon les critères décrits par Leslie et Sammurell (2006):

- **Aspect du mycélium**

Le mycélium peut avoir un aspect floconneux, clairsemé ou abondant.

- **Couleur du mycélium**

La couleur de mycélium est très variable allant du blanc au violet pâle.

- **Sporodochie (masse sporale centrale)**

Elle peut avoir des couleurs différentes. Certains isolats de *Fusarium* produisent un mycélium ras et muqueux conséquence à la fusion des sporodochies avec une couleur orange sur milieu PDA.

- **Pigmentation**

Le FOC comme certaines *Fusaria*, secrète différents pigments, pour cette paramètre nous vérifions la couleur qui pourrait être violet foncé, pâle, magenta sombre ou pourrait être sans pigmentation.

- **Taux de la croissance**

Le taux de croissance végétative est parfois utilisé comme caractère secondaire dans les identifications et les descriptions d'espèces. Pour ce paramètre, nous avons procédé le protocole décrite par **Leslie et Sammurell (2006)** avec quelques modifications. Un petit fragment de mycélium a été déposé au centre d'une boîte de pétrie (9 mm de diamètre) contenant un milieu de culture PDA. Les boîtes sont incubées à une température constante égale à 25°C et dans l'obscurité totale. Les mesures du diamètre ont été prises le 3^{ème} le 5^{ème} jour, en se basant sur l'expansion radiale du champignon. Cinq répétitions par isolats ont été effectuées.

2. Identification microscopique

L'observation du pathogène au microscope permet l'identification des champignons, en se basant sur les caractères morphologiques des spores. Cet examen est réalisé en déposant un fragment d'une colonie (issu de la culture monospore) entre une lame et une lamelle, dans une goutte de bleu coton ou dans du lactophénol (colorant spécifique des champignons). Il est recommandé pour observer et vérifier les caractères microscopiques dans les milieux de culture SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar) ou CLA (Carnation Leaf-Piece Agar). Pour la présente étude, tous les caractères microscopiques ont été observés dans un milieu SNA (voir annexe 1).

- **Abondance des spores**

Nous vérifions la densité des spores *In situ*, dans les observations directes des boîtes au microscope optique et entre lame et lamelle.

- **Les macroconidies**

Pour ces spores, nous avons vérifié la forme, la taille et le nombre de cloisons. Nous avons essayé de caractériser aussi la forme des cellules apicale et la forme de la cellule basale. L'observation doit être effectuée en globalité en évitant la concentration sur les cas rares.

- **Les microconidies**

La présence ou l'absence des microconidies est le premier critère que devait être vérifié. Une fois ces spores sont présentes, on note leur forme, leur taille et la manière dont elles sont regroupées. Ainsi il est nécessaire d'observer la nature de la cellule conidiogène (phialide), si elle est monophialide ou polyphialide. Les microconidies ont été d'abord observées *In situ* (observation directe au niveau de la boîte de pétrie) aux grossissements 100x et 400x, par la suite, une confirmation aura lieu en préparant des lames colorées en bleu coton.

- **Les chlamydospores**

Les chlamydospores sont plus fréquentes dans les cultures les plus anciennes que dans les plus jeunes. Elles peuvent apparaître plus abondamment sur des milieux tels que la gélose à la boue ou le SNA, que sur le CLA (Leslie et Sammurell, 2006). Il peut être nécessaire de réexaminer les cultures jusqu'à deux mois pour déterminer définitivement si des chlamydospores sont présentes. Nous avons examiné la présence des chlamydospores dans des préparations issus d'un milieu SNA et jusqu'à deux mois.

IV. Effet antagonistes de quelques souches d'actinobactéries contre les isolats de l'agent pathogène

1. Souches d'actinobactéries

Les actinobactéries testés appartiennent à la collection de microorganismes du LBSM. Un total de 88 souches (Tableau 1) d'actinobactéries isolés des sols sahariens d'Algérie (Adrar, Hoggar, Ghardaïa et Tamanrasset) ont été étudiée pour leur potentiel antagoniste contre l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. Ce screening préliminaire est effectué afin d'évaluer les propriétés antagonistes et pour tester l'activité antifongique des souches d'actinobactéries *in vitro*.

Tableau 2 . Les souches d'actinobactéries utilisées pour évaluer leurs propriétés antagonistes.

Actinobactéries		Origine
Ac1. <i>Amycolatopsis</i> sp.	Ac31. <i>Streptomyces</i> sp.	Sol saharien d'Adrar
Ac2. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac32. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac3. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac33. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac4. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac34. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac5. <i>Micromonospora</i> sp.	Ac35. <i>Micromonospora</i> sp.	
Ac6. <i>Nocardia</i> sp.	Ac36. <i>Nocardia</i> sp.	
Ac7. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac37. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac8. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac38. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac9. <i>Nocardia</i> sp.	Ac39. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac10. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac40. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac11. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac41. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac12. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac42. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac13. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac43. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac14. <i>Micromonospora</i> sp.	Ac44. <i>Nocardia</i> sp.	
Ac15. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac45. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac16. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac46. <i>Micromonospora</i> sp.	
Ac17. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac47. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac18. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac48. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac19. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac49. <i>Micromonospora</i> sp.	Sol saharien de Ghardaïa
Ac20. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac50. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac21. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac51. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac22. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac52. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac23. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac53. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac24. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac54. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac25. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac55. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac26. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac56. <i>Micromonospora</i> sp.	
Ac27. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac57. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac28. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac58. <i>Nocardia</i> sp. sp.	
Ac29. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac59. <i>Saccharothrix</i> sp.	

Ac30. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac60. <i>Saccharothrix</i> sp.	Sol saharien de Tamanrasset
Ac61. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac75. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac62. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac76. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac63. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac77. <i>Amycolatopsis</i> sp.	
Ac64. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac78. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac65. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac79. <i>Nocardia</i> sp.	
Ac66. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac80. <i>Saccharothrix</i> sp.	
Ac67. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac81. <i>Micromonospora</i> sp.	
Ac68. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac82. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac69. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac83. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac70. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac84. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac71. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac85. <i>Streptomyces</i> sp.	
Ac72. <i>Saccharothrix</i> sp.	Ac86. <i>Nocardia</i> sp.	
Ac73. <i>Nocardia</i> sp.	Ac87. <i>Nocardia</i> sp.	
Ac74. <i>Streptomyces</i> sp.	Ac88. <i>Streptomyces</i> sp.	

2. microorganismes-cibles

Six isolats de l'agent pathogène obtenus par la culture monospore ont été utilisés comme germes cibles pour étudier l'activité antifongique des souches d'actinobactéries. Il s'agit de FPW1, FPW3, FPW5, FPW6, FPY2 et FPY4. Une souche de *F. oxysporum* f. sp. *pisi* alg 3, appartenant à la collection de microorganisme du LBSM, a été utilisée comme souche de référence.

3. Test d'antagonisme par la méthode des cylindres d'agar

L'activité antifongique des souches d'actinobactéries, a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar (**Patel et Brown, 1969**). Cette méthode consiste à ensemencer les souches à tester en stries serrés sur le milieu solide ISP2 (International *Streptomyces* Project 2, voir annexe 1) (**Shirling et Gottlieb, 1966**), puis incubé pendant 10 jours à 30°C. Après incubation, des cylindres d'agar de huit millimètres de diamètre sont découpés stérilement à partir de chaque culture mûre à l'aide d'un emporte-pièce, puis déposés à la surface des boîtes contenant le milieu PDA semi solide (12 g/L d'agar) préalablement ensemencé par les champignons cibles prélevés d'une suspension fongique préparée selon la méthode de

Bouznada (2018). Les boîtes sont maintenues à 4°C pendant 2 h, avant d'être incubées, afin de permettre une bonne diffusion des substances antifongiques, tout en empêchant momentanément la croissance des microorganismes cibles. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après 48 h à 72 h d'incubation à 28°C. La figure 10, illustre les étapes de cette méthode.

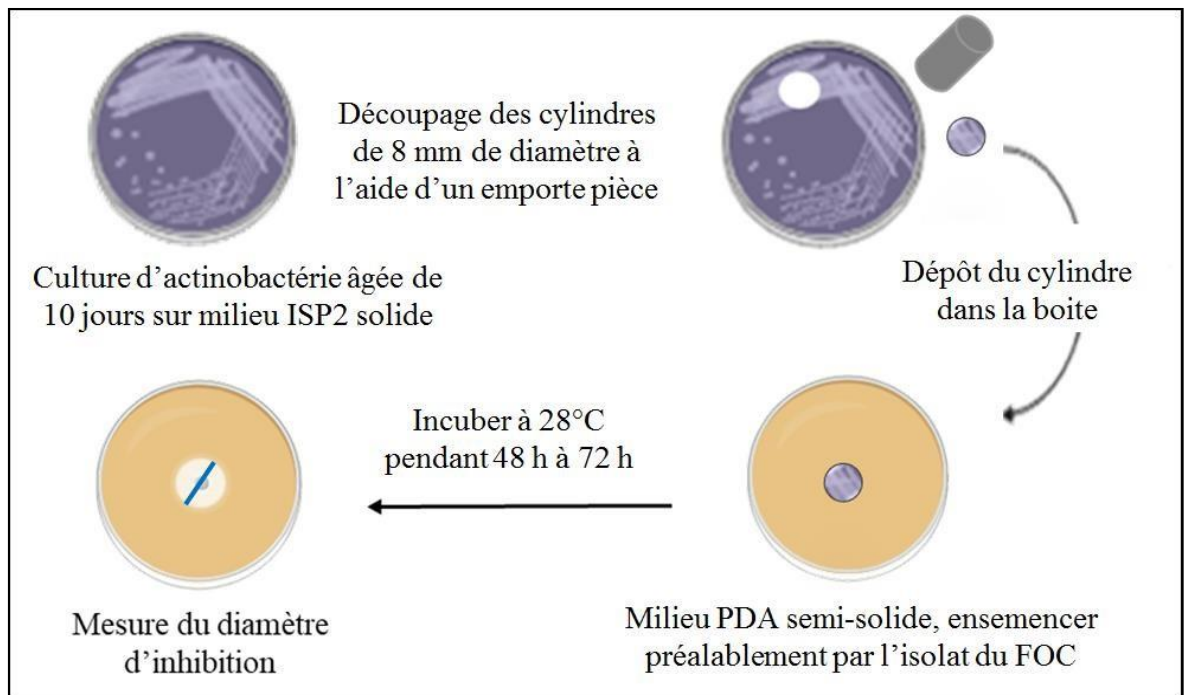


Figure 10. Mise en évidence de l'activité antagoniste antifongique des souches d'actinobactéries par la méthode des cylindres d'agar.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats

1. L'identification des isolats de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* (FOC)

L'isolement

Les milieux de culture peptone PCNB agar et PDA se sont révélés être très intéressants pour l'isolement, la purification et la sélection des *Fusarium*. Les colonies qui ont montré, après observation à l'œil nu et au microscope optique, les caractéristiques des *Fusarium*, en particulier la formation des macroconidies et microconidies sont considérées comme des isolats appartenant au genre *Fusarium*. Au total 24 isolats issus de 30 échantillons (plants de pois chiche symptomatiques) ont pu être aléatoirement choisis sur la base de leur diversité culturelle et morphologique remarquée lors de l'observation. Nous avons prélevé 12 isolats à partir des plants de pois chiche issus de la wilaya de Chleff, 7 isolats issus des plants de pois chiche issus de la wilaya de Ain Temouchent et 5 isolats à partir des plants issus de la wilaya de Tlemcen.

La culture monospore

Après 24 h d'incubation à 28°C, nous avons procédé, à l'aide du microscope, au repérage et à la délimitation des spores en germination (Figure 11). Deux conidies ont été prélevées et déposées chacune dans une boîte de Pétri contenant du milieu PDA. Après incubation à 28°C, des cultures pures sont obtenues (Figure 12). Cette technique nous a permis de purifier 6 isolats dont 3 appartiennent à la wilaya de Chleff (notés: FPW3, FPY2 et FPY4), 2 à la wilaya de Ain Temouchent (notés: FPW1 et PFW5) et un isolat appartient à la wilaya de Tlemcen (noté: FPW6).

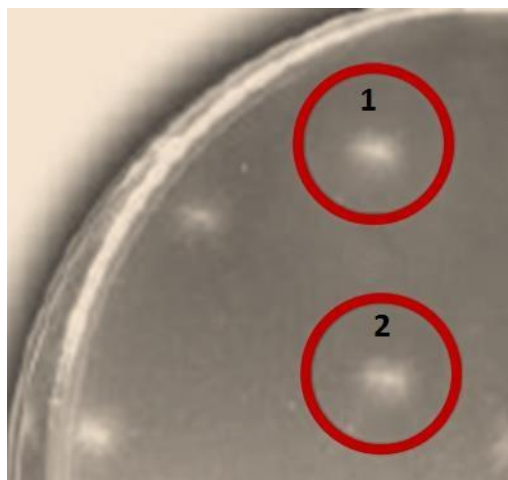


Figure 11. La monospore en germination.

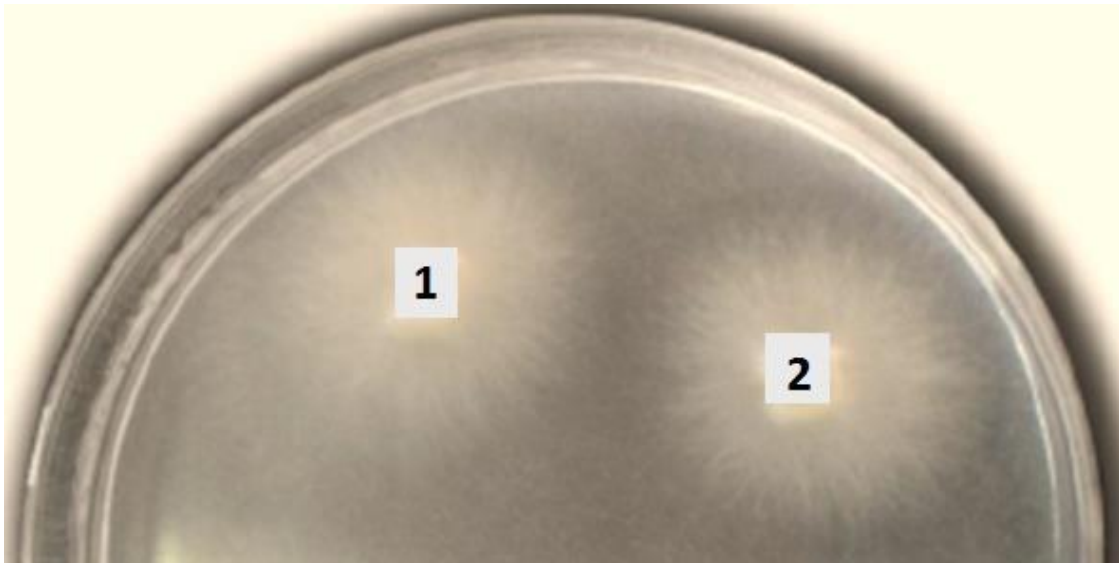


Figure 12. La culture pure à partir de 2 monospores.

Etude macroscopique

Les résultats des observations macroscopiques sont notés dans le tableau 2.

La variabilité morphologique et la couleur du thalle des six isolats de FOC sont représentées par la figure 13.

- **Aspect et couleur du mycélium**

Des différences remarquables ont été enregistrées entre les 6 isolats issus de la monospore. L'isolat FPW1 et PFW5 ont un mycélium clairsemé et dispersé, alors que les FPW3, FPW6, FPY2, FPY4 ont un mycélium floconneux moyennement à peu abondant.

Le mycélium de FPW1 et FPW6 a une couleur beige pale, FPW3, FPY2 et FPY4 ont un mycélium blanc, alors que l'isolat FPW5 allant vers le rose.

- **Sporodochies**

Dans les 6 isolats nous avons remarqué que les sporodochies étaient claires au niveau du centre. La couleur et l'abondance de la sporodochie centrale sont variables entre les isolats. L'isolat FPW1 possède une couleur pêche, avec un aspect gréseux. Pour l'isolat FPW5 et FPW6, la couleur est pourpre foncée et marron respectivement, alors que les

sporodochies centrales observées chez les isolats FPW3, FPY2 et FPY4 sont blanche, abondante pour le FPW3 et moyennement abondante pour le reste des isolats.

- **Pigmentation**

Le pigment produit par les isolats FPW1 et FPW5 est de couleur orange et rose, respectivement, alors que, le FPW6 est pigmenté en marron au niveau du centre, la couleur devienne de plus en plus vert en allant vers l'extrémité. Les isolats FPW3, FPY2 et FPY4 ont produit des pigments de couleur crème.

Tableau 3. Caractérisation macromorphologique des six isolats de FOC.

	Mycélium			Sporodochie centrale	
	Aspect	Abondance	Couleur	Couleur et abondance	pigmentation
FPW1	Clairesemé	Dispersé	Pale	Pêche gréseuse	Orange
FPW3	floconeux	Abondant	blanc	Abondant blanche	Crème
FPW5	Clairesemé	Dispersé	violet	Peu abondant violet	Violet
FPW6	Floconeux	Peu abondant	Beige	Moyennement abondant Marron	Marron au centre jaune verdâtre vers l'extrémité
FPY2	Floconeux	Peu abondant	Blanc	Moyennement abondante	Crème
FPY4	Floconeux	Moyennement abondant	Blanc	Moyennement abondante	Crème

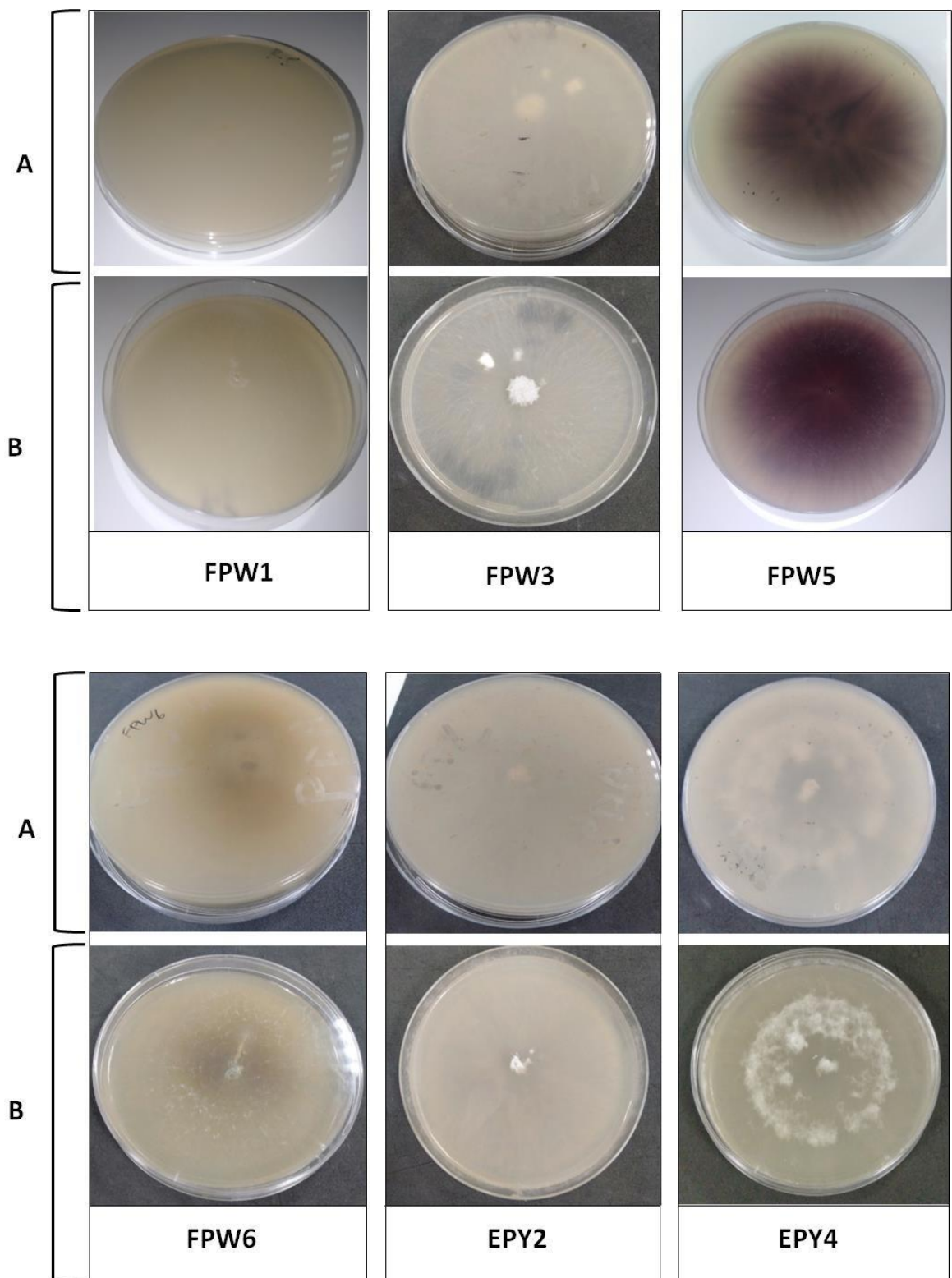


Figure 13. La variabilité morphologique des six isolats de FOC sur milieu PDA. A: face inférieure des boîtes de Pétri, B: face supérieure des boîtes de Pétri.

- **Taux de croissance**

les résultats des diamètres de colonies pour les six isolats après 3 jours, 4 jours et 5 jours sont mentionnés dans les histogrammes de la figure 14.

Le diamètre des colonies enregistré après 3 jours (72 h) pour tous les isolats sont compris entre 29,4 mm et 41 mm. La valeur minimale a été enregistrée chez l'isolat FPW3, tandis que, la valeur maximale a été enregistrée chez l'isolat FPW5.

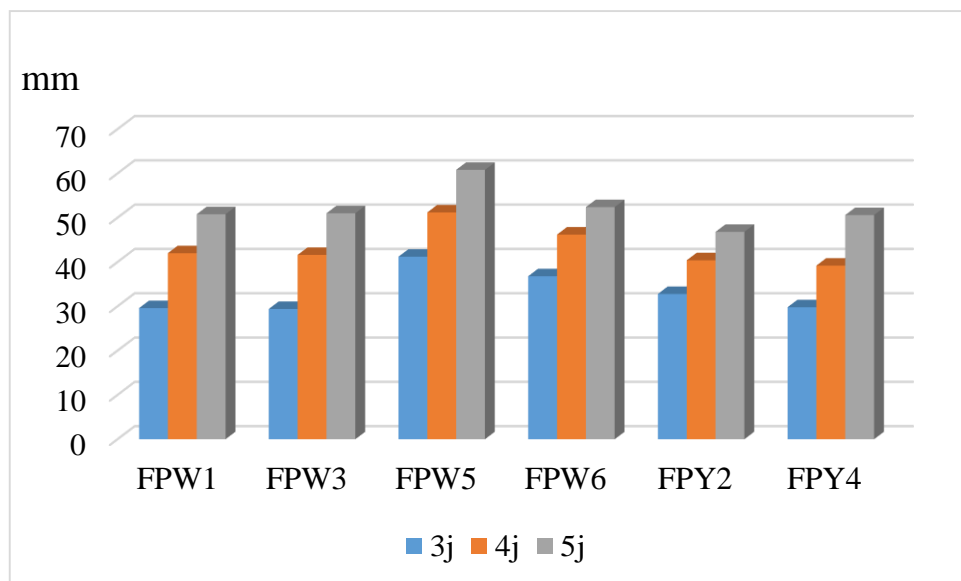


Figure 14. Taux de croissance des six isolats de FOC.

Etude microscopique

Les résultats des observations microscopiques réalisés sont notés dans le tableau 3.

Les différentes structures et la forme des spores observées chez les six isolats de FOC sont représentées dans les figures 15 et 16, ainsi que 2.

- **Abondance des spores**

La densité des spores a été observée *In situ* (observation directe sur la boîte) et sur des préparations des lames colorées. Une différence entre l'abondance des spores a été observée entre les 6 isolats. En effet, la FPW3 avait la densité la plus faible, alors que la densité la plus forte est enregistrée pour les isolats FPY2 et FPY4. Ainsi l'abondance des macroconidies par rapport aux microconidies a été observée. L'isolat FPW3 est remarqué par l'abondance des microconidies, tandis que le FPW6 est remarqué par l'abondance des macroconidies.

- **Les macroconidies**

Nous avons noté la forme, la taille, le nombre de cloisons, la forme de la cellule apicale et la cellule basale. En générale, la variabilité entre les 6 isolats est très faible. Les macroconidies sont libres ou porté par les conidiophores. La taille des macroconidies est comprise entre 15 à 18 μm (courtes à moyennes), elles sont légèrement courbées (falciforme) ou allongé et fréquemment avec trois à cinq cloisons.

Concernant les cellules apicale et basale, il est difficile de montrer la différence dans les photos en raison la absence d'un matériel sophistiqué. Pour ces deux paramètres, nous avons joué sur la mise au point et le condensateur. La cellule apicale est légèrement mince et recourbée alors que pour la cellule basale elle est à peine entaillée (barely notched; FPW1, FPW3, FPW6) ou en forme de pied (footed; FPW5, FPY2, FPY4).

- **Les microconidies**

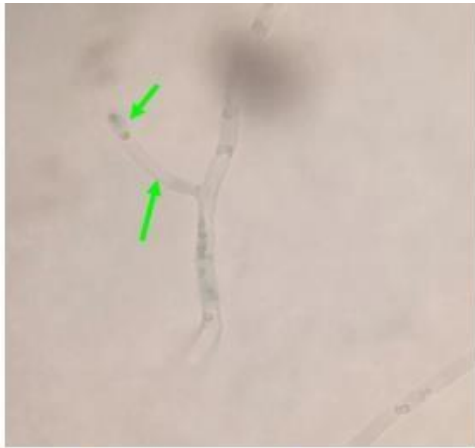
Pour les microconidies nous avons pris en considération la taille et la forme des microconidies et la nature du phialide (monophialide ou polyphialide). Les microconidies sont variables par rapport à leur taille et leur forme, nous avons distingué la forme ovoïde non septé (petite 3-6 μm), la forme cylindrique non septé (3-6 μm) et la forme falciforme à une cloison ou rarement 2 cloisons (8-10 μm). Les microconidies sont regroupées en fausse tête sur une monophialide courte.

- **Les chlamydospores**

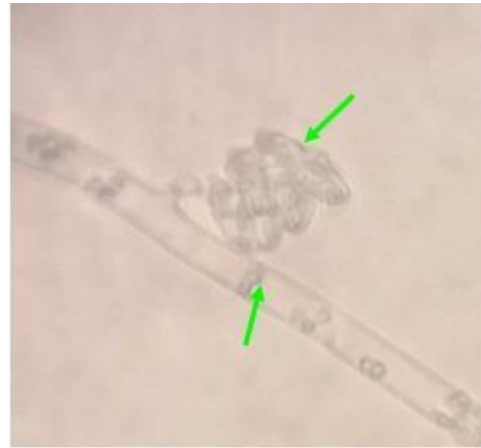
Les observations notées ont confirmé la présence des chlamydospores dans les 6 isolats de FOC, ces structures ont été observées à partir de la deuxième semaine. Nous avons vérifié ces structures après deux mois afin de confirmé leur présence et éviter de les confondre avec les pseudo-chlamydospores décrites par **Leslie et Summerell (2006)**. Ces structures sont intercalaires ou terminales, elles ont une paroi épaisse, une apparence verruqueuse et une coloration claire, généralement jaune-brun.

Tableau 4. Caractérisation micromorphologique des six isolats de FOC.

Isolats	Macroconidies			Macroconidies		Chlamydospore
	Taille et forme	Cellule apicale	Cellule basale	Taille et forme	Position des microconidies	
FPW1	15-18 µm Allongée à 3 cloisons	Légèrement recourbée	à peine entaillée	ovoïde ou cylindrique sans cloison 3 µm-6µm falciforme à 1 cloison 8-10 µm	Agglomération en fausse tête portées par Monophialide	Intercalaire à 2 ou terminale
FPW3	15-18 µm Allongée légèrement recourbée à 3 cloisons rarement 5 cloisons	Mince légèrement recourbé	à peine entaillée	ovoïde ou cylindrique sans cloison 3 µm-6µm falciforme à 1 cloison 8-10 µm	Agglomération en fausse tête portées par Monophialide	Intercalaire à 2 ou terminale
FPW5	15-18 µm Allongée légèrement recourbée à 3-5cloisons	Mince Légèrement recourbée	En forme de pied	ovoïde ou cylindrique sans cloison 3 µm-6µm falciforme à 1 cloison 8-10 µm	En fausse tête portées par Monophialide	Intercalaire à 2 ou terminale
FPW6	15-18 µm Allongée Légèrement recourbée à 3 cloisons		à peine entaillée	ovoïde ou cylindrique sans cloison 3 µm-6µm falciforme à 1 cloison 8-10 µm	En fausse tête portées par Monophialide	Intercalaire à 2 ou terminale
FPY2	15-18 µm Droit légèrement recourbée à 3 -5 cloisons	Mince droite	En forme de pied	ovoïde ou cylindrique sans cloison 3 µm-6µm falciforme à 1 cloison 8-10 µm	En fausse tête portées par Monophialide	Intercalaire à 2 ou terminale
FPY4	15-18 µm Droit légèrement recourbée à 3 -5 cloisons	Mince droite	En forme de pied	ovoïde ou cylindrique sans cloison 3 µm-6µm falciforme à 1 cloison 8-10 µm	En fausse tête portées par Monophialide	Intercalaire à 2 ou terminale



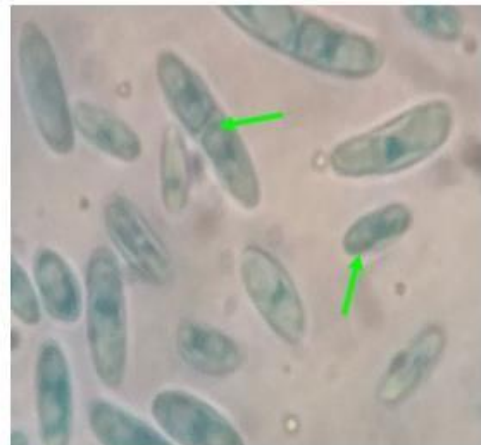
A: microconidie sur monophialide



B: mycélium septé avec des microconidies en fausse tête



C: conidiophore avec des macroconidies



D: microconidies cloisonnées et non cloisonnées



E: chlamyospore terminale



F: chlamyospore intercalaire

Figure 15. Les différentes structures observées chez les six isolats de FOC(*G: 10x40*).

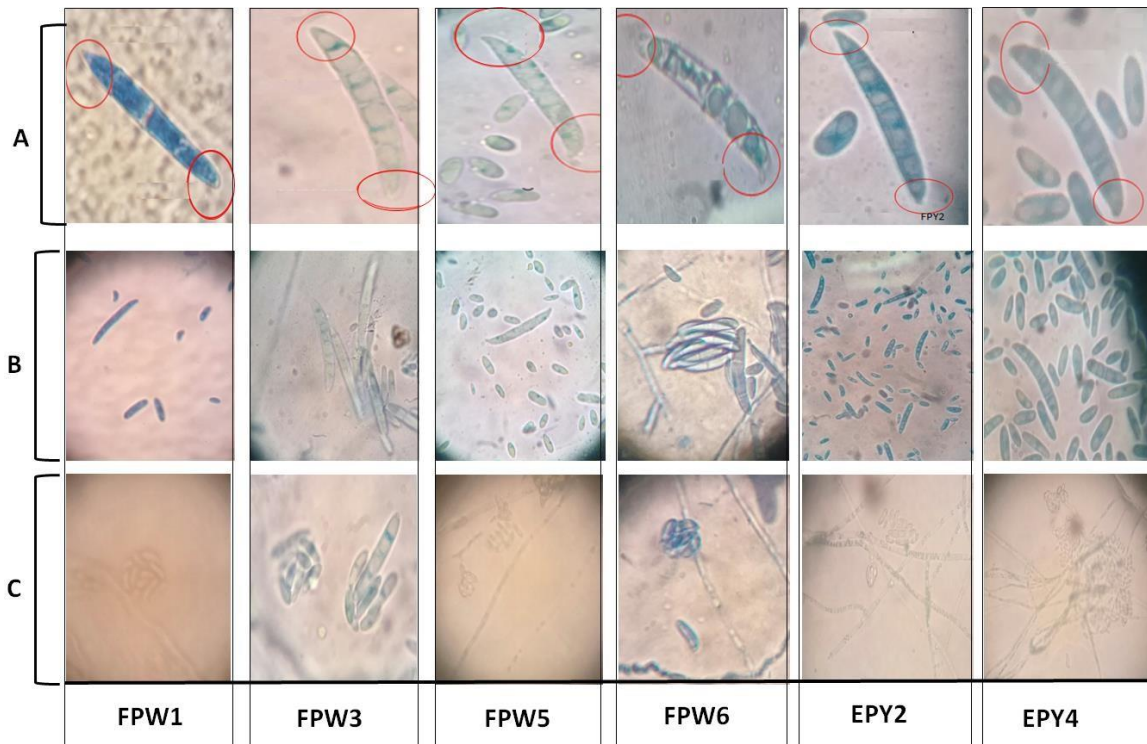


Figure 16. La forme de spores observées chez les six isolats de FOC. A: macroconidies, avec des cellules apicales et basales, B: macro et microconidies, C: regroupement des microconidies en fausse têtes(*G: 10x40*).

2. Evaluation du potentiel antifongique

Les 88 souches d'actinobactéries ont été testées *in vitro* pour leur pouvoir antifongique, par la méthode des cylindres d'agar, contre les six isolats (FPW1, FPW3, FPW5, FPW6, FPY2 et FPY4) de *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* obtenus à partir de la monospore. Les Résultats de l'activité antifongique de ces d'actinobactéries sont donnés en annexe 2.

Les résultats obtenus ont montré une activité variable des souches d'actinobactéries contre les six isolats de FOC ciblés (nulle, faible, moyenne et forte). Parmi les 88 souches d'actinobactéries testés, 19 souches ont donnés des activités antifongiques moyennes à fortes (Figure 18). La souche Act51 a enregistré les valeurs les plus importantes sur tous les isolats, avec des zones d'inhibition qui varient entre 20 et 24 mm (Figure 19), suivi par la souche Act13 avec des zones d'inhibition qui varient entre 16 et 24 mm. Les deux isolats sont morphologiquement apparentés au genre *Streptomyces*. Au totales parmi les 19 souches actives 57,89 % apparentés au genre *Streptomyces*, 26,31 % sont des *Saccharothrix* et 15,78 % sont apparentés aux autres genres. Certains actinobactéries qui étaient actives contre des isolats de FOC n'ont pas montré une activité contre la souche de référence de *F. oxysporum*

f. sp. *pisi*, telles que les actinobactéries Ac70, Ac71 et Ac72.

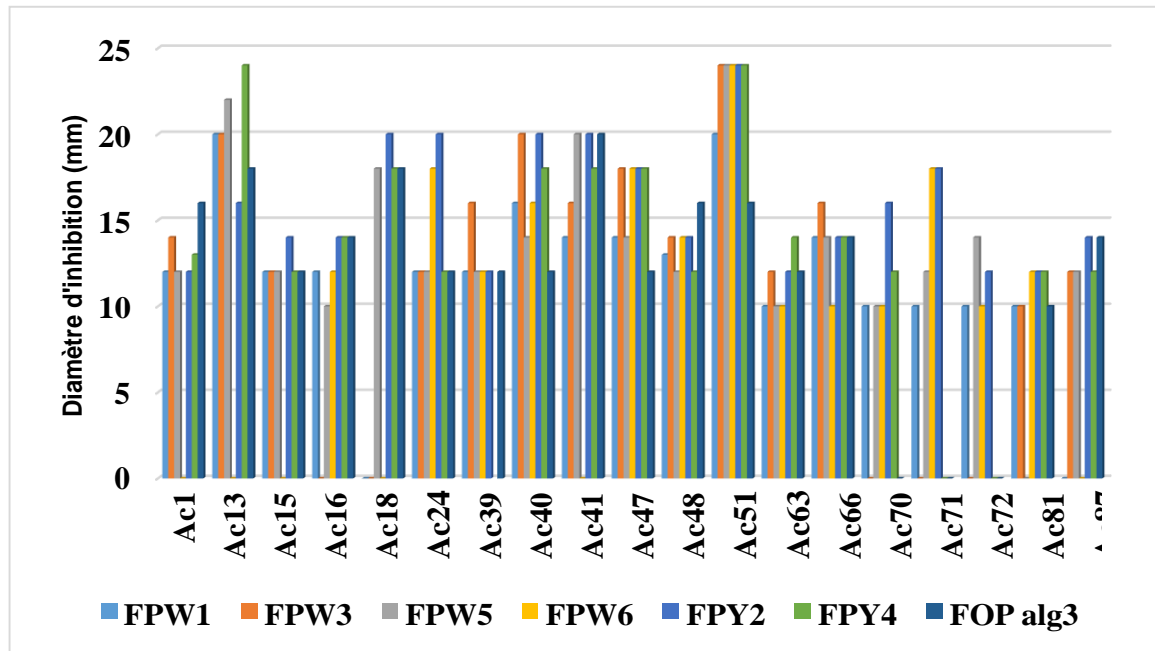


Figure 18. Spectre d'activité antifongique des actinobactéries Contre les champignons cibles, sur milieu ISP2.

Note: * Le diamètre du cylindre d'agar (8 mm) n'est pas compris.

AC: Actinobactéries, **FOP alg3:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*.

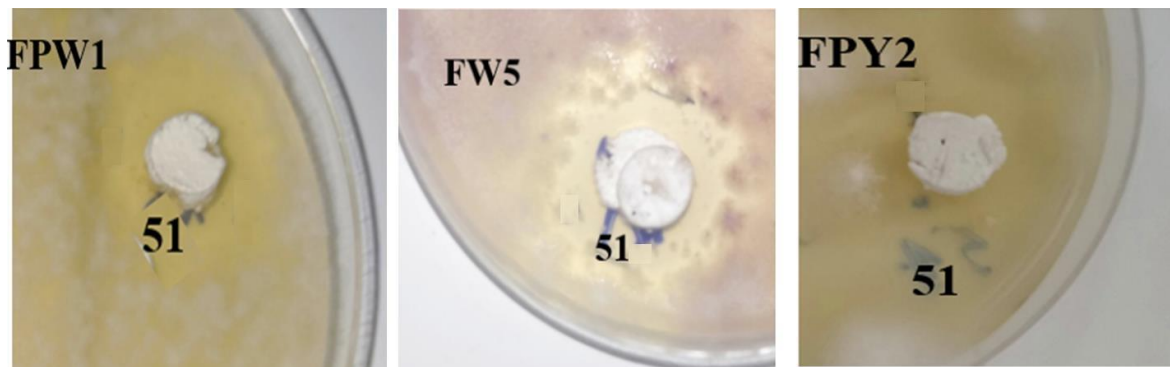


Figure 19. Activité antifongique de la souche Ac51 sur milieu PDA semi solide par la méthode des disques d'agar, contre les isolats du FOC: PFW1, FPW5 et FPY2.

II. Discussion

La fusariose vasculaire causée par l'agent pathogène *Fusarium oxysporum* est une maladie d'intérêt économique à cause des dégâts engendrés sur plusieurs cultures. L'espèce est composée de plus de 150 formes spécialisées distingués par la plantes hôte infecté. La caractérisation morphologique et la lutte biologique contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *ceceris*, l'agent causal de la fusariose vasculaire chez le pois chiche, était l'objectif de notre étude.

La caractérisation morphologique des 6 isolats ((FPW1, FPW3, FPW5, FPW6, FPY2 et FPY4)) de *F. oxysporum* a montré une variabilité au niveau de l'aspect et la couleur de mycélium, la pigmentation, l'aspect et la couleur de la sporodochie centrale et l'abondance des spores. Cependant, les paramètres liés aux macroconidies et les microconidies de ces isolats ont été similaires. Ainsi, nous avons noté l'abondance des chlamydo-spores dans les six isolats. Nos résultats sont en accords avec les travaux réalisé sur les différents formes spéciales de *F. oxysporum* isolé à partir de plusieurs plantes hôtes telles que le pois chiche (**Kheni et al., 2017**), la tomate (**Si Mohamed et al., 2016**), le palmier dattier (**Sidaoui, et al., 2017**) la grenadille (**Magalhães et al., 2016**), le piment (**Ferniah et al., 2014; Cha et al., 2007**) et la banane (**Ingle et Ingle, 2013**).

La forme des microconidies produites sur de courtes monophialides est une des principales caractéristiques définissant l'espèce de *F. oxysporum* (**Leslie et Summerell 2006**). La présence des chlamydo-spores chez la plupart des isolats a été observée à partir de de la deuxième semaine, ce qui est en désaccord avec les résultats **Si Mohamed et al. (2016)** qui ont enregistré l'abondance des chlamydo-spores à partir de trois semaines.

Le taux de la croissance des six isolats, est compris entre 29,4 mm et 41 mm après de 72 h. Cet intervalle de taux de croissance correspond à ce présenté par **Leslie et Summerell (2006)** chez les différentes espèces de *F. oxysporum*. Cependant, le taux de croissance peut présenter des faibles variations entre les différentes formes spéciales qui peuvent être dues à la variation des conditions expérimentales. Ainsi, un diamètre de 30 à 40 mm (après 4 jours d'incubation) a été noté chez *F. oxysporum* f. sp. *ceceris* (**Kheni et al., 2017**), 35 à 64 mm (après 5 jours) chez *F. oxysporum* f. sp. *albidinis* (**Sidaoui et al., 2017**) et un diamètre de 49 mm chez *F. oxysporum* f. sp. *passiflorae* (**Magalhães et al., 2016**).

Nous avons noté que les caractéristiques morphologiques de l'isolat le FPW5 sont identiques aux caractéristiques morphologiques du *F. redolens* décrites par **Leslie et Summerell (2006)**. En effet, la caractérisation morphologique est une initiation à l'identification, il est difficile de distinguer l'espèce étudié, par exemple, *F. solani* et *F.*

redolens ont été longtemps confondues avec l'espèce *F. oxysporum*, puis clairement différenciées par une étude phylogénétique (Baayen *et al.*, 1997; O'Donnell *et al.*, 1998, Leslie et Summerell, 2006). Un test de pathogénicité et une étude moléculaire sont nécessaires pour la confirmation de l'espèce et des formes spéciales des souches de *Fusarium* (Ingle et Ingle, 2013).

La recherche du pouvoir antifongique chez les souches d'actinobactéries a été effectuée sur un milieu PDA semi solide par la méthode des disques d'agar. Parmi les 88 souches testées, 19 ont montré une activité fongique moyenne à forte contre les six isolats de *F. oxysporum*. En effet, plusieurs travaux de recherche antérieurs ont montré des propriétés antagonistes intéressantes des actinobactéries, en particulier, celles appartenant aux souches et espèces des genres *Streptomyces* et *Saccharothrix*. Ces genres, sont connus pour être productrices de plusieurs antibiotiques d'une grande diversité structurale et à spectre d'action assez intéressant dirigé contre les bactéries à Gram positif, les champignons et parfois contre les bactéries à Gram négatif (Boubetra *et al.*, 2013; Aouiche *et al.*, 2015; Belghit *et al.*, 2016; khebizi *et al.*, 2018; Merrouche *et al.*, 2018, 2019, 2020). Des résultats obtenus par d'autres chercheurs, ont montré l'effet antagoniste des souches de *Streptomyces* et de *Saccharothrix* contre plusieurs champignons phytopathogènes appartenant au genre *Fusarium* (Merrouche, 2000; Goudjal *et al.*, 2014; Zammoum *et al.*, 2016). Merrouche *et al.* (2017) a montré que la souche d'actinobactérie *Saccharothrix algeriensis* a présenté des activités antifongiques appréciables contre les formes spéciales du *Fusarium oxysporum* responsables du flétrissement vasculaire du pois chiche, du palmier dattiers et de la tomate.

CONCLUSION
ET PERSPECTIVES

La caractérisation morphologique de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* était l'objectif principale de la présente étude. Ce pathogène qui pourrait engendrer des pertes de rendement considérables sur le pois chiche qui peuvent atteindre les 100%. La lutte biologique est une alternative qui a prouvé son efficacité contre les agents pathogènes et la protection de l'environnement.

L'utilité des microorganismes, en particulier, les actinobactéries dans la lutte biologique contre la maladie de flétrissement vasculaire causé par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*, a été montrée par plusieurs chercheurs. L'agent de biocontrôle testé dans cette étude était des souches d'actinobactéries d'origine sahariennes provenant du Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM) de Kouba, Alger.

Le pathogène a été isolé à partir des plants symptomatiques du pois chiche, purifié et subi une culture monospore. Sur les 24 isolats purifiés, nous avons obtenu 6 isolats par la culture monospore, ces derniers ont fait l'objet d'une caractérisation morphologique (macroscopique et microscopique).

Un mycélium septé avec conidiophores qui portent des macroconidies falciformes et allongés avec trois à cinq cloisons, et des microconidies de formes ovales, cylindriques et allongés non septés ou avec une cloison produites sur des monophialides courtes et regroupées en fausse tête. Les chlamydospores sont terminales ou intercalaires et qui sont abondantes. Ces observations correspondent aux critères morphologiques de *F. oxysporum* décrit par **Leslie et Summerell (2006)**. Cependant, un test de pathogénicité et une caractérisation moléculaire sont nécessaires pour compléter ce travail.

L'activité antifongique de 88 souches d'actinobactéries a été évaluée par la méthode des cylindres d'agar sur milieu PDA semi solide. Parmi ces actinobactéries, 19 souches ont montré une moyenne à forte activité antifongique, contre les six isolats caractérisés de FOC, avec des zones d'inhibitions allant de 12 à 24 mm.

A la fin de cette étude, nous pouvons dire que nos résultats sont prometteurs et les perspectives qui en découlent sont nombreuses. Il serait donc intéressant pour la suite de ce travail, de:

- Réaliser un test de pathogénicité et une étude moléculaire, afin de compléter l'étude d'identification et confirmer l'appartenance des six isolats à l'espèce *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*.
- Réaliser un screening des actinobactéries utilisées dans cette étude pour le biocontrôle de FOC et pour l'effet de promotion de croissance *in vitro*.

- Entreprendre des essais de lutte biologique *in vivo* contre la fusariose vasculaire du pois chiche, en utilisant les actinobactéries les plus performantes dans le screening *in vitro*.
- Etudier les mécanismes impliqués par les actinobactéries dans le biocontrôle contre le FOC et la promotion de la croissance de la plante du pois chiche.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- Abbas I.H. (2006).** A biological and biochemical studies of actinomycetes isolated from Kuwait saline soil-Kuwait. *Journal of Applied Sciences Research*, 10: 809-815.
- Abed H., Rouag N., Mouatassef D. and Rouabhi A. (2016).** Screening for *Pseudomonas* and *Bacillus* antagonistic rhizobacteria strains for the biocontrol of *Fusarium* wilt of chickpea. *Eurasian Journal of Soil Science*, 5: 182 – 191.
- Abdelguerfi L.M., Bouzid L., Zine F., Hamdi N., Bouzid H. and Zidouni F. (2001).** Evaluation de quelques cultivars locaux de pois chiche dans la région de Bejaia. Institut nationale de la recherche Agronomique d'Algérie, 9:31-42.
- Ademe A. (2015).** Cultiver des légumineuses pour réduire l'utilisation d'intrants de synthèse. Agriculture et environnement : Des pratiques clés pour la préservation du climat, des sols et de l'air, et les économies d'énergie. Fiche n° 5, 11p.
- Aita C. and Giacomini S.J. (2003).** Crop residue decomposition and nitrogen release in single and mixed cover crops. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 27: 601-612.
- Ait Barka E., Vatsa P., Sanchez L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard C., Klenk H.P., Clément C., Ouhdouch Y. and Wezel G.P. (2016).** Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular Biology Reviews*, 80: 1-43.
- Allen D.J. (1983).** The pathology of tropical food legumes. John Wiley and Sons .New York, 413p.
- Alvarez A.M. and Briner G.C. (1987).** Root rot of chickpea caused by *Fusarium solani*. *Agriculture Technica*, 47: 78-79.
- Amini J., Agapoor Z. and Ashengroph M. (2016).** Evaluation of *Streptomyces* spp. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for the management of chickpea wilt. *Journal of Plant Protection Research*, 56: 257-264
- Anandan R., Dharumadurai D. and Manogaran G.P. (2016).** An Introduction to *Actinobacteria*. In: *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*, pp. 1-36.
- Anusha B. G., Gopalakrishnan S., Naik M. K. and Sharma M. (2019).** Evaluation of *Streptomyces* spp. and *Bacillus* spp. for biocontrol of *Fusarium* wilt in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 52: 120-125.
- Aouiche A., Bijani C., Zitouni A., Mathieu F. and Sabaou N. (2014).** Antimicrobial activity of saquayamycins produced by *Streptomyces* sp. PAL114 isolated from Saharan soil. *Journal of Medical Mycology*, 24: 17-24.
- Aouiche A., Meklat A., Bijani C., Zitouni A., Sabaou N. and Mathieu F. (2015).** Production of vineomycin A1 and chaetoglobosin A by *Streptomyces* sp. PAL114. *Annals of Microbiology*, 65: 1351-1359.

Aoki T.μ., O'Donnell K. and Geiser D.M. (2014). Systematics of key phytopathogenic *Fusarium* species: current status and future challenges. *Journal of General Plant Pathology*, 80: 189-201.

Arasu M.V., Esmail G.A., Al-Dhabi N.A. and Ponmurugan K. (2016). Managing pests and diseases of grain legumes with secondary metabolites from actinomycetes. In: Subramaniam G, Arumugam S, Rajendran V, eds. *Plant Growth Promoting Actinobacteria*. 1-298.

Armstrong G.M. and Armstrong J.K. (1981). Formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook R (eds) *Fusarium diseases, biology, and taxonomy*. Penn State University Press, University Park, PA, pp 391-399.

Athalye M., Goodfellow M., Lacey J. and White R.P. (1985). Numerical classification of *Actinomadura* and *Nocardioopsis*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 35: 86–98.

-B-

Baayen R.P., Van Dreven F., Krijger M.C. and Waalwijk C. (1997). Genetic diversity in *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* and *Fusarium redolens* f. sp. *dianthi*. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 395-408.

Bacha F. et Ounane S. M. (2003). Etude de l'effet du stress hydrique sur les activités des enzymes nitrate réductase et nitrogénase de la culture du pois chiche (*Cicer arietinum* L.). Institut National de la Recherche agronomique d'Algérie, 13 :1111-1992.

Badji B., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2006). Antimicrobial compounds produced by *Actinomadura* sp. AC104 isolated from an Algerian Saharan soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 52: 373-382.

Badji B., Mostefaoui A., Sabaou N., Lebrihi A., Mathieu F., Seguin E. and Tillequin, F. (2007). Isolation and partial characterization of antimicrobial compounds from a new strain *Nonomuraea* sp. NM94. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34: 403-412.

Badji B., Germain P., Le Faou A. et Sabaou N. (2011). Activités antivirales des antibiotiques de deux nouvelles espèces d'actinomycètes isolées des sols sahariens. *Microbiologie et Hygiène Alimentaire.*, 68: 23-27.

Belghit S., Driche E.H., Bijani C., Zitouni A., Sabaou N., Badji B. and Mathieu F. (2016). Activity of 2, 4-Di-tert-butylphenol produced by a strain of *Streptomyces mutabilis* isolated from a Saharan soil against *Candida albicans* and other pathogenic fungi. *Journal de Mycologie Médicale.*, 26: 160–169.

Benfreha Benyelles M. (2010). Caractérisation biologique et génétique du *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* agent du flétrissement chez le Pois chiche (*Cicer arietinum* L.) par la

compatibilité végétative et le teste de sa sensibilité aux triazoles. Mémoire de magister. Université d'Oran.Alger, 90 p.

Booth C., (1971). The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK., 237 p.

Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Sproer C., Klenk H.P. and Sabaou N. (2013a). *Saccharothrix saharensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Algerian Saharan soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 63: 3744-3749.

Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Sproer C., Klenk H.P. and Sabaou N. (2013b). *Saccharothrix hoggarensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 63: 549-553.

Boubetra D., Sabaou N., Zitouni A., Bijani C., Lebrihi A. and F. Mathieu. (2013). Taxonomy and chemical characterization of new antibiotics produced by *Saccharothrix* SA198 isolated from a Saharan soil. *Microbiological Research*, 168 (4): 223-230.

Boudjella H., Bouti K., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2006). Taxonomy and chemical characterization of antibiotics of *Streptosporangium* Sg 10 isolated from a Saharan soil. *Microbiological Research*, 161: 288-298.

Boudjella H., Zitouni A., Coppel C., Mathieu F., Monje M.C., Sabaou N. and Lebrihi A. (2010). Antibiotic R2, a new angucyclinone compound from *Streptosporangium* sp. Sg3. *Journal of Antibiotics*, 63: 709-711.

Bouzerzour H., A. Djekoune A., Benmhammed. et L. Hassous. (1998). Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité au rendement en grain de l'orge (*H. vulgare* L.) en zone semi-aride d'altitude. *Cahiers Agricultures*,7: 307-317.

Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J. and Vobi G. (1989). Organismes producteurs : biologie, taxonomie et écologie. In: *Biotechnologie des antibiotiques*. Larpent, J.P. and Sanglier, J.J. (eds.), Masson, Paris, pp. 33-70.

Broughton W.J., Hernandez G., Blair M., Beebe S., Gepts P. and Vanderleyden J. (2003). Beans (*Phaseolus* spp.). *Model food legumes. Plant and Soil.*, 252 (1): 55-128.

Brown J.K.M. (1995). Pathogen's responses to the management of disease resistance genes. In: Andrews JH, Tommerup IC (eds.) *Advances in plant pathology*, vol. 11, Academic Press, NY, pp. 75-102.

Bryssine M.P. (1955). La culture de pois chiche au Maroc et ses possibilités d'amélioration. *Bulletin de la société des Agricultures du Maroc* : 31-39p.

-C-

Castillo P., Navas-Cortès J.A., Gomar-Tinoco D., Di Vito M. and Jiménez-Díaz R. M. (2003). Interactions between *Meloidogyne artiellia*, the cereal and legume root knot

nematode, and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* race 5 in chickpea. *Phytopathology*, 93: 1513-1523.

Cha, S.D., Jeon, Y.J., Ahn, G.R., Han, J.I., Han K.H. and Kim S.H. (2007). Characterization of *Fusarium oxysporum* Isolated from Paprika in Korea, *Mycobiology*, 35:2, 91-96.

Champion R. (1997). Fungi identify transmitted by Seeds. INRA, Paris, 398 p.

Chau C. F., Cheung P.C. and Wong Y.S. (1997). Effect of cooking on content of amino acids and antinutrients in three Chinese indigenous legume seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75: 447-452.

Chérif M., Arfaoui A. and Rhaim A. (2007). Phenolic compounds and their rol in Bio-control and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. *Tunusian Journal of plant protection*, 2:7-12.

Correll J.C. (1991). The relationship between formae specialis, races and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology*, 81:1061-1064.

Costalima F. (2015). Fourniture en azote de résidus issus de différentes espèces légumineuses étudiées en conditions contrôlées au laboratoire. Rapport de fin stage, institut national supérieur des sciences agronomique de l'alimentation et de l'environnement, 26 p.

Cubero, J.I. (1987). Morphology of chickpea. In :M.C. Saxena and K.B. Singh (eds.), *The Chickpea* . CAB. International, Wallingford,UK., p.35-66

Cunnington J., Lindbeck K., Rodney H. and Jones A. (2009). Diagnostic methods for *Fusarium* wilt of chickpea (*Fusariumoxysporum*f. sp.*ciceris*) Padil. *Plant biosecurity Toolbox*, 3: 1-22.

-D-

Davis P.H. (1969). Material for a flora of Turkey. XIX. Leguminosae-Vicieae. Notes Roy. Bot. Gard., 29 : 312-313.

DSASI (2017). Statistiques agricoles "série B". Direction des statistiques agricoles et système d'information. Sous-direction des statistiques, Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche.

Demain A.L., (2006). From natural products discovery to commercialization: a success story. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 33: 486–495.

Dean R., Van Kan J.A.L., Pretorius Z.A., Hammond-Kosack K.E., Di Pietro A., Spanu P.D., Rudd J.J., Dickman M., Kahmann R., Ellis J. and Foster G.D. (2012). The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 13:414-430.

Dhedhi B.M., Gupta O. and Patel V.A. (1990). Influence of metabolites of microorganisms on the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Indian Journal of Mycology and Plant Pathology*, 20 (1): 70-71.

Dolar F.S. (1997). Determination of the races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in Ankara province, Turkey. *Journal Turk Phytopathol*, 26: 11–15.

Dommergues Y. and Mangenot F. (1970). Ecologie microbienne du sol. Masson et Cie (Eds.), Paris. Domsch K.H., Gams W. and Anderson T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Academic press, London, 859 p.

-E-

Ebbole D. and Sachs M.S. (1990). A rapid and simple method for isolation of *Neurospora crassa* homokaryons using microconidia. *Fungal Genetic Newsletter*, 37:17-18.

Edel-Hermann, V. and Lecomte C. (2019). Current Status of *Fusarium oxysporum* Formae Speciales and Races. *Phytopathology*, 109(4): 512-530.

El-Adawy T.A. (2002). Nutritional composition and antinutritional factors of chickpeas (*Cicerarietinum* L.) undergoing different cooking methods and germination. *Plant Foods for Human Nutrition*, 57: 83-97.

Elliott M., Shamou S.F., James D., Masri S. and Varga A. (2009). Evaluation of several commercial biocontrol products on European and North American populations of *Phytophthora ramorum*. *Biocontrol Science and Technology*, 19: 1007-1021.

El-Shatoury S.A., El-Kraly O., Trujillo M., El-Kazzaz W., Gamal El-Din E. and Dewedar A. (2013). Generic and functional diversity in endophytic actinomycetes from wild compositae plant species at South Sinai-Egypt. *Research Microbiology*, 164: 761-769.

El-Tarabily K.A., Nassar A.H., Hardy G.E.S.J. and Sivasithamparam K. (2009). Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum* a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology*, 06: 13-26.

Errakhi R., Bouton F., Lebrihi A. and Barakate M. (2007). Evidence of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 1503-1509.

Esfahani M.N., Sulieman S., Schulze J., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K. and Tran L.P. (2014). Mechanisms of physiological adjustment of N₂ fixation in *Cicer arietinum* L. (chickpea) during early stages of water deficit: single or multi-factor controls. *Plant Journal*, 79(6): 964-980.

-F-

FAO (2019). The state of food and agriculture. Moving forward on food loss and waste reduction food, Agriculture Organization (FAO) statistical division, 182p.

Fahim N.M., Osman A. R., El-Attar A.H. and Mabrouk M.S.M., (1987). Root rot of common bean. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 19:71-83.

Ferniah R.S., Daryono B.S., Kasiamdari R.S. and Priyatmojo A. (2014). Characterization and Pathogenicity of *Fusarium oxysporum* as the Causal Agent of Fusarium Wilt in Chili (*Capsicum annuum* L.). *Microbiology Indonesia*, 8(3), 5.

Flor H.H., (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology*, 9:275-296.

-G-

Gethe K., Vikineswary S., Wong W.H., Seki T., Ward A. and Goodfellow M. (2005). Evaluation of *Streptomyces* sp. strain g10 for suppression of *Fusarium* wilt and rhizosphere colonization in pot-grown banana plantlets. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 32: 24-32.

González I., Ayuso-Sacido A., Anderson A. and Genilloud O. (2005). Actinomycetes isolated from lichens: Evaluation of their diversity and detection of biosynthetic gene sequences. *FEMS Microbiology Ecology*, 54: 401-415.

Goodfellow M. and Williams S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology* 37: 189-216.

Goodfellow M. and Minnikin D.E. (1985). Chemical methods in bacterial systematics, Academic Press, London, pp.

Goodfellow M. (1988). Numerical taxonomy and selective isolation of industrially important actinomycetes. *Actinomycetologica*. 2: 13-29.

Goudjal Y., Toumatia O., Yekkour A., Sabaou N., Mathieu F. and Zitouni A. (2014). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiological Research*, 169: 59-65.

Grewal J.S. (1982). Control of important seed borne pathogens of chickpeas. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 42: 393-398.

Groth I., Schumann P., Rainey F.A., Martin K., Schuetze B. and Augsten K. (1997). *Bogoriella caseilytica* gen. nov., sp. nov., a new alkaliphilic actinomycete from a soda lake in Africa. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47: 788-794.

Gupta O., Kotasthane S.R. and Khare M.N. (1987). Factors influencing epidemiology of vascular wilt of chickpea. *Proceedings of National Academy of Science, India*, 57: 86-91.

Gupta S.B., Thakur K.S., Tedi K. and Singh A. K. (2006). Influence of *Trichoderma viride* on performance of chickpea in Wilt complex area. *Annals of Plant Protection Sciences*, 14: 120-124.

Gupta S., Nadarajan N. and Gupta D. S. (2014). Legumes in the Omic Era, Springer-Verlag New York. 348p.

Gupta N., Shrivastava N. and Bhagyawant S. S. (2017). Multivariate analysis based on nutritional value, antinutritional profile and antioxidant capacity of forty chickpea genotypes grown in India. *Journal of Nutrition and Food Sciences*, 7 (3):1-9.

-H-

Hagedorn C. (1976). Influence of soil acidity on *Streptomyces* populations inhabiting forest soils. *Applied Environmental Microbiology*, 32: 368-375.

Hartmann A. (2005). Lorenz Hiltner, a pioneer in soil bacteriology and rhizosphere research. In: Perspectives and Challenges - A Tribute to Lorenz Hiltner (Hartmann A., Schmid M., Wenzel W. and Hinsinger P. (eds.), GSF-Forschungszentrum, Neuherberg, Germany, pp. 1-4.

Harvey A.L. (2008). Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 13: 894-901.

Haware M.P. and Nene Y.L. (1982). Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris*. *Plant Disease*, 66: 809-810.

Haware M.P., Nene Y.L. and Rajeshwary R. (1978). Eradication of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* transmitted in chickpea seed. *Phytopathology*, 68:1364-1367.

Haware M.P., Nene Y.L. and Natarajan M. (1996). The survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in the soil in the absence of chickpea. *Phytopathology Mediterranean*, 35: 9-12.

Hu B., Zeng L.P., Yang X.L., Ge X.Y., Zhang W., Li B., et al. (2017). Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related corona virus esprovides new insights into the origin of SARS coronavirus. *PLoS Pathog*, 13, doi.org/10.1371/journal.ppat.1006698 .

Huignard J., Glitho I.A., Monge J.P. and Régnault-Roger C. (2011). Insectes ravageurs des graines de légumineuses. *Quae*, 146p. doi : 10.35690/978-2-7592-1656-7.

-I-

Ingle A. and Ingle R. (2013). Isolation and Identification of *Fusarium oxysporum* infecting Musa plants in Maharashtra region and their molecular characterization. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, 04 (01): 28-34.

Ikeda H., Shin-Ya K. and Omura S. (2014). Genome mining of the *Streptomyces avermitilis* genome and development of genome-minimized hosts for heterologous expression of biosynthetic gene clusters. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 41: 233-250.

ITGC., (2003). «Céréaliculture» revue de l'Institut Technique des Grandes Cultures N°40.

-J-

Jaiswal R. and Singh N.P. (2001). Plant Regeneration from NaCl Tolerant Callus/Cell Lines of Chickpea, International Chickpea and Pigeonpea, Newsletter 8; ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics). 73 p.

Jiménez-Díaz R.M., Alcalá-Jiménez A.R., Hervás A. and Trapero-Casas, J.L. (1993). Pathogenic variability and hosts resistance in the *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* / *Cicer arietinum* pathosystem. In: Proc. 3rd Eur. Semin. *Fusarium Mycotoxins, Taxonomy, Pathogenicity and Host Resistance*. Hodowska R. and Nasiennictwo A. (Eds.), Plant Breeding and Acclimatization Institute, Radzików, Poland, pp. 87-94.

Jiménez-Fernandez D., Landa B.B., Kang S., Jiménez-Díaz R.M. and Navas-Cortés J.A. (2013). Quantitative and Microscopic Assessment of Compatible and Incompatible Interactions between Chickpea Cultivars and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* Races. *PLoS ONE*, 8(4): e61360. doi:10.1371/journal.pone.0061360.

Jiménez-Gasco M.M., Pérez-Artés E. and Jiménez-Díaz R.M. (2001). Identification of pathogenic races 0, 1B/C, 5, and 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* with random amplified polymorphic DNA (RAPD). *European Journal of Plant Pathology*, 107:237-248.

Jiménez-Gasco M.M., Milgroom M.G. and Jiménez-Díaz R.M. (2004). Stepwise evolution of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequences. *Phytopathology*. 94:302-307.

Jog R., Nareshkumar G. and Rajkumar S. (2016). Enhancing soil health and plant growth promotion by Actinomycetes. In: Subramaniam G, Arumugam S, Rajendran V, (Eds.) *Plant Growth Promoting Actinobacteria*. Springer, pp. 33-45.

Jose P. A. and Jebakumar S. R. D. (2013). Non-streptomycete actinomycetes nourish the current microbial antibiotic drug discovery. *Frontiers in Microbiology*, 2: 240.

Jukanti A., Gaur C . and Gowda Chibbar R. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. *British Journal of Nutrition.*, 108 (1): 11-26.

-K-

Kaur N. P. and Mukhopadhyay A. N. (1992). Integrated control of chickpea wilt complex⁷ by Trichoderma and chemical methods in India, *Tropical Pest Management*, 38:4, 372-375, DOI: 10.1080/09670879209371730.

Kaur R., Kaur J., Singh R.S. and Alabouvette C. (2007). Biological Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* by Nonpathogenic *Fusarium* and Fluorescent *Pseudomonas* . *International Journal of Botany*, 3: 114-117.

Kelly A.G., Alcalá-Jiménez A.R., Bainbridge B.W., Heale J.B., Pérez-Artés E. and Jiménez-Díaz R.M. (1994). Use of genetic fingerprinting and random amplified polymorphic DNA to characterize pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* infecting

chickpea. *Phytopathology*, 84:1293-1298.

Kerem Z., Lev-Yadun S., Gopher A., Weinberg P. and Abbo S. (2007). Chickpea domestication in the Neolithic Levant through the nutritional perspective. *Journal of Archaeological Science*, 34(8):1289-1293.

Khamna S., Yokota A., Peberdy J.F. and Lumyong S. (2010). Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *Eurasia. Journal of BioScience*, 4: 23-32.

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

Khan M. S.A., Ramsey M.D., Corbiere R., Infantino A., Porta-Puglia A., Bouznad Z. and Scott E.S. (1999). *Ascochyta* blight of chickpea in Australia: identification, pathogenicity and mating type, *Plant Pathology*, 48 : 203.-234.

Khebizi N., Boudjella H., Bijani C., Bouras N., Klenk H. P., Pont F., Mathieu F. and Sabaou N. (2018). Oligomycins A and E, major bioactive secondary metabolites produced by *Streptomyces* sp. strain HG29 isolated from a Saharan soil. *Journal de Mycologie Médicale*, 28 : 150-160.

Kheloufi A. (2006). Induction de la calogènes chez quelques variétés de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) Option Ecophysiologie végétale. Département de biologie, université D'Oran – ES SENIA. 2006 : 15p.

Kheni J., Kothari V., Rathod K., Rathod V., Padhiyar S., Bhalara R., Tomar R.S., Parakhiya M.V. and Golakiya B.A. (2017). Morphological and metabolic characterization of wilt disease (*fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*) in chickpea (*Cicer arietinum* L.) *Research Journal of Agriculture and Forestry Sciences*, 5(7): 12-19.

Kim S.B., Lee J.Y. and Hwang B.K. (1998). Diversity of actinomycetes antagonistic to plant pathogenic fungi in cave and sea-mud soils of Korea. *Journal of Microbiology*, 36 : 86-92.

Krassilnikov N. A. (1941). *Classification of Ray-fungi. Actinomycetales.* Academy of Sciences of the USSR, Moscow, 148.

Kroppenstedt R. M. (1985). Fatty acid and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. *Chem. Methods Bact. Syst. No 20 SAB Tech. Ser.* 173-199.

Kumar M., Yusuf M.A. and Nigam M. (2018). An Update on Genetic Modification of Chickpea for Increased Yield and Stress Tolerance. *Molecular Biotechnology*, doi.org/10.1007/s12033-018-0096-1.

-L-

- Labdi M. (1990).** Contribution à l'étude de la variabilité d'isolats d'*Ascochyta rabiei* agent de l'antracnose du pois chiche en Algérie. Diplôme d'Agronomie Approfondie. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Montpellier, France. 36 p.
- Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 4: 113-121.
- Ladizinsky G. (1975).** A new Cicer from Turkey. *Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh*, 34 : 201-202.
- Ladizinsky G. (1987).** Pulse domestication before cultivation. *Economic Botany*, 41: 60-65.
- Lamari L., Zitouni A., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Lebrihi A., Lefebvre G., Seguin E. and Tillequin F. (2002a).** New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *Journal of Antibiotic (Tokyo)*, 55: 696-701.
- Lamari L., Zitouni A., Dob T., Sabaou N., Lebrihi A., Germain P., Seguin E. and Tillequin F. (2002b).** New dithiolopyrrolone antibiotics from *Saccharothrix* sp. SA 233. II. Physicochemical properties and structure elucidation. *Journal of Antibiotic (Tokyo)*, 55: 702-706.
- Landa B.B., Navas-Cortes J.A. and Jimenez-Diaz R.M. (2004).** Integrated management of *Fusarium* wilts of chickpea with sowing date, host resistance and biological control. *Phytopathology*. 94: 946-960.
- Laumont P. et Chevassus A. (1956).** Notes sur l'amélioration du pois chiche en Algérie. *Ann. De l'I.N.A.*, X 2: .1-14.
- Lazali M., Louadj L., Ounane G., Josiane A., Amenc L., Bargaz A., Lullien-Pellerin V. and Drevon J.J. (2014).** Localization of of phytase transcripts in germinating seeds of common bean *Phaseolus vulgaris* inbred line. *Planta*, 240 :471-478.
- Lechevalier M.P. and Lechevalier H.A. (1980).** The chemotaxonomy of actinomycetes. In: Actinomycetes taxonomy: society for industrial microbiology. Special publication number A6, Dietz A. & Thayer D. W. (eds.), Arlington, Virginia society of industrial microbiology, pp. 225-292.
- Lechevalier M.P. (1981).** Ecological associations involving actinomycetes. In: *Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, 11: 159-166.
- Leport L., Turner N.C., Davies S.L. and Siddique K.H.M. (2006).** Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *European Journal of Agronomy*, 24: 236-246.
- Leslie J.F. and Summerell B.A. (2006).** The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell, Iowa, 388 p.

Lucas. J.A. (1998). Plant pathology and plant pathogens, 3rd edn. Blackwell Science, 274 p.

Ludwing W., Euzéby J., Schumann P., Busse H. J., Trujillo M. E., Kämpfer P. & Whitman W. B.(2012). Road map of the phylum *Actinobacteria*. In *Bergey's Manual® Syst. Bacteriol.*, Springer, New York, NY, pp. 1–28.

-M-

Madigan M. T., Martinko J. M., Stahl D. A. and Clark D. P. (2012). *Brock Biology of Microorganisms*, 13th edition. Boston, Mass.: Pearson.

Magalhaes .L.T., Coelho L. and Donizete Tebaldi. N. (2015). Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates and Resistance of passion fruit genotypes to Fusariosis. *Revista Brasileira Fruticultura.*, 39 (3): doi 10.1590/0100-29452017415.

Maggia L. (1991). Diversité génétique de *Frankia*. symbiote de *Casuarzana equisetifolia* en Afrique de l'ouest (Sénégal et Gambie). Thèse de doctorat, Université de Paris, 142 p.

Meklat A., Sabaou N., Zitouni A., Mathieu F. and Lebrihi A. (2011). Isolation, taxonomy, and antagonistic properties of halophilic actinomycetes in Saharan soils of Algeria. *Applied and Environmental Microbiology*, 77: 6710-6714.

Meklat A. (2012). Taxonomie et potentiel antagoniste des actinomycètes halophiles des sols sahariens et mise en évidence de nouvelles espèces d'*Actinopolyspora*. Thèse de Doctorat, Ecole Normale Supérieure de Kouba - Alger, 211p.

Meklat A., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P. and Sabaou N. (2013). *Actinopolyspora righensis* sp. nov., a novel halophilic actinomycete isolated from Saharan soil in Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, doi: 10.1007/s10482-012-9859-z.

Meklat A., Bouras N., Riba A., Zitouni A., Mathieu F., Rhode M., Schumann P., Spröer C., Klenk H.P. and Sabaou N. (2014). *Streptomonospora algeriensis* sp. nov., a halophilic actinomycete isolated from soil in Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106:287-292.

Meklat A., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Schumann P., Spröer C., Klenk H.-P. and Sabaou N. (2015). *Bounagaea algeriensis* gen. nov., sp. nov., an extremely halophilic actinobacterium isolated from a Saharan soil of Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 108: 473–482.

Merad Boudia Y. (2017). Biologie des populations des insectes: cas de la bruche du pois chiche *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). Mémoire de Master, option : Génétique des populations, Tlemcen, 47p.

Merrouche R. (2000). - Influence d'une souche de *Saccharothrix* (*Actinomycetales*) et de son antibiotique, la thiolutine, sur l'expression de la fusariose vasculaire de quelques plantes cultivées. Magister de microbiologie, E.N.S. de Kouba, 101p.

Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Monje M.C., Sabaou N. and Lebrihi A. (2010). Dithiopyrrolone antibiotic formation induced by adding valeric acid to the culture broth of *Saccharothrix algeriensis*. *Journal of Natural Product*, 73: 1164-1166.

Merrouche R., Bouras N., Coppel Y., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A. (2011). New dithiopyrrolone antibiotics induced by adding sorbic acid to the culture medium of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *FEMS Microbiology Letters*, 318:41-46.

Merrouche R., Yekkour A., Lamari L., Zitouni A., Mathieu F. and Sabaou N. (2017). Efficiency of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137 and its produced antifungal dithiopyrrolones compounds to suppress *Fusarium oxysporum*-induced wilt disease occurring in some cultivated crops. *Arabian Journal of Science and Engineering*, 42: 2321-2327.

Merrouche R., Yekkour A., Coppel Y., Bouras N., Lamari L., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2018). Effective biosynthesis of benzoyl-pyrrothinedithiopyrrolone antibiotic by cinnamic acid-precursor addition in culture of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Letters in Applied Microbiology*, 68: 165-172.

Merrouche R., Yekkour A., Coppel Y., Bouras N., Lamari L., Zitouni A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2019). Effective biosynthesis of benzoyl-pyrrothinedithiopyrrolone antibiotic by cinnamic acid-precursor addition in culture of *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Letters in Applied Microbiology*. 68:165-172.

Merrouche R., Yekkour A., Coppel Y., Bouras N., Zitouni A., Mathieu F. and Sabaou N. (2020). *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137. *Archive Microbiology*. doi.org/10.1007/s00203-020-01971-3.

Michielse C.B. and Rep M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 10:311-324.

Moncheva P., Tishkov S., Dimitrova N., Chipeva V., Antonova-Nikolova S. And Bogatzevska N. (2002). Characteristics of soil actinomycetes from Antarctica. *Journal of Culture Collections*, 3: 3-14.

Mulissa J. M., Carolin R. L., Ruth A. S. and Fassil A. (2015). Phosphate solubilization and multiple plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from chickpea (*Cicer arietinum* L.) producing areas of Ethiopia. *African Journal of Biotechnology*, 15 (35) doi: 10.5897/AJB2015.15172.

-N-

Navas –Cortés J. A., Hau B. and Jimenez-Diaz R. M. (1998). Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *Ciceris* on development of *Fusarium* wilt of chickpea. *Phytopathology*, 88, pp: 1338-1346.

Navas-Cortés J.A., Alcalá-Jiménez A.R., Hau B. and Jiménez-Díaz R.M. (2000). Influence of inoculum density of races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on

development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars. *European Journal of Plant and Pathology*, 106:135–146.

Navas-Cortés J.A., Landa B.B., Méndez-Rodríguez M.A. and Jiménez-Díaz R.M. (2007). Quantitative modeling of the effects of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* races 0 and 5 on development of *Fusarium* wilt in chickpea cultivars. *Phytopathology*, 97: 564–573.

Nelson P.E., Toussoun T.A. and Marasas W.F.O. (1983). *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, Pennsylvania, USA.

Nelson P.E. (1981). Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Mace ME, Bell AA, Beckman CH, editors. *Fungal Wilt Diseases of Plants*. NY:Academic Press. 51-80.

Nene, Y.L. (1979). Diseases of chickpea. In: Proc. Int. Workshop of chickpea Improvement. ICRIAT, Hyderabad, India, pp. 171-187.

Neumann G. and Römheld V. (1999). Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. New approaches to studying chemical and physical changes in the rhizosphere. *Plant and Soil*, 211 (1): 121-130.

Normand P. and Benson D.R. (2012). Order XVI *Frankiales*, *Bergey's Manual of Systematic and Bacteriology*, 5: 508–510.

-O-

O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E. and Randy C.P. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95: 2044-2049.

O'Donnell K., Sutton D.A., Rinaldi M.G., Magnon K.C., Cox P.A., Revankar S. G., Sanche S., Geiser D.M., Juba J.H., Burik J.H., Padhye A., Anaissie I. J., Francesconi A., Walsh T.J. and Robinson R.J. (2004). Genetic diversity of human pathogenic members of the *Fusarium oxysporum* complex inferred from multilocus DNA sequence data and amplified fragment length polymorphism analyses: Evidence for the recent dispersion of a geographically widespread clonal lineage and nosocomial origin. *Journal of Clinical Microbiology*, 42: 5109-5120.

Okoro C.K., Brown R., Jones A.L., Andrews B.A., Goodefellow M. and Bull A.T. (2009). Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. *Antonie Leeuwenhoek*, 95 : 121- 133.

Ortoneda M., Guarro J., Madrid M.P., Caracuel Z., Roncero M.I.G., Mayayo E. and Di Pietro A. (2004). *Fusarium oxysporum* as a multihost model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. *Infection and Immunity*, 72:1760-1766.

Ozbay N. and Newman S. E. (2004). *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal*, 3: 9-18.

-P-

Pande S., Narayana R.J. and Sharma M. (2007). Establishment of the chickpea wilt pathogen *Fusarium oxysporium* f.sp. *Ciceris* in the soil through seed transmission. *The Plant Pathology Journal*, 1: 3-6.

Pathom-aree W., Ward A.C., Horikoshi K., Bull A.T. and Goodfellow M. (2006). Diversity of actinomycetes isolated from the Challenger Deep sediment (10898 m). from the Mariana Trench. *Extremophiles*, 10: 181- 189.

Peltola H. (2001). Burden of Meningitis and Other Severe Bacterial Infections of Children in Africa: Implications for Prevention. *Clinical Infectious Diseases*, 32 :64–75.

Pratap A. and Kumar J. (2011). Biology and breeding of food legumes. Centre for Agriculture and Biosciences International. 432p.

Prauser H. (1981). Nocardiform organisms: general characterization and taxonomic relationships. *Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. Suppl.* 11: 17-24.

Prescott L. M., Willey J. M., Sherwood L. and Woolverton C. J. (2013). *Microbiologie*, 4ème édition. De Boeck Supérieur, 1068p.

Promnuan Y., Kudo T., Ohkuma M. and Chantawannakul P. (2011). *Actinomadura apis* sp. nov., isolated from a honey bee (*Apis mellifera*). hive, and the reclassification of *Actinomadura cremea* subsp. *Rifamycini* Gauze et al. 1987 as *Actinomadura rifamycini* (Gauze et al. 1987). sp. nov., comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 61: 2271-2277.

-Q-

Qin S., Zhao G. Z., Li J., Zhu W. Y., Xu L. H. and Li W. J. (2009). *Actinomadura flavalba* sp. nov., an endophytic actinomycetes isolated from leaves of *Maytenus austroyunnanensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59: 2453-2457.

-R-

Roberts E.H., Summerfield R.J., Minchin F.R. and Haley P., (1980). Phenology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in contrasting aerial environments. *Experimental Agriculture*, 16: 343-360.

Rajesh K.M., Gowda G. and Mridula R. and Mendon R. (2001). Chlorophyll a and phaeopigments of brackishwater ponds along Nethravathiestuary, Mangalore *Journal of the Inland Fisheries Society of India*, 33 (2): 6-11.

Raju S., Jayalakshmi S. K. and Sreeramulu K. (2008). Comparative study on the induction of defense related enzymes in two different cultivars of chickpea (*Cicer arietinum*

L.) genotypes by Salicylic acid, spermine and *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Australienne Journal of Crop Science*, 3: 121-140.

Rana A., Sahgal M. and Johri B.N. (2017). *Fusarium oxysporum*: Genomics, Diversity and Plant–Host Interaction. In: Satyanarayana T., Deshmukh S., Johri B. (eds) *Developments in Fungal Biology and Applied Mycology*. Springer, Singapore. doi : 10.1007/978-981-10-4768-8_10.

Rapilly F. (1969). Technique de mycologie en pathologie végétale. *Annales des Epiphyties*, 102p.

Rawasheh R., Saadoun I. and Mahasneh A. (2005). Effect of culturel conditions on xylanase production by *Streptomyces* sp. (strain Ib 24D) an dits potential to utilize tomato pomace. *African Journal of Biotechnology*, 4: 251-255.

Reis I., Martins M.K., Carvalho C.M., Azevedo J.L., De. and Lima R.E., De. (2012). The effect of varying culture conditions on the production of antibiotics by *Streptomyces* spp., isolated from the Amazonian Soil. *Fermentation Technology*, 1: 1-5.

Rekha K. T. And Thiruvengadam M. (2009). An efficient Micropropagation of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Phillip Agriculture Scientists*, 3:320-326.

Rouibah M. (1989). The contribution to the study of the wilting of the chickpeas in Algeria. *Institut National Agronomique*, El-Harrach. Algérie, 51p.

-S-

Sabaou N., Amir H. et Bounaga N. (1980). Le palmier dattier et la fusariose X. – Dénombrement des actinomycètes de la rhizosphère: leur antagonisme vis-à-vis du *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Annales de phytopathologie*, 12: 253-257.

Sabaou N., Hacène H., Bennadji A., Bennadji H. et Bounaga N. (1992). Distribution quantitative et qualitative des actinomycètes dans les horizons de sol de surface et profonds d'une palmeraie algérienne. *Canadian Journal of Microbiology*. 38: 1066-1073.

Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L., Bennadji H., Lefebvre G. et Germain P. (1998). Les sols des oasis du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*, 9: 147-153.

Sabaratham S. and Traquair J. A. (2001). Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of *Rhizoctonia* damping-off in tomato transplants. *Biological Control*, 23: 245-253.

Sadiki M. et Halila H., (1997). Les ressources génétiques des légumineuses à graines et leur utilisation dans les pays du pourtour méditerranéen. *Colloque de l'INRA France*, 33 p.

Saker R., Bouras N., Zitouni A., Ghoul M., Rhode M., Schumann P., Spröer C., Sabaou N. and Klenk H.P. (2014). *Mzabimyces algeriensis* gen. nov., sp. nov., a halophilic

filamentous actinobacterium isolated from a Saharan soil, and proposal of *Mzabimycetaceae* fam. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106: 1021-1030.

Samri S.E., Baz M., Ghalbane I., El Messoussi S., Zitouni A., El Meziane A. and Barakate M. (2017). Insecticidal activity of a Moroccan strain of *Streptomyces phaeochromogenes* LD-37 on larvae, pupae and adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research*, 107: 217-224.

Sanglier J.J., Haag H., Huck T.A. and Fehr T. (1993). Novel bioactive compounds from Actinomycetes: a short review (1988–1992) Nouveaux composés bio-actifs isolés d'Actinomycètes. *Research in Microbiology*, 144, 633-642.

Santhanam R., Okoro C.K., Rong X., Huang Y., Bull A.T., Andrews B.A., Asenjo J.A., Weon H.Y. and Goodfellow M. (2012). *Streptomyces deserti* sp. nov., isolated from hyper-arid Atacama Desert soil. *Antonie van Leeuwenhoek*, 101: 575-581.

Sassene A. (1989). Etude de la fertilisation et de l'inoculation du pois chiche. Mémoire d'Ingénieur en Agronomie, INA, Algérie, 77p.

Sathya A., Vijayabharathi R. and Gopalakrishnan S. (2017). Plant growth-promoting *Actinobacteria*: a new strategy for enhancing sustainable production and protection of grain legumes. *3 Biotech.*, 7: 102.

Saxena N.P. (1984). Chickpea. In: Goldsworthy P.R., Fisher N.M. *The Physiology of Tropical Field Crops*, pp. 419-452.

Schippers B. and van Eck W.H. (1981). Formation and survival of chlamydospores in *Fusarium*: In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ (eds) *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. Penn State University Press, University Park, pp. 250-260.

Sessitsch A., Hardoim P., Döring J., Weilharter A., Krause A., Woyke T., Mitter B., Hauberg-Lotte L., Friedrich F., Rahalkar M., Hurek T., Sarkar A., Bodrossy L., Overbeek vanBrar D., Elsas J.D. and Reinhold-Hurek B. (2012). Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *Molecular Plant Microbe Interaction*, 25: 28-36.

Shah T.S., Babar M. A., Iqbal J. M. and Ahsanul M.H. (2009). Screening of chickpea (*Cicer arietinum*) induced mutants against *Fusarium* Wilt. *Pakistan Journal of Botany*, 4:1945-1955.

Shehabu M, Ahmed S. and Sakhuja P.K. (2008). Pathogenic variability in Ethiopian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* and reaction of chickpea improved varieties to the isolates. *International Journal of Pest Management*, 54: 143–149.

Sidaoui A., Karkachi N., Bertella-Boudeffeur S., Chhiba M., Tebyaoui A., El Goumi Y. and Kihal M. (2017). Morphological study and Characterisation of *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* by Isozymes systems. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 8(1) 1764-1768.

- Si Mohammed A., Hamini Kadar N. , Kihal M., Henni D., Sanchez J., Gallego E. and José Antonio Garrido-Cardenas A.G. (2016).** Characterization of *Fusarium oxysporum* isolates from tomato plants in Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(30) : 1156-1163.
- Singh A., Mehta S., Singh H. B. and Nautiyal C.S. (2003).** Biocontrol of collar rot disease of betelvine (*Piper betle*L.) caused by *Sclerotium rolfsii* by using rhizosphere-competent *Pseudomonas fluorescens* NBRI-N6 and *P. fluorescens* NBRI-N. *Current Microbiology*, 47: 153-158.
- Singh F. and Diwakar., (1995).** Chickpea botany and production Practices. Skill Development series ICRISAT, India, 16: 502- 324.
- Singh K.B. and Reddy M.V. (1991).** Advances in disease-resistance breeding in chickpea. *Advances in agronomy*. 45: 191-222.
- Singh R. and Jauhar P. (2005).** Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement: Grain Legumes, Volume 1, CRC Press, 390p.
- Singh Saharan B., Grewal A. and Kumar P. (2014).** Biotechnological Production of Polyhydroxyalkanoates: A Review on Trends and Latest Developments. *Chinese Journal of Biology*,: 2014: 1-18.
- Singh S.S. and Yadav S.K. (2007).** Comparative efficacy of insecticides, biopesticides and neem formulations against *Helicoverpa armigera* on chickpea. *Annals of Plant Protection Sciences*, 15 : 0971-3573
- Slama F. (1998).** Cultures industrielles et légumineuses à graines. Centre de diffusion Universitaire Tunisie, en Arabe. 300 p.
- Sophie H. (2015).** Identification de *Fusarium* et détection des mycotoxines associées par MALDI-TOF. Thèse de doctorat. Université de Lorraine. France. 117 p.
- Sreedharan V. and Rao K.B. (2017).** Efficacy of protease inhibitor from marine *Streptomyces* sp.VITBVK2 against *Leishmania donovani*- An in vitro study. *Experimental Parasitology*, 174: 45–51.
- Stackebrandt E., Rainey F. and Ward-Rainey N. L. (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of Systematic and Bacteriology*, 47: 479-491.
- Stackebrandt E. and Schumann P. (2006).** Introduction to the Taxonomy of Actinobacteria. *Prokaryotes*, 3: 297-321.
- Stępień, L., Lalak-Kańczugowska, J., Natalia Witaszak, N. and Urbaniak, M. (2019).** *Fusarium* Secondary Metabolism Biosynthetic Pathways: So Close but So Far Away. pp. 211-247.

Stoner M.F. (1981). Ecology of Fusarium in non-cultivated soils. In: Nelson P.E., Toussoun T.A., Cook R.J. (Eds.) *Fusarium: diseases, biology, and taxonomy*. The Pennsylvania State University Press, University Park, pp. 276-286.

Strap J.L. (2011). Actinobacteria Plant interactions: A boon to agriculture. In Maheshwari D. K. (ed.) *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Springer Heidelberg Dordrecht, London NewYork, pp. 285-309.

Suzuki K., Nagai K., Shimizu Y. and Suzuki Y. (1994). Search for actinomycetes in screening for new bioactive compounds. *Actinomycetologica*, 8: 122-127.

-T-

Taechowisan T., Perberdy J.F. and Lumyong S. (2003). Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19:381–385.

Thakur D., Yadav A., Gogoi B. K. and Bora T. S. (2007). Isolation and screening *Streptomyces* in soil from areas from the states of assam and tripura, india, for antimicrobial metabolites. *Journal of medical Microbiology*, 17: 242-249.

Thajuddin N., Muralitharan G., Dhanasekaran D. and Ilyas M.H.M. (2015). Microbial symbionts of plants booktitle. In: *Plant Biology and Biotechnology*. Springer, pp. 281–306.

Theilleux J. (1994). Les actinomycetes. In: *Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel*. (Leveau, J.Y. and Bouix, M. (Eds). Collection Sciences et Techniques agro-alimentaires.

Trapero-Casas A. and Jiménez-Díaz R.M. (1985). Fungal wilt and root rot diseases of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*, 75:1146-1151.

Tunesi S., Poggi V. and Gessa C. (1999). Phosphate adsorption and precipitation in calcareous soils: the role of calcium ions in solution and carbonate minerals. *Nutrient Cycling inAgroecosystems*, 53: 219-227.

-U-

Upadayay R.K. and Mukerji K.G., (1999). Biotechnological approaches in bio-control of plant pathogens. New York, Kluwer Academic.

Upasani M.L., Gurjar G.S., Kadoo N.Y. and Gupta V.S .(2016). Dynamics of Colonization and Expression of PathogenicityRelatedGenes in *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* during Chickpea Vascular Wilt disease Progression. *PLoS ONE*, 11(5): 1-21, doi:10.1371/journal.pone.0156490.

Uroz S., Buee M., Murat C., Frey-Klett P. and Martin F. (2010). Pyrosequencing reveals a contrasted bacterial diversity between oak rhizosphere and surrounding soil. *Environmental Microbiology Research*, 2: 281-288.

-V-

Van der Maesen. L.J.G. (1987). Origin, history and taxonomy of chickpea. In: M.C. Saxena and K.B. Singh, (Eds.). *The Chickpea*. CAB International, UK, pp. 11-34.

Verheecke C., Leiboz T., Darriet M., Sabaou N. and Mathieu F. (2014). *In vitro* interaction of actinomycetes isolates with *Aspergillus flavus*: impact on aflatoxins B1 and B2 production. *Letters of Applied Microbiology*, 58: 597-603.

Verheecke C., Liboz T., Anson P., Diaz R. and Mathieu F. (2015). Reduction of aflatoxin production by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in interaction with *Streptomyces*. *Microbiology*, 161: 967-972.

Viaene T., Langendries S., Beirinckx S., Maes M. and Goormachtig S. (2016). *Streptomyces* as a plant's best friend. *FEMS Microbiology and Ecology*., 92: 1-42.

-W-

Wang N., Lewis M. J., Brennan J. G. and Westby A. (1997). Effect of processing methods on nutrients and anti-nutritional factors in cowpea. *Food Chemistry*, 58: 59-68.

Wellington E.M. and Ul-Hassan A. (2009). Actinobacteria. In: Moselio S. (ed.), *Encyclopedia of microbiology* Elsevier, Oxford, pp. 26-44.

Westerlund J. R.N., Campbelle . and Kimble K .A. (1974). Fungal root rots and wilt of chickpea California . *Phytopathology*, 64 :432-436.

Weyland H. (1981). Distribution of actinomycetes on the sea floor. In: Schaal K. and Pulverer G., (Eds.), *Actinomycetes*. Zbl. Bakt. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, New York. Suppl., 11: 185-193.

Wollenweber H.W. and Reinking O.A. (1935). Die Fusarien, ihre Beschreibung. Schadwirkung und Bekämpfung. P, Parey, Berlin, p 365.

-Y-

Yadav S. S., Redden R., Chen W. And Sharma B. (2007). Chickpea breeding and management. Cambridge library of congress. 65-70.

Yassien M., Abdallah H., El-Halawany A. and Jiman-Fatani A. (2015). Anti-tuberculous activity of treponemycin produced by a *Streptomyces* Strain MS-6-6 Isolated from Saudi Arabia. *Molecules*., 20: 2576-2590.

-Z-

Zaim S., Bekkar A.A., Bellaheen M . et Beabid L .(2010). Effets des antagonistes du pois chiche sur l'infection par *Fusarium oxysporum* f.sp.cicer.1^{er} séminaire National sur la protection des plantes cultivées. Universitaire de Khemis Miliana .Institut des sciences de la nature et de la terre 25-26 mai 2010.

Zamoum M, Yacine G, Nasserline S, Barakat M, Florence M. and Abdelghani Z. (2016). Biocontrol Capacities and Plant Growth-Promoting Traits of Endophytic Actinobacteria Isolated from Native Plants of Algerian Sahara. *Plant Disease. Protection*, 122: 215-223.

Zine -Zikara F., Bouzid L. et Yekkour A. (2015). Le pois chiche en Algérie : Situation, Potentialités et Perspectives. *INRAA*, 17: 35-36.

Zimmerman W. (1990). Degradation of lignin by bacteria. *Journal of Biotechnology*, 13 : 129-130.

Zitouni A., Lamari L., Boudjella H., Badji B., Sabaou N., Gaouar A., Mathieu F., Lebrihi A. and Labeda D. P. (2004a). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54: 1377-1381.

Zitouni A., Boudjella H., Mathieu F., Sabaou N. and Lebrihi A. (2004b). Mutactimycin PR, a new anthracycline antibiotic from *Saccharothrix* sp. SA 103: I. Taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *Journal of Antibiotic*, 57: 367-372.

Zitouni, A., Boudjella, H., Lamari, L., Badji, B., Mathieu, F., Lebrihi, A. and Sabaou, N. (2005). *Nocardioopsis* and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology*, 156: 984–993.

ANNEXES

Annexe 1: Milieux de cultures
1. Milieu de culture Potato dextrose Agar (PDA)

filtrat de pomme de terre	500 mL
Glucose	20 g
Agar	10 g
Eau distillée	500 mL

2. Milieu d'isolement Peptone Pentachloronitrobenzene (PCNB) agar

Peptone	15 g.
KH ₂ PO ₄	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
PCNB,	1g diluée en 20 ml de toluène
Agar	20 g
eau distillée	1000 mL
chlorophinicole	50 mg
Streptomycine	(100mg/L) 20 ml/L (ajouté après l'autoclavage).

3. Milieu identification Spezieller Nährstoffarmer Agar (SNA)

KH ₂ PO ₄	1 g
KNO ₃	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
KCl.....	0.5 g
Glucose	0.2 g
Sucrose.....	0.2 g
Agar	20 g
eau distillée	1000 mL

Milieu International *Streptomyces* Project 2 (ISP2)

Extrait de levure.....	4 g
Extrait de malt.....	10
Glucose	4g
Agar	20 g
Eau distillée	1000 mL

Le pH du milieu ISP2 est de 7,2 et le pH des autres milieux est 6,5.

ANNEX 2: Screening de l'activité antifongique des 88 souches d'actinobactéries testées.

Les chiffres représentent les diamètres des zones d'inhibition (mm).

* R= résistant, aucune zone d'inhibition n'a été notée.

* Le diamètre du cylindre d'agar (8 mm) n'est pas compris.

AC: Actinobactéries, **FOC:** *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, **FOP:** *F. O. f. sp. pisi*.

AC \ FOC	FPW1	FPW3	FPW5	FPW6	FPY2	FPY4	FOP alg3
Ac1	12	14	12	R	12	13	16
Ac2	R	R	R	R	R	R	R
Ac3	R	R	R	R	R	R	R
Ac4	R	R	R	R	R	R	R
Ac5	R	R	R	R	R	R	R
Ac6	R	R	R	R	R	R	R
Ac7	R	R	R	R	R	R	R
Ac8	R	R	R	R	R	R	R
Ac9	R	R	R	R	R	R	R
Ac10	R	R	R	R	R	R	R
Ac11	R	R	R	R	R	R	R
Ac12	R	R	R	R	R	R	R
Ac13	20	20	22	R	16	24	18
Ac14	R	R	R	R	R	R	R
Ac15	12	12	12	R	14	12	12
Ac16	12	R	10	12	14	14	14
Ac17	R	R	R	R	R	R	R
Ac18	R	R	18	R	20	12	18
Ac19	R	R	R	R	R	R	R
Ac20	R	R	R	R	R	R	R
Ac21	R	R	R	R	R	R	R
Ac22	R	R	R	R	R	R	R

Ac23	R	R	R	R	R	R	R
Ac24	12	12	12	18	20	12	12
Ac25	R	R	R	R	R	R	R
Ac26	R	R	R	R	R	R	R
Ac27	R	R	R	R	R	R	R
Ac28	R	R	R	R	R	R	R
Ac29	R	R	R	R	R	R	R
Ac30	R	R	R	R	R	R	R
Ac31	R	R	R	R	R	R	R
Ac32	R	R	R	R	R	R	R
Ac33	R	R	R	R	R	R	R
Ac34	R	R	R	R	R	R	R
Ac35	R	R	R	R	R	R	R
Ac36	R	R	R	R	R	R	R
Ac37	R	R	R	R	R	R	R
Ac38	R	12	R	R	10	R	R
Ac39	12	16	12	12	12	18	12
Ac40	16	20	14	16	20	18	12
Ac41	14	16	20	R	20	18	20
Ac42	R	R	18	R	R	R	R
Ac43	R	R	R	R	R	R	R
Ac44	R	R	R	R	R	R	R
Ac45	R	R	R	R	R	12	R
Ac46	R	R	R	R	R	R	20
Ac47	14	18	R	18		18	12
Ac48	13	14	R	14	14	12	16
Ac49	R	R	R	R	R	R	R
Ac50	R	R	R	R	R	R	R
Ac51	20	24	24	24	24	24	16
Ac52	R	R	R	R	R	R	R
Ac53	R	R	R	R	R	R	R
Ac54	R	R	R	R	R	R	R
Ac55	R	R	R	R	R	R	R

Ac56	R	R	R	R	R	R	R
Ac57	R	R	R	R	R	R	R
Ac58	R	R	R	R	R	R	R
Ac59	R	R	R	R	R	R	R
Ac60	R	R	R	R	R	R	R
Ac61	R	R	R	R	R	R	R
Ac62	R	R	R	R	R	R	R
Ac63	10	12	10	10	12	14	12
Ac64	R	R	R	R	R	R	R
Ac65	R	R	R	R	R	R	R
Ac66	14	16	14	10	14	14	14
Ac67	R	R	R	R	R	R	R
Ac68	R	R	R	R	R	R	R
Ac69	R	R	R	R	R	R	R
Ac70	10	R	10	10	16	12	R
Ac71	10	R	12	18	18	R	R
Ac72	10	R	14	10	12	R	R
Ac73	R	R	R	R	R	R	R
Ac74	R	R	R	R	R	R	R
Ac75	R	R	R	R	R	R	R
Ac76	R	R	R	R	R	R	R
Ac77	R	R	R	R	R	R	R
Ac78	R	R	R	R	R	R	R
Ac79	R	R	R	R	R	R	R
Ac80	R	R	R	R	R	R	R
Ac81	10	10	R	12	12	12	10
Ac82	R	R	R	R	R	R	R
Ac83	R	R	R	R	R	R	R
Ac84	R	R	R	R	R	R	R
Ac85	R	R	R	R	R	R	R
Ac86	R	R	R	R	R	R	R
Ac87	R	12	12	R	14	12	14
Ac88	R	R	R	R	R	R	R