



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم الفلاحية

Département des Sciences Agronomiques



UNIVERSITE MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : protection des végétaux

Thème

**Efficacité de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé
contre *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* agent de la fusariose
vasculaire de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) et amélioration
des propriétés chimiques et microbiologiques du sol.**

Présenté par : CHAA Chahinez

Devant le jury :

Président : M. D. ALLILI MAA (Université de BBA)
Encadrant : M. D. MOUTASSEM MAA (Université de BBA)
Examinateur 1 : M^{me} S. ZIOUCHE MAA. (Université de BBA.)

Année universitaire : 2017/2018

Remercîment

Mes remerciements sont d'abord au Dieu tout puissant de m'avoir donné la force et la patience pour terminer ce travail.

J'exprime ma reconnaissance à Mr. D. MOUTASSEM pour avoir accepté de m'encadrer. Ses conseils, ses orientations m'ont été très bénéfiques pour la réalisation de cette mémoire, qu'il soit rassuré de ma profonde gratitude.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur D. ALLILI qui me fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Je remercie Madame S. ZIOUCHE qui a eu l'amabilité d'accepter de faire partie du jury de ce travail.

Ma gratitude s'adresse aussi à tout le personnel de la pépinière d'el Hammadia, Bordj Bou Arreridj Algérie, pour leur aide, en particulier Monsieur le directeur.

Je tiens à remercier en particulier. K.REBAI, N. MEKHOUKH, F. et W. DHAMNA responsables des laboratoires pédagogiques de la faculté SNVSTU pour leurs disponibilités, leurs aides précieuses et leurs encouragements.

Je n'oublie pas de dire merci à nos enseignants depuis les années primaire jusqu'à ce jour.

A tous les amies de toujours, Pour toutes ces longues années d'amitié et pour avoir toujours été là pour moi. Pour tous les souvenirs que je partage avec chacune d'entre vous, pour tout ce qui nous rapproche et pour le meilleur qui reste à venir.

Enfin, J'exprime ma sincère reconnaissance à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à sa réalisation.

Dédicace

Ceux à qui je dois mon éducation, et ma réussite, ce qui sont les plus chers au monde, mes parents : pour leur amour et leur sacrifice.

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

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

A mes frères : Ammar, Abderraouf, que dieu me les gardes.

A mes sœurs : Fatima, Rahil, pour lesquels je souhaite une longue et heureuses vie pleine de bonheur.

A toute ma famille (CHAA et DAMA).

A tous mes amis et mes collègues surtout : Amina, Basma, Hanen, Charazed, Hadjer, Imen, Randa, Rokaya, Mebrouk, Nadjib.

A tous mes collègues de ma promotion de spécialité protection des végétaux.

A tous ceux qui sacrifient leur vie pour le bien des êtres.

Chahinez Chaa

*On n'est jamais arrivé à aucune vérité sans s'être trompé
au moins quatorze fois ou peut-être même cent quatorze
et c'est peut-être un honneur en son genre.*

Fiodor Dostoïevski

Liste des tableaux

Tableau 1 : L'effet de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des conidies du FOC. Les valeurs représentent les moyennes de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seul 5%..... **32**

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du sol des sites expérimentaux S1 et S2. Les valeurs représentent la moyenne de 4 répétitions \pm SE (Erreur standard). Les lettres indiquent une différence significative entre les moyennes à $p < 0.05$ **35**

Liste des figures

Figure 1 : Schéma anatomique d'un plant de pois chiche: tige feuillue (A), feuille composé de 16 folioles (B), fleur zygomorphe (C), étamines, pistil et ovaire (D), gousses en développement (E), graines (F).	4
Figure 2 : Symptômes observés en plein champ (A) flétrissement vasculaire précoce dans (B). Symptômes de flétrissement vasculaire tardif (C)	10
Figure 3 : Cycle biologique de <i>Fusarium oxysporum</i>	11
Figure 4 : Plante du thym (<i>Thymus Pallescens</i> de Noé).....	19
Figure 5 : Appareillage de l'hydrodistillation de type <i>Clevenger</i>	20
Figure 6 : Efficacité des huiles essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé en culture hydroponique.....	23
Figure 7 : Traitement de sol et de plantules de pois chiche par la formulation de l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé.....	25
Figure 8 : Effet fongicide de l'huiles essentielles de <i>T.pallescens</i> de Noé vis-à-vis le Foc représenté par l'inhibition de la croissance mycélienne après 8 jours d'incubation à 25±3°C.....	29
Figure 9 : Effet de l'huiles essentielles <i>T.pallescens</i> de Noé sur la germination des conidies de Foc a) inhibition total de la germination b) la lyse des tubes germinatifs et c) témoin non traités.....	29
Figure 10 : Efficacité des huiles essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé en culture hydroponique.....	32
Figure 11 : Variation des taux des polyphénols (a et b) et des flavonoids (c et d) chez les plantules de pois chiche traitées avec l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé en culture hydroponique. Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à p<0,05.....	33
Figure 12 : Résultats des analyses mycologiques et bactériologiques des sols initiaux (a)Foc ; (b) <i>Trichoderma</i> (c) <i>Pseudomonass</i> pp. Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à p<0,05.....	35
Figure 13 : Symptômes de flétrissement vasculaire de pois chiche sur plantules de pois	

chiche. (a et b) représente le sol S1 et S2 traitées ; (c et d) les témoins S1 et S2 non traités.....	36
Figure 14 : Pathogénie des isolats du FOC issues de sol et des tiges des plantes malades.....	37
Figure 15 : Variations des valeurs de l’AUDPC chez les plantules traitées et non traitées avec l’huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé des deux sites expérimentaux. Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p<0,05$	37
Figure 16 : Poids sec de la partie aérienne (a) et le poids sec des nodules (b) dans le S1 et le S2 en réponse aux traitements par l’huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé. Les données sont les moyennes de 5 répétitions ± ES. Différence significative à $p<0,05$ et $p<0,01$, respectivement.....	38
Figure 17 : P-Olsen (mg kg^{-1}) dans le sol de la rhizosphère traités avec l’huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé (a et b) dans les deux sites expérimentaux (S1 et S2). Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p<0,05$	39
Figure 18 : N-Total (mg kg^{-1}) dans le sol de la rhizosphère du pois chiche dans les deux sites expérimentaux (S1 et S2) en réponse aux traitements par l’huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé. Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p<0,05$	40
Figure 19 : Variation d’espèces fongique et bactérienne dans le sol rhizosphérique traitées et non traitées des deux sites expérimentaux. Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p<0,05$	41
Figure 20 : Variation des teneurs en polyphénols et flavonoïdes chez les plantules des deux sites traitées avec l’huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé comparés avec les plantules non traitées. Les données sont les moyennes de 3 répétitions ± SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p<0,05$	42

Table de matière

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I. ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La plante hôte Pois chiche (<i>Cicer arietinum</i> L.)	3
1.1. Généralités	3
1.2. Origine et historique	3
1.3. Taxonomie et caractéristiques botaniques.....	3
1.4. Morphologie et physiologie de pois chiche.....	4
1.4.1. Caractères morphologiques.....	4
1.4.2. Caractères physiologiques.....	4
1.4.2.1. Période végétative	5
1.4.2.1. Période de reproduction	6
1.5. Exigences de la culture du pois chiche	6
1.5.1. Exigences édaphiques	6
1.6. Importance de la culture du pois chiche	7
1.6.1. Importance nutritionnelle	7
1.6.2. Importance agronomique	7
1.6.3. Importance économique	8
1.7. Les principales maladies du pois chiche	8
1.7.1. Maladies virales	8
1.7.2. Maladies bactériennes.....	8
1.7.3. Nématodes	8
1.7.4. Maladies cryptogamiques	8
2. La fusariose vasculaire	9
2.1. Taxonomie	9
2.2. Présentation de la maladie	9
2.2.1. Symptomatologie.....	9
2.2.2. Cycle de vie	10
2.2.3 Impact économique du FOC et répartition géographique dans le monde.....	11
3. Méthodes de lutte	12
3.1. Lutte culturale	12
3.2. Lutte chimique	12
3.3. Lutte biologique	13
4. Les huiles essentielles	14

4.1. généralité	14
4.2. Rôle physiologique	14
4.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante	14
4.4. Tissus sécréteurs.....	15
4.5. Les principales activités des huiles essentielles	15
4.5.1. Activité antifongique	15
4.5.2. Activités antimicrobien	16
4.5.3. Activité acaricide	16
4.5.4. Activité antioxydant	16
4.6. Toxicité des huiles essentielles	17
4.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	17
4.7.1. Extraction par hydro distillation des huiles essentielles	17
4.7.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau	17
4.7.3. Extraction à froid	18
4.7.4. Extraction par solvants organiques	18
4.7.5. Extraction par CO2 supercritique	18

CHAPITRE II. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel biologique	19
1.1. Matériel fongique.....	19
1.2. Matériel végétal.....	19
1.2.1. Plante hôte.....	20
1.2.2. Plante aromatique.....	20
2. Test in vitro.....	20
2.1 . Extraction des huiles essentielles et analyse de la composition chimique.....	20
2.2. Les Tests biologiques.....	21
2.2.1. Préparation des concentrations des huiles essentielles.....	22
2.2.2. Effet d'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé sur la croissance mycélienne et la sporulation de Foc.....	22
2.2.3. Effet de l'huile essentielle de <i>T.Pallescens</i> de Noé sur la germination de conidies.....	23
2.2.4. Test en culture hydroponique	23
2.2.5. Effet des huiles essentielles sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes...	24
3. Conditions expérimentales.....	25

3.1. Emplacement et caractéristiques climatiques du site expérimental.....	25
3.2. Caractéristiques physico-chimiques du sol expérimental.....	25
3.2.1. La mesure de pH.....	25
3.2.2. Conductivité électrique	25
3.2.3. Calcaire total.....	25
3.2.4. Phosphore assimilable.....	25
3.2.5. Dosage de l'azote total.....	26
3.3. Conduite et organisation de l'essai.....	26
3.3.1. Traitement des sols par l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé.....	26
3.3.2. Exploitation des résultats.....	27
3.3.2.1. Mesure de l'Incidence	27
3.3.2.2 Mesure de la sévérité d'attaque	28
3.3.2.3. Calcul de l'indice de Flétrissement (<i>DII</i>)	28
3.3.2.4. Calcul de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve).....	28
3.3.2.5. Récolte et la détermination de la biomasse aérienne et poids sec de la Nodosité.....	29
3.3.2.6. Récupération du sol rhizosphérique et analyse de N-Total et P-olsen.....	29
3.3.2.7. Analyse des teneurs en polyphénols et des flavonoïdes	29
4. Analyses statistiques	29

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats	30
1.1. Résultats in vitro	30
1.1.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé.....	30
1.1. 2. Effet antifongique de l'huile essentielle de <i>T.pallecsnes</i> de Noé sur le Foc...	32
1.1.3. Effet des traitements par l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé sur la sévérité de Foc en culture hydroponique.....	32
1.1.4. Effet des traitements par l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé sur le teneur des plantules de pois chiche en polyphénols et en flavonoïdes en culture hydroponique.....	33
1.2. Résultats des traitements in vivo	34
1.2.1 Typologie des sites étudiés	34
1.2.2. Résultats des analyses microbiologiques de sol	35
1.2.3. Résultats des traitements par les huiles essentielles	37

1.2.3.1. Description des symptômes de la maladie	37
1.2.3.2. Isolement, identification et pathogénicité de <i>Fusarium</i>	38
1.2.3.3. Variation de l'AUDPC en fonction le traitement par la formulation de <i>T.pallescens</i> de Noé	39
1.2.3.4. Variation de poids sec de la partie aérienne et la biomasse nodulaire en réponse aux traitements par l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé	39
1.2.3.5. Variation du (Olsen-P) assimilable dans la rhizosphère en réponse aux traitements par l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé	40
1.2.3. 6. Variation de N-Total rhizosphérique.....	41
1.2.3.7. Variation de la population microbiologique en réponse aux traitements par l'huile essentielle de <i>T.pallescens</i> de Noé.....	41
1.2.3.8. Quantification des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la partie aérienne.....	43
2. Discussion	44
CONCLUSION.....	50
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	52

Liste des abréviations

AUDPC	Area Under the Disease Progress Curve.
%	Pourcentage.
°C	Celsius.
AFNOR	Association Française de la Normalisation.
ANOVA	Analyse de la variance (Analyse of variance).
Caco3	Calcaire total.
CCDV	Chickpea Chlorotic Dwarf Virus.
CE	conductivité électrique.
cm	Centimètre.
Da	Croissance mycélienne moyenne dans le milieu en présence de l'huile.
Db	Croissance mycélienne moyenne dans le milieu sans huile (témoin).
DI	l'incidence.
DII	index de maladie.
Foc	<i>Fusarium oysporum</i> f sp <i>ciceris</i> .
g	Gramme
H	Heur.
HEs	les huiles essentielles.
I (%)	Le pourcentage d'inhibition.
IAA	Indole acide acétique
ISM ou S	la sévérité.
kg	Kilogramme
mg	Milligramme.
Min	Minute.
nm	Nanomètre.
Olsen-P	Phosphore assimilable.
PAL	Phénylanine ammonialyase
PDA	Potato Dextrose Agar.
PDB	Potato Dextrose Broth
PODs	Polyphénols oxydatifs
ppm	Particule par million
qx/ha	Quintaux par hectare
SE	Erreur standard.
sp	Espèce
<i>T</i>	Tymus.
T°	Température.
Total-N	Dosage de l'azote total.
<i>TR (min)</i>	Retention time
µg	Microgramme.

INTRODUCCION

Introduction

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est l'une des plus importantes légumineuses alimentaires cultivées dans le monde ; il occupe la 2^{ème} place après le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) (FOASAT, 2017). En effet, la culture de pois chiche occupe une place importante dans l'alimentation humaine, mais elle est loin d'avoir une place équivalente à celle des céréales dans le système de production.

En Algérie, les superficies emblavées par la culture du pois chiche sont de l'ordre de 30562 H. Cependant, la production nationale est de 276750 Q. Au plan national, les rendements moyens en pois chiche sont faibles, dont les plus élevés a été enregistré lors de la campagne 2012/2013 (7,4 qx/ha) (MADR, 2015).

Malgré les efforts déployés, la production nationale reste encore très insuffisante. Cette insuffisance est liée en premier ordre aux problèmes phytosanitaires (maladies, mauvaises herbes) (Toulaiti, 1988). De ce fait, chaque année l'Algérie à recours aux importations pour satisfaire les besoins de la population.

Sur pois chiche, le flétrissement vasculaire causé par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* Synder et Hansen « Padwick » est considéré comme étant l'une des maladies les plus importantes sur cette culture dans le monde. D'après (Reddy *et al.*, 1980), le flétrissement causé par *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* apparait comme la maladie la plus dévastatrice dans beaucoup de pays de culture de pois chiche, notamment en Afrique du Nord.

En Algérie, cette maladie est considérée parmi les maladies les plus importantes sur pois chiche ou des prospections réalisées dans différentes régions du pays, ont révélé la forte présence de cette maladie, surtout dans le Nord du pays, avec des attaques sévères notamment dans la région de Guelma et Skikda (Bella *et al.*, 2003), Mascara, Ain Timouchent et Sidi Bel Abbes (Ben Freha *et al.*, 2010).

En dépit des pertes économiques qu'ils entraînent, le contrôle de ce pathogène reste toujours limité à des mesures prophylactiques (Benhamou *et al.*, 1997). Cependant la lutte chimique demeure la principale mesure pour réduire la sévérité de la maladie, mais l'application à des concentrations élevées de ces produits chimiques synthétiques augmentent les risques de résidus toxiques et avoir pour conséquence l'émergence de pathogènes résistants aux fongicides spécifiques. Par ailleurs, sont responsables de divers problèmes de santé chez les humains et les animaux (Gerhardson, 2002). Pour pallier ce dysfonctionnement des agrosystèmes une variété de contrôles biologiques est disponible, mais le développement et l'adoption efficace exigera une meilleure compréhension des interactions entre les plantes, les agents biologiques et de l'environnement (Benhamou *et al.*, 1997).

Introduction

La rhizosphère est la fraction du sol directement influencée par les racines et les micro-organismes associés qui font partie du microbiote des végétaux. Elle est caractérisée par sa richesse en micro-organismes, et notamment les bactéries et champignons mitosporiques qui se nourrissent de ces composés, ainsi que des débris issus des cellules végétales mortes. La rhizosphère, c'est un lieu d'intenses échanges entre le végétal et le substrat minéral, qui peut être affecté par les caractéristiques physicochimiques et biologiques du sol et même par l'application des biofertilisants et les traitements chimiques et biologiques. Cette zone est devenue de plus en plus importante car elle constitue l'endroit où les plantes et les microbes interagissent les uns avec les autres (Hadar et Papadopoulou, 2012). Dans ce contexte, toutes les études actuelles sur les effets de l'application de biofertilisants se concentrent sur la communauté microbienne de la rhizosphère (Zhang *et al.*, 2014). Considérant que la communauté microbienne de la rhizosphère peut être influencée par la composition du sol et que les biofertilisants directement appliqués, provoquent ainsi des modifications dans la communauté microbienne du sol (Ridder-Duine *et al.*, 2005). Par conséquent, il est nécessaire de surveiller les effets de l'application de biopesticides à long terme.

L'application d'huiles essentielles a été signalée comme une méthode opportune pour contrôler de nombreuses maladies du sol (Badawi et Abdelgualil, 2014). En effet, l'application des huiles essentielles a reçu en popularité dans le monde entier, un nombre croissant d'agriculteurs reconnaissant les effets des huiles essentielles sur la protection des racines des plantes contre les pathogènes du sol, améliorant l'état de santé des sols et augmentant la production agricole (Zhang *et al.*, 2014). Cependant, l'inoculation directe des huiles essentielles dans le sol peut entraîner un contrôle infructueux et instable de la maladie de *Fusarium* en raison de l'effet incertain sur la disponibilité des éléments nutritifs d'une part et ainsi que sur les microorganismes antagonistes d'autres part. Dans cette optique, notre étude a été tracée comme objectifs l'étude de l'effet des huiles essentielles sur la maladie de flétrissement vasculaires de pois chiche, la disponibilité des éléments nutritifs (N-Total ; P-Olsen) ainsi que sur les communautés microbiennes de la rhizosphère.

Le premier chapitre de notre travail correspond à une mise au point bibliographique sur le pois chiche (*Cicer arietinum* L.), l'agent causal du flétrissement (*Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri*) et sur les HEs. Le deuxième chapitre correspond à notre étude expérimentale présente le matériel et les méthodes. Le troisième chapitre expose les résultats obtenus suivis des discussions. Ce travail est achevé par une conclusion générale.

Chapitre I. Analyse bibliographiqu

1. La plante hôte Pois chiche (*Cicer arietinum* L.)

1.1. Généralités

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est une plante de la famille des fabacées. C'est une légumineuse alimentaire de grande importance en Europe, l'Afrique du Nord, l'Inde et les pays du Moyen orient (Iqbal *et al.*, 2006 ;Viveros *et al.*, 2001). Il est cultivé dans les régions méditerranéenne et produit une graine comestible et connu par sa haute teneur en glucides assimilables et son pourcentage élevé en protéines végétales.

1.2. Origine et historique

Le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) est originaire du Moyen-Orient, plus précisément du sud-Est de la Turquie (Singh, 1997)et le Nord Est de la Syrie (Staginnus *et al.*, 1999).Il a été cultivé pour la première fois à environ 7000 - 8000 avant JC (Sharma et Muehlbauer, 2007).Il aurait été cultivé pour la première fois dans la région méditerranéenne il y a 5000 ans (Vander Maesen, 2006)par les Phéniciens (Boumgartnera, 1998).Il est cultivé principalement en Algérie, Ethiopie, Iran, l'Inde, le Mexique, le Maroc, le Pakistan, l'Espagne, la Syrie, la Tanzanie, la Tunisie et la Turquie (Naghavi et Jahansouz, 2005). Il se développe dans les environnements écologiquement divers (Chandirasekaran *et al.*, 2007).

1.3. Taxonomie et caractéristiques botaniques

Le pois chiche est une plante annuelle, herbacée avec des branches diffusées et propagées (Muehlbauer et Rajesh, 2008), auto fécondée et diploïde avec $2n=16$ chromosome (Vail, 2005).Elle a une hauteur de 20 à 100 cm, très ramifiée à port dressé et croissance indéterminée (Giller, 2001).

La classification de cette espèce est la suivante : (USDA, 2008)

Règne Plantae

Embranchement Spermatophyta (plantes à graines)

Sous embranchement Magnoliophyta

Classe Magnoliopsida

Sous-classe Rosidae

Ordre Fabales

Famille Fabaceae

Genre *Cicer*

Espèce *Cicer arietinum*L.

1.4. Morphologie et physiologie de pois chiche

1.4.1. Caractères morphologiques

Le système racinaire mixte, dont la croissance s'arrête au démarrage de la floraison, permet à la plante d'explorer un grand volume de sol et lui confère une tolérance à la sécheresse (Slama, 1998). Le système racinaire est de type pivotant, bien développé pourra atteindre jusqu'à plus d'un mètre de profondeur (Allali *et al.*, 2007 ; Jaiswal et Singh, 2001) et des racines secondaires traçantes (Jaiswal et Singh, 2001). Les racines latérales portent de gros nodules permettant la fixation de l'azote atmosphérique pour satisfaire 80 % des besoins de la plante en azote assimilable (Bouzerzour, 1998). Cette fixation symbiotique est à son optimum à la floraison et chute très rapidement par la suite (Slama, 1998).

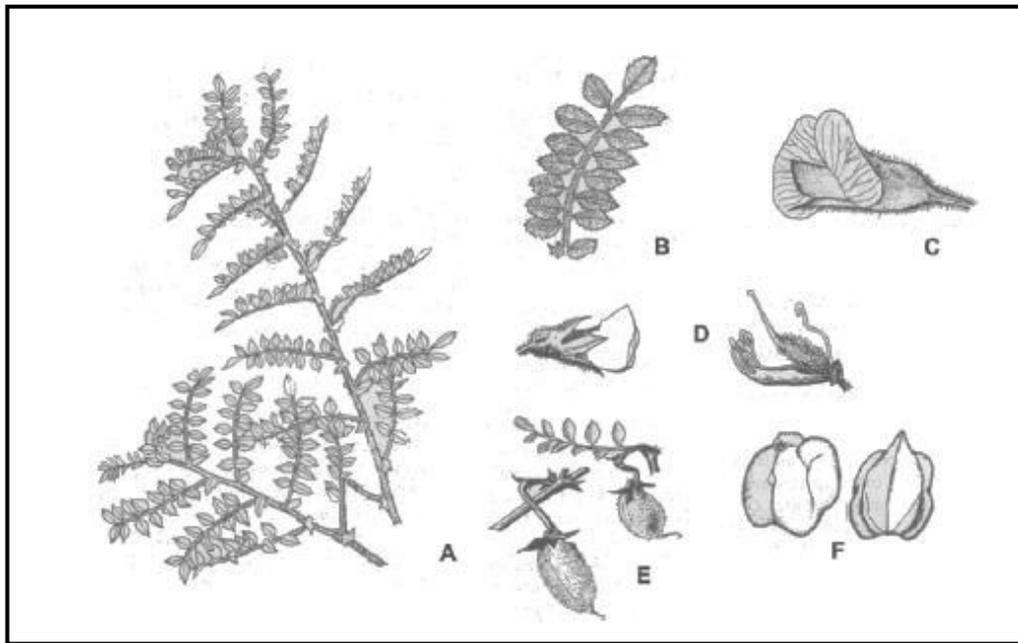


Figure 1. Schéma anatomique d'un plant de pois chiche: tige feuillue (A), feuille composé de 16 folioles (B), fleur zygomorphe (C), étamines, pistil et ovaire (D), gousses en développement (E), graines (F). (Anonyme, 1992).

La tige du pois chiche est herbacée et devient lignifiée avec l'âge (Slama, 1998). Sa tige dressée ou rampante, simple ou ramifiées dès la base est couverte par des poils uni et pluricellulaires (Duke, 1981; Ayadi, 1986). Et un anguleuse d'une hauteur de 20 cm à 1 m. La tige principale porte généralement deux branches primaires (Allali *et al.*, 2007) ou trois branches pour donner des ramifications secondaires et par la suite des ramifications tertiaires (Braune *et al.*, 1988 ; Ayadi, 1986).

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

Les fleurs sont zygomorphes, articulées (Leport *et al.*, 2006). Le pois chiche est une espèce autogame (Ladizinsky, 1987) caractérisée par une floraison massive. Sont habituellement solitaires à l'aisselle des feuilles, bisexuées, blanches, verdâtres, rose ou violacées, disposées en grappe caractérisées par leur aspect de papillons. 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 *et al.*, 2006).

Le fruit de pois chiche est une gousse velue, globuleuses contenant une ou deux graines. Cette graine peut être lisse ou ridée sa rainure médiane et à bec bien distinct surplombant le hile, crème à brunes, vertes ou noires (Summerfield *et al.*, 1984).

1.4.2. Caractères physiologiques

La durée du cycle de développement du pois chiche est très variable chez les variétés, il dépend de la chaleur et de l'humidité disponible dans le sol (Jaiswal et Singh, 2001). La croissance et le développement du pois chiche peuvent être divisés en cinq stades phénologiques (Plancquart et Werry, 1991). La durée de chaque stade est en fonction du cultivar, du photopériodisme, de la température et de l'eau (Saxena et Singh, 1987).

1.4.2.1. Période végétative

a- Stade germination

Cette période s'étend de la germination jusqu'à la ramification à l'apex initie des nœuds à chaque nœuds (ITGC, 2001).

b- Stade de la levée

Ce stade est caractérisé par l'apparition des plantes à la surface du sol. Il peut être retardée par les basses températures, dans ce stade on observe l'apparition de la première feuille (Kechache, 2005).

c- Stade de ramification

Ce stade est marquée dès que la première tige se développe alors à partir d'un bourgeon de la base et les premières nodosités se forment, l'élongation des entre-nœuds se fait progressivement (Kechache, 2005).

1.4.2.1. Période de reproduction

a- Floraison

Selon Allali *et al.* (2007), le délai de la floraison a été déterminé en retenant le nombre de jours séparant le semis et celui où 50% de fleurs sont épanouies. Elle commence des nœuds inférieurs. La fructification, concerne le début de formation de gousse ou bien l'apparition de fructification (transformation des fleurs en gousses) (Kechache, 2005). Ce stade est suivi du stade floral qui est marquée par l'apparition et le développement des ébauches florales, suivie par un effectif élevé en fleurs et un rendement en gousse appréciable (Berger *et al.*, 2006). La date et le taux de floraison sont déterminés par la réponse du génotype à la longueur du jour, à l'élévation de la température, ou généralement, aux effets additifs de ces deux facteurs climatiques (Berger *et al.*, 2006).

b- Stade de maturité

Ce stade est défini comme étant le stade caractérisé par la chute des feuilles, nécrose de l'extrémité de la gousse, brunissement du point de jonction entre le grain et l'épicarpe de la gousse. La durée de la période reproductrice duré est considérée comme étant le nombre de jours après l'apparition des premières fleurs jusqu'à la récolte finale (Kechache, 2005)

1.5. Exigences de la culture du pois chiche

1.5.1. Exigences édaphiques

Le pois chiche se cultive dans différents types de sols (Khan *et al.*, 2009 ; Babar *et al.*, 2009 ; Yusuf *et al.*, 2002). Il est peu exigeant en qualité du sol, mais préfère les sols lourds, meubles, profonds, plus ou moins de texture limoneuse et argilo siliceuse de couleur noire rougeâtre ou noirâtre, bien drainés, avec une bonne capacité de rétention, il redoute les sols calcaires, les sols secs aussi qui prédisposent la plante à donner des graines à mauvaise cuisson (Jaiswal et Singh, 2001, Berger *et al.*, 2003).

Les besoins en humidité du sol de la plante sont de 15-40% pendant la germination et le développement de la graine, mais l'humidité excessive du sol à la floraison réduit le rendement en grain (Wery *et al.*, 1994).

Le pois chiche se cultive dans des sols à pH neutre ou alcalin, variant de 7,3 à 8,2 (Berger *et al.*, 2003).

Le pois chiche exige le potassium qui favorise la formation des graines des fruits et qui existe dans la solution du sol en très petite quantité (ITGC, 2003). Alors que la fertilisation azotée n'est nécessaire que pour favoriser le départ de l'activité des nodosités puisque le pois chiche est comme les autres légumineuses fixe l'azote atmosphérique (Allali *et al.*, 2007).

1.5.2. Exigences climatiques

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

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

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

1.6. Importance de la culture du pois chiche

1.6.1. Importance nutritionnelle

Le pois chiche constitue une source très importante de protéines végétales qui peuvent corriger le déficit en protéines animales (Ben Mbarek *et al.*, 2009; Rekha et Thiruvengadam, 2009; Chérif *et al.*, 2007; Hassan, 2006). Il fait partie du nombre très réduit d'aliments qui apportent à la fois des protéines et un grand nombre de sels minéraux (calcium, fer, potassium et phosphore) jouant un rôle important dans l'alimentation. Il renferme entre 20 % et 25% de protéines.

A titre de comparaison, la teneur en protéines de la viande est de 16 à 25% et celle du poisson de 14 à 20%. En vue de leur richesse en protéine de bonne qualité, ils sont très riches en lysine, arginine et acides aminés di carboxyliques, utilisée en pharmacologie (Cortés-Giraldo *et al.*, 2016). Il a été aussi indiqué que la consommation de pois chiches donne une réponse glycémique plus faible chez les personnes qui souffrent de diabète (Zul et Macarulla, 1999, Nestel *et al.*, 2004).

1.6.2. Importance agronomique

Le pois chiche peut fixer, par voie symbiotique, plus de 140 kg/ha d'azote atmosphérique et satisfaire plus de 80% de ses besoins en azote (Gaur *et al.*, 2008) leur rend

comme culture préférable de l'agriculture durable en réduisant la dépendance au fertilisant azoté (Babar *et al.*, 2009 ; Hassan, 2006).

1.6.3. Importance économique

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

1.7. Les principales maladies du pois chiche

Les maladies pouvant affecter le pois chiche regroupent plus de cinquante espèces (Nene *et al.*, 1991). Le règne viral et le règne bactérien sont peu représentés alors que la dominance du règne fongique est indéniable (Nene *et al.*, 1996).

1.7.1. Maladies virales

Les maladies virales les plus dévastatrices sont causées par : Le CCDV (Chickpea Chlorotic Dwarf Virus) du pois chiche et le virus de l'enroulement des feuilles de pois (Horn *et al.*, 1995).

1.7.2. Maladies bactériennes

Parmi les maladies bactériennes, on peut citer l'anthracnose bactérienne causée par :

- *Xanthomonas campestris pv. Cassiae* (Nene *et al.*, 1996).
- *Pseudomonas andropogonis* (Smith) Stapp.

1.7.3. Nématodes

Des attaques au niveau des nœuds racinaires peuvent être provoquées par *Meloidogyne incognita* et *Pratylenchus thornei*

1.7.4. Maladies cryptogamiques

Parmi les maladies observées sur la culture du pois chiche en Algérie, l'anthracnose causée par *Ascochyta rabiei* est la maladie la plus fréquemment rencontrée et celle qui cause plus des dégâts (Zikara-Zine et Bouznad, 2007).

Le pois chiche est aussi sensible à la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea*, dans certains pays tempérés et subtropicaux (Davidson *et al.*, 2004).

Le flétrissement, causé par les champignons du genre *Fusarium*, est considéré parmi les maladies les plus importantes sur pois chiche où des prospections réalisées dans les différentes régions du pays, ont révélé la forte présence de cette maladie (Bouznad *et al.*, 1990). Dans le Nord-Ouest du pays 20 à 45 % des champs prospectés sont affectés par la fusariose du pois chiche (Maatougi, 1996). De même la fusariose du pois chiche, causée

principalement par *Fusarium oxysporum*, est surtout présente dans les sols lourds et les sols mal drainés (Anonyme 2, 2011).

2. La fusariose vasculaire

Les *Fusarium* sont des champignons ubiquistes dans les sols, certains d'entre eux sont pathogènes et responsables des fusarioses vasculaires qui entraînent des pertes économiques considérables sur un grand nombre de légumineuse (Belabid *et al.*, 2000). Les espèces de *Fusarium* provoquent des maladies qui entraînent des pertes économiquement importantes comme le flétrissement vasculaire (Fravel *et al.*, 2003). Le *Fusarium oxysporum* est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables, en absence de plante hôte (Kommeshal *et al.*, 1970).

2.1. Taxonomie

Le *Fusarium oxysporum* appartient aux Hyphomycètes (champignons imparfaits, Fungi imperfecti), La forme imparfaite (anamorphe) est caractérisée par un mycélium septé. Les conidies sont hyalines généralement unicellulaires sur des conidiophores libres (Lepoivre, 2003). C'est un Deutéromycète. Ses hyphes sont septes et ramifiés. Les micro-conidies ovales, droites, ou incurvées sont portées par des conidiophores courts ou latéralement par les hyphes (Ben freha, 2008).

2.2. Présentation de la maladie

La fusariose est répandue presque dans toutes les régions de culture du pois chiche, et provoque des pertes de rendement qui peuvent atteindre les 100% (Landa *et al.*, 2004), elle peut être aussi l'un des facteurs limitant majeur de la productivité du pois chiche (Haware *et al.*, 1996). La fusariose du pois-chiche est surtout présente dans les sols lourds et les sols mal drainés des terres de basse altitude. Elle est principalement causée par *Fusarium oxysporum* (Anonyme 2, 2011).

2.2.1. Symptomatologie

La maladie se manifeste par un flétrissement, partiel ou total, suivi d'un jaunissement et d'un dessèchement de la plante. Lorsque le pied de la tige est sectionné, on observe un brunissement au niveau des vaisseaux attaqués (Nasraoui, 2000). Les gousses des plantes du pois chiche malades apparaissent normales, mais les graines sont généralement plus petites, froissées et décolorées (Pande *et al.*, 2007). Selon le type de symptômes, deux pathotypes sont décrits chez le *Fusarium oxysporum*. Le 1er pathotype est responsable d'un jaunissement foliaire progressif avec un brunissement des tissus vasculaires et une mort tardive des plants. Le 2ème pathotype est responsable du flétrissement en induisant une chlorose sévère et rapide

avec un brunissement des tissus vasculaires et une mort précoce des plants (Trapéro-Casas et Jiménez-Díaz, 1985).

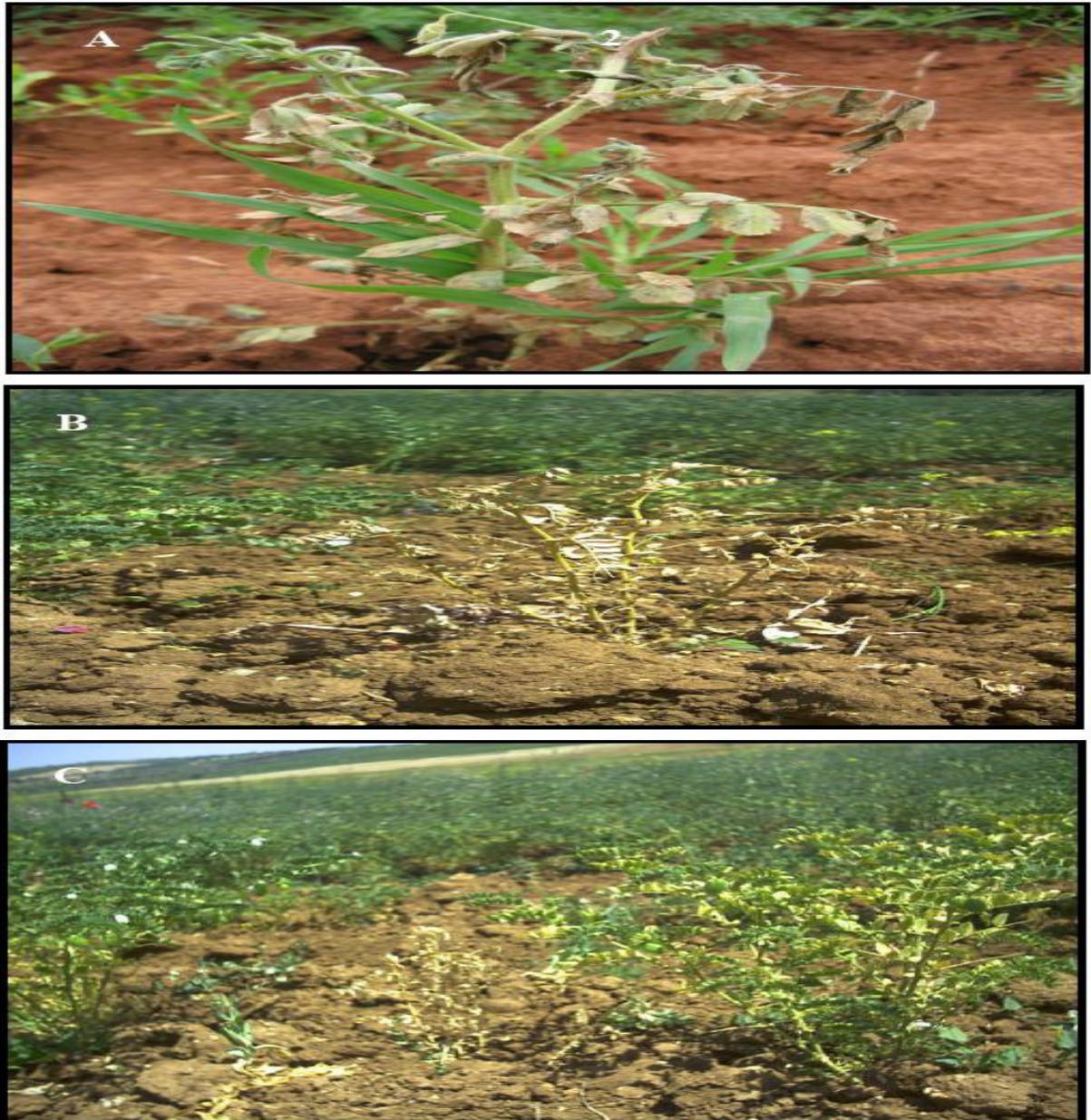


Figure 2. Symptômes observés en plein champ (A) flétrissement vasculaire précoce dans (B). Symptômes de flétrissement vasculaire tardif (C) (Moutassem, 2008).

2.2.2. Cycle de vie

Le *F. oxysporum* est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique. Par ces organes de résistance, les chlamydo-spores, il est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables (Haware *et al.*, 1986). Les plantes peuvent être infectées à travers les racines par les blessures ou au moment de la formation des racines latérales (Agrios, 1988).

Chapitre I. Analyse bibliographique

Le mycélium peut se développer dans l'espace intercellulaire des racines pour atteindre les tissus vasculaires. En se développant, le mycélium produit les microconidies. La prolifération de la croissance mycélienne dans les vaisseaux conducteurs provoque le flétrissement et la mort de la plante (Klein et Correll, 2001).

La fusariose se développe dans les tissus en décomposition, visiblement présentant des sporodochies sur la partie inférieure de la plante. Les spores sont dispersées par le mouvement de plantes elles-mêmes, par le vent et l'eau (Agrios, 1988). Généralement, l'infection débute par la germination des chlamydo-spores, le tube germinatif s'introduit à travers l'épiderme du système racinaire induit par conséquent une pourriture racinaire par sécrétion des enzymes pectolytique (Gupta *et al.*, 1986).

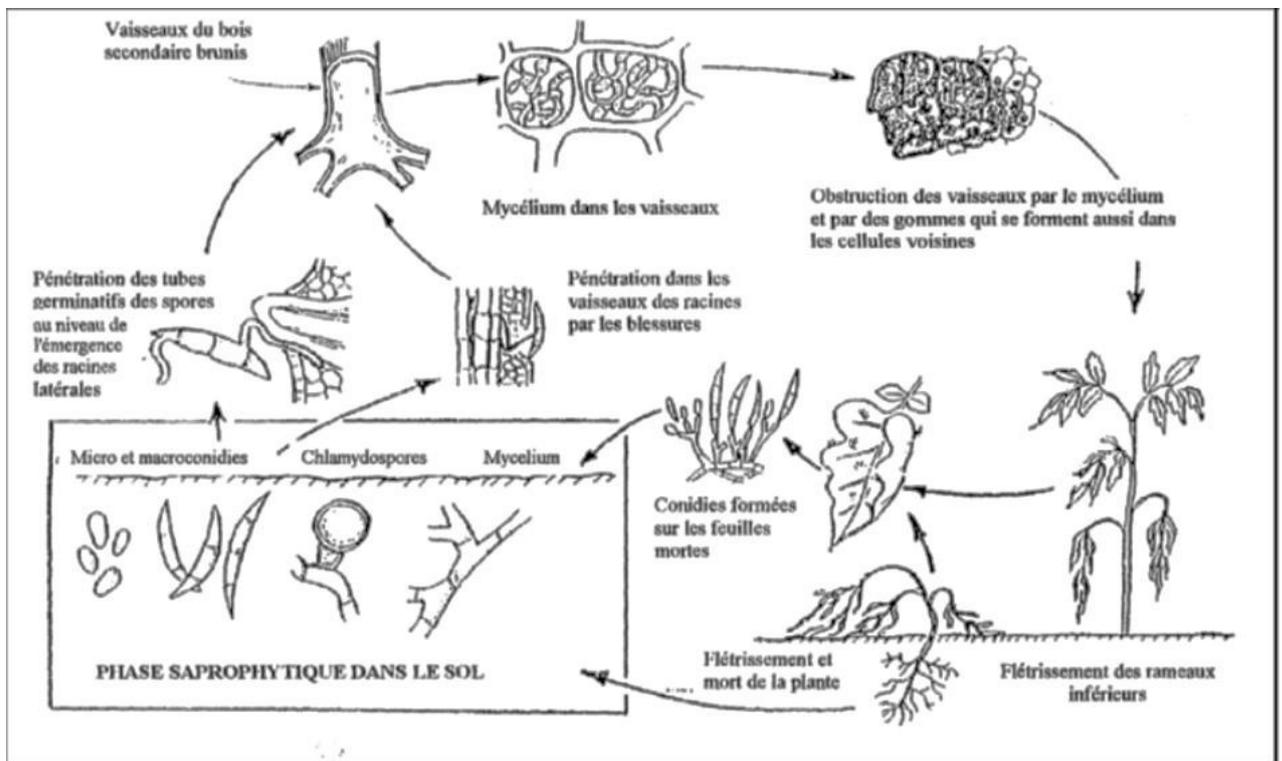


Figure 3. Cycle biologique de *Fusarium oxysporum*. (Rayan, 1988).

2.2.3 Impact économique du Foc et répartition géographique dans le monde

Le FOC est un champignon du sol spécifiquement pathogène aux espèces de *Cicer* spp. La maladie qu'il cause est l'un des plus importants facteurs limitant la production de pois chiche dans le monde (Jiménez-Gasco *et al.*, 2004). Cette maladie peut causer jusqu'à 100% de pertes de la production. Des pertes annuelles de rendement en grains de l'ordre de 10 à 15% sont enregistrées dans différents pays du monde.

Cette maladie est rapportée initialement au subcontinent indien, par la suite la maladie s'est étendue au Mexique, aux Etats-Unis, en Espagne, en Turquie et en Ethiopie (Sharma *et*

al., 2005). Le flétrissement fusarien est considéré comme la maladie la plus importante en Tunisie et au Maroc, et elle reste assez localisée en Algérie. En Tunisie, environ 40% des champs sont infestés par cette maladie (Sayoud *et al.*, 1999). Ce champignon existe aussi au Moyen Orient, en Syrie et au Liban (Jiménez-Gasco *et al.*, 2001).

3. Méthodes de lutte

3.1. Lutte culturale

Les méthodes de lutte culturale contre les maladies fongiques en générale concernent toutes les actions culturales qui peuvent créer des conditions défavorables aux pathogènes et favorables aux plantes. Parmi ces actions :

- ✓ la destruction (ramasser ou brûler) des repousses et des hôtes alternatifs qui peuvent former des réservoirs de pathogènes durant la saison où la culture est absente, est une action importante qui réduit le niveau d'inoculum primaire.
- ✓ la jachère de longue durée et la rotation culturale avec des cultures non- hôtes, peuvent agir sur la densité de l'inoculum présent dans le sol (Edel *et al.*, 1995 ; Scott *et al.*, 2012).
- ✓ L'interruption du cycle biologique de certains pathogènes est possible par la destruction de leurs hôtes secondaires comme dans le cas des rouilles (Nasraoui, 2008).
- ✓ l'utilisation des semences non infectées ou traitées pour prévenir l'infection du pois chiche durant la saison de croissance, Selon (Chérif *et al.*, 2007)
- ✓ l'avancement de la date de semi 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 (Navas-Cortes *et al.*, 1998).
- ✓ La fumigation du sol est efficace dans l'élimination de l'inoculum déjà présent dans le sol ; mais comme c'est toujours à recommencer, il ne s'agit pas d'une solution à long terme (Miguel *et al.*, 2004 ; Fravel *et al.*, 2003; Scott *et al.*, 2012).

3.2. Lutte chimique

Les fongicides appliqués en pulvérisation ou en saupoudrage sur les plantes sont utilisés pour lutter contre les maladies fongiques. L'application de fongicides selon la famille chimique peut être préventive ou curative.

Ils sont également utilisés en traitement des semences et en traitement du sol. Leur inconvénient reste cependant la possibilité de développer des souches fongiques résistantes. Les matières actives les plus couramment utilisées en traitement de semences sont : *Carbendazime*, *Carboxine*, *Thirameet* ceux utilisées contre les maladies foliaires sont : *Carbendazime*, *Thiophanate-méthyl* (Nasraoui, 2008).

3.3. Lutte biologique

La lutte biologique contre les agents pathogènes des plantes est définie comme l'utilisation de processus biologiques pour diminuer la densité d'inoculum des agents pathogènes dans le but de réduire leur capacité à induire la maladie.

La lutte biologique peut être conduite de manière directe ou indirecte. Les stratégies indirectes comportent, par exemple, l'utilisation d'amendements du sol de façon à augmenter la population d'antagonistes microbiens contre un agent pathogène spécifique (Lydie, 2010). La résistance du pois chiche vis-à-vis des attaques pathogéniques par le contrôle biologique peut faire appel à des microorganismes antagonistes tels que les bactéries du genre : *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Rhizobium* ou à des champignons antagonistes, cas de quelques espèces du genre *Trichoderma*.

Les agents de lutte biologique vont permettre d'induire une résistance chez la plante à travers l'accumulation des composés phénoliques et de phytoalexines et l'activation de ces mécanismes de défense (Chérif *et al.*, 2007).

4. Les huiles essentielles

4.1. Généralité

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou encore se soigner. Beaucoup de travaux ont été réalisés dans ce sens, du fait de l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économique, comme par exemple ,l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie que utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides (Bakkali, 2008)

Il y a plusieurs définitions d'huile essentielle:

- ✓ Les huiles essentielles sont définies comme étant des extraits volatiles et odorants, que l'on extrait de certains végétaux par divers procédés d'extraction, elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits de métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont généralement des mélanges des principes volatils contenus dans les végétaux (Bruneton, 1999).
- ✓ Selon l'AFNOR (2000), les huiles essentielles sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche.

Chapitre I. Analyse bibliographique

- ✓ Les huiles essentielles sont des extraits végétaux volatiles et odorants appelés également substances organiques aromatiques liquides, qu'on trouve naturellement dans diverses parties des arbres, des plantes et des épices, elles sont volatiles et sensibles à l'effet de la chaleur, elles ne contiennent pas de corps gras (Yahyaoui, 2005).
- ✓ Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverse partie des végétaux. Elles sont concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur. (Belhadi, 2010).

4.2. Rôle physiologique

Beaucoup des plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires. Mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Oussalah *et al.*, 2006).

Les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection de la plante, puisqu'elles agissent comme antibactériennes, antifongiques et insecticides. Elles protègent aussi la plante contre les herbivores par son odeur défavorable et inhibitrice de l'appétit de l'animal a cette plante (Bakkali *et al.*, 2008)

Les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets «utiles» pour la plante : attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, pour leur action répulsive sur les prédateurs (Csekea, 2007).

4.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices qui peuvent se trouver dans tous les organes de la plante. Aussi bien dans les graines que dans les racines ou dans les sommités fleuries. Les huiles essentielles s'accumulent en générale dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule recouvertes d'une cuticule (Salle, 2004 ; Teuescheet *et al.*, 2005).

Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae), dans des poiles sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtacée), dans des canaux sécréteurs (Astraceae).

Chapitre I. Analyse bibliographique

Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (bergamotier, rose,) Les feuilles (citronnelle, eucalyptus,), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre,), les fruits (anis, badiane,), le bois (bois de rose, santal,), ou graines (muscade,...) (Oussalah, 2006). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. (Belkou, 2005).

4.4. Tissus sécréteurs

L'huile essentielle est produite et stockée dans les tissus sécréteurs de la plante sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (Gonzalez *et al.*, 2007). Elles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante (Degryse *et al.*, 2008).

Les huiles essentielles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules où se rassemblent.

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles qui sont : et les canaux sécréteurs qui existent dans des nombreuses familles.

4.5. Les principales activités des huiles essentielles

Les huiles essentielles possédantes de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie ,elle sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires (Billerbeck, 2008)ou niveau de la microflore vaginale (Duarte *et al.*, 2007) et d'origine fongique contre les dermatophytes (Durante *et al.*, 2005)cependant ,elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques (Bakkali *et al.*,2008) quilles rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en qu' agents antimicrobiens à large spectre (Dorman *et al.*, 2000 ; Labore, 2000 ; Sotso–Mendivil , 2006).

4.5.1. Activité antifongique

Les HE des plantes aromatiques sont connus pour avoir des propriétés antifongiques (Pinto *et al.*, 2007). Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxine chez les moisissures (Edris, 2007).

L'activité antifongique des huiles du Thym sont attribuées au Thymol et au carvacrol. Ils provoquent une dégénérescence des champignons Hyphes qui semblent vider leur contenu cytoplasmique (Zambonelli *et al.*, 1996).

4.5.2. Activités antimicrobien

Les vertus antimicrobienne des HE sont connue et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se bases sur des pratiques traditionnelles (Hala *et al.*, 2000) et des applications sans bases scientifiques précises. On note l'étude faite par Chamberland en 1887 de l'activité antimicrobienne des essences de cannelle, d'origan et de girofle (Bouhadid, 2006) et qu'en 1991 Gatte Fosse a montré que le bacille de Koch était détruit en 5 minutes par une émulsion à 1% d'huile de pin.

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifique et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobiennes des HEs des plantes aromatiques (Cox *et al.*, 2000 ; Ettatyebi *et al.*, 2000)

4.5.3. Activité acaricide

Le varroa est une maladie parasitaire Pathologie majeure en apiculture, sa contagiosité et ses effets en font un véritable fléau. Maladie réglementée, elle est classée, et se trouve également sur la liste des maladies à déclaration obligatoire de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (Oie, 2013).

Le thymol est toxique pour varroa à tous les stades de son développement : les oeufs, les larves les nymphes et les adultes (Doemon *et al.*, 2009).

Des études réalisées par (Lamara, 2012 ; Boutoba, 2013) repose sur l'utilisation d'un traitement biologique à base d'huiles essentielles de thymus contre le varroa destructeur parasite *d'Apis mellifica* avec des dosages variable et en fonction de mode d'utilisation montrent que la dose de 3% entraîne un taux de mortalité maximal de 28%, par rapport aux autres doses (1%, 3%, 5%) pendant la période hivernal.

L'utilisation des plantes médicinales locale est la méthode la plus utilisée chez les petits éleveurs tandis que l'application courante des acaricides de synthèse est la méthode la plus utilisée dans les systèmes de production intensifs pour combattre les ectoparasites (Lhoste *et al.*, 1993) Cependant, les conséquences sur l'homme et son environnement ,la présence des souches d'acariens aux acaricides ainsi que la rareté et le cout élevé des produits de bonne qualité sur les marchés locaux posent le problème de la recherche solutions alternatives (Whatson, 1976)

4.5.4. Activité antioxydant

Certain constituants des huiles essentielles présentent un antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés : c'est le cas de l'eugénol, du thymol, du carvacol...etc. Les résultats déjà publiés montrent que les essentielles constituent une bonne source

d'antioxydant naturels rechargé pour leur innocuité relative (Burits et Bucar, 2000 ; Canda *et al.*, 2003 ; Tepe *et al.*, 2005).

Cette activité antioxydant Est également attribuée à certaine alcools, éther, cétones et aldéhydes monoterpéniques : le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/nérol (Jukic et Milos, 2005). Avec un effet Plus élevé enregistré pour les hémotypes phénoliques. Le thym est comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thymus* durant Leur stockage (Selmi et Sadok, 2008)

4.6. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines huiles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en Thymol, ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldhyde ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furacourmarines). Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allyldenzène ou de propenylbenzène comme le safrol, l'estragol, des chercheur ont mis en évidence l'activité hypatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs (Pibiri, 2006)

4.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthode sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction des huiles essentielles dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Hellal, 2010).

4.7.1. Extraction par hydro distillation des huiles essentielles

Le principe de l'hydro distillation consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un Clevenger), que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et son appareillage n'est pas couteux (Lucchesi, 2005).

4.7.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal est placé sur une grille perforée à travers laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entrainées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une

amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Hellal, 2010).

4.7.3. Extraction à froid

Cette technique d'extraction est utilisée pour l'obtention des essences d'agrumes ou hespéridés : bergamote, citron, mandarine, etc. l'huile essentielle est contenue dans le zeste, partie superficielle de l'écorce de ces fruits. Autrefois, la méthode dite (à l'écuelle) consistait à frotter le fruit, manuellement, dans un bol en bois dont l'intérieur était garni de picots. Le jus était recueilli à l'aide d'une éponge exprimé dans un récipient puis filtré. Actuellement, les fruits sont compressés à froid ; l'huile essentielle et le jus recueillis sont séparés par centrifugation. Cette méthode rapide et efficace donne une essence de bonne qualité (Beneteaud, 2011)

4.7.4. Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratique. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. (Kim et Lee, 2002).

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient (AFNOR, 2000) :

- Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau
- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol dilué traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- De rétinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés l'emploi restrictif de l'extraction par solvants organisation liée à la protection de l'environnement.

4.7.5. Extraction par CO₂ supercritique

Le CO₂ permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Il est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Chemat, 2004).

Chapitre II. Matériel et méthodes

1. matériel biologique

1.1. Matériel fongique

Le matériel fongique a été représenté par un isolat de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* (FOC); agent responsable du flétrissement vasculaire du pois chiche. Cet isolat est originaire de la région de Mascara (Algérie), a été isolé à partir des tiges de pois chiche présentant les symptômes de la maladie.

1.2. Matériel végétal

1.2.1. Plante hôte

Dans notre étude, le matériel végétal (La plante hôte) utilisé est représenté par les variétés de pois chiche Ghab04 et ILC32 79 qui nous ont été fournis par l'institut technique des grandes cultures de Tiaret.

1.2.2. Plante aromatique

La plante aromatique testée est représentée par l'espèce végétale *Thymus pallescens* de Noé provenant de la région de Mascara.

1.2.2.1. Description botanique et classification de l'espèce *T.pallescens* de Noé

C'est une espèce qui appartenant à la famille des Lamiaceae, qui comporte environ 264 genres largement distribués dans l'aire méditerranéenne, dont le genre *Thymus* est le plus diversifiés (Naghbi *et al.*, 2005). La majorité des espèces de thym ont une grande importance, vu leurs propriétés biologiques, pharmacologiques (Ebrahimi *et al.*, 2008), ainsi que leur richesse en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques (Mayet, 2013).

Le Thym, est un sous arbrisseau, pousse en touffes, pouvant atteindre 30 cm de hauteur (Chazel et Chazel, 2012), Il possède de petites feuilles de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes (appelés trichomes), riches en huile essentielle (El Ouali Lalami *et al.*, 2013). Ses petites fleurs sont regroupées en glomérules et leur couleur varie du blanc au violet en passant par le rose (Soto *et al.*, 2006).



Figure 4 : Plante du thym (*Thymus Pallescens* de Noé) (Moutasem , 2018).

1.2.2.2. Systématique de la plante testée

Règne : Plantae

Embranchement : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : *Thymus*

Espèce : *Thymus pallescens* de Néo

2. Test in vitro

2.1 . Extraction des huiles essentielles et analyse de la composition chimique

Les plantes, fraîchement récoltées, ont été nettoyées par l'eau distillée. Les feuilles sont ensuite séparées puis séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité. Celles-ci ont été ensuite pesées, réduites (coupée en petites parties) pour augmenter la surface de contact avec de l'eau et récupérées dans des sacs en papier afin de les conserver jusqu'au moment de l'expérience (Aida, 2015)

Les huiles essentielles (HE) ont été isolées par hydrodistillation, en utilisant un appareillage de type Clevenger (Figure 5). L'extraction a duré 2 à 3heures pour un mélange de 100g de matériel végétal sèche avec 1000ml d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté à l'ébullition dans un ballon à 3 cols ou fiole d'un litre surmonte d'une colonne de 60cm de longueur reliée à un réfrigérant.

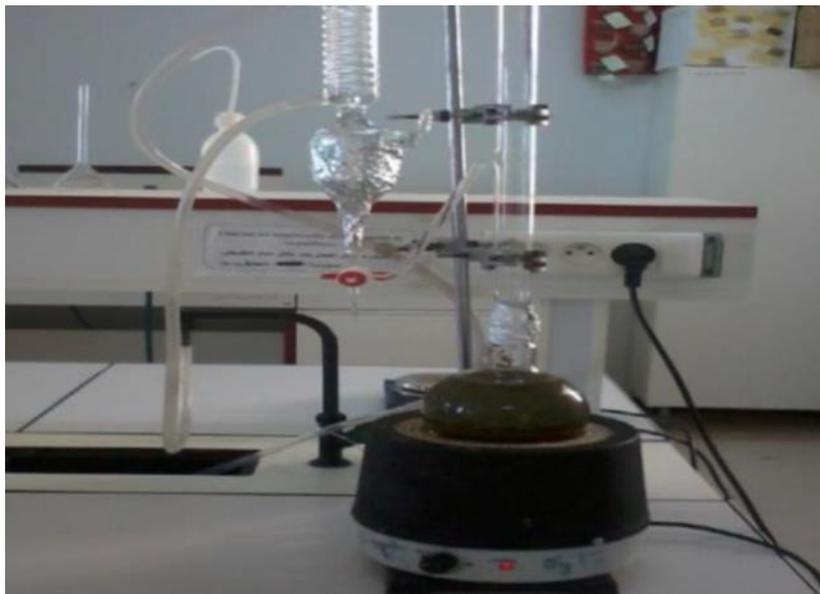


Figure 5. Appareillage de l'hydrodistillation de type *Clevenger* (Originale, 2018)

Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles recueillies par décantation à la fin de la distillation ont été filtrées en présence de sulfate de sodium (Na₂SO₄) pour éliminer les traces d'eau résiduelles et les huiles essentielles seront par la suite récupérées et stockées à 4° C à l'obscurité dans des flacons en verre appropriés, hermétiquement fermés et couverts d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière.

2.2. Les Tests biologiques

2.2.1. Préparation des concentrations des huiles essentielles

L'HE de *T.pallescens* de Noé a été testé avec des concentrations de 1, 0.5 et 0.1 µL. Les différentes concentrations de l'HE de *T.pallescens de Noé* ont été formulées par le Tween 80 selon les proportions (1/4/95 v/v/v).

2.2.2. Effet d'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur la croissance mycélienne et la sporulation de *Foc*

Dans notre expérience, on a utilisé la technique utilisant la solubilisation directe de l'HE dans le milieu PDA (50 ml) selon la technique de Solyo *et al.* (2006). Après incubation à 25 ± 2°C pendant 8 jours la croissance mycélienne a été estimée en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur les deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de culture en tenant compte de la croissance de témoin. Le pourcentage d'inhibition I (%) a été déterminé par rapport au témoin et calculé selon la formule :

$$I (\%) = [1 - (Da / Db)] \times 100$$

Où : Da: Croissance mycélienne moyenne dans le milieu en présence de l'huile. Db: Croissance mycélienne moyenne dans le milieu sans huile (témoin).

Les champignons qui ne se sont pas poussés sur les milieux traités ont été ré-cultivés sur milieu PDA non traités, puis incubés à 25°C pendant deux semaines pour vérifier si l'effet fongistatique ou fongicide de l'HE de *T.pallescens* de Noé.

L'évaluation de la sporulation est effectuée selon le principe de la méthode utilisée par Maslouhy (Maslouhy, 1989). Ce test a été réalisé par un lavage avec 10 ml d'eau distillée stérile de la boîte de Pétri entière contenant du mycète, afin de libérer toutes les spores, par la suite la suspension obtenue est récupérée dans des tubes à essai stérile, le nombre de spores pour chaque échantillon est comptée par la cellule de Mallassez sous le microscope optique.

2.2.3. Effet de l'huile essentielle de *T. Pallescens* de Noé sur la germination de conidies

L'inoculum a été préparé selon la méthode de consiste à mettre six explants de Foc âgé de 7 à 15 jours dans des erlenmeyers contenant 600 ml de bouillon de pommes de terre dextrose (PDB) stérilisé préalablement à 120°C pendant 20 min. Ces derniers ont été incubés à 25°C pendant 10 jours. La suspension sporale a été filtrée avec un papier filtre stérile et ajustée à 10⁶ spores / ml (Calvet *et al.*, 1990).

Les trois dose ont été préparées par la méthode d'incorporation directe de formulation de l'huile essentielle de Thym dans 20 ml du milieu de culture PDB chargé de l'inoculum de Foc.

Après incubation à 25 ± 2°C pendant 8 jours la croissance mycélienne a été estimée en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur les deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de culture en tenant compte de la croissance de témoin . Le pourcentage d'inhibition I (%) a été déterminé par rapport au témoin et calculé selon la formule de Leroux et Credet, (1978).

$$I (\%) = [1 - (Da / Db)] \times 100$$

Da: Croissance mycélienne moyenne dans le milieu en présence de l'huile. Db: Croissance mycélienne moyenne dans le milieu sans huile (témoin).

2.2.4. Test en culture hydroponique :

L'effet de l'huile essentielle de *T.pallescens* sur la maladie a été analysé dans une culture hydroponique selon la technique de Benjabour *et al.* 2015. Cette technique consiste à mettre en contact le Foc avec son plante hôte dans un milieu de culture hydroponique préparé selon la formule citée par Benjabour *et al.* (2015) (voir annexe). Une quantité de 500 ml de milieu de culture déjà stérilisé à 105°C pendant 25 minutes a été versée dans un flacon de 1000ml. 10 mL de suspension sporale ajustée a la concentration 10⁶ spore /mL a été ajouté et incubé à 25°C pendant 3 jours. Cette solution a été enrichie avec la formulation de thym d'une façon à obtenir les concentrations 1, 0.5 et 0.1 µL/mL. Les plantules de pois chiche de la variété Guab 4 a été déjà de stade deux feuilles ont été mis dans les flacons contenant la solution hydroponique enrichies avec l'inoculum de Foc et la formulation de l'huile essentielle. Ces derniers ont été incubés à une température ambiante 25±3°C pendant 8 jours.

2.2.5. Effet des huiles essentielles sur le taux des polyphénols et des flavonoïdes :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode cité par Wong *et al.* (2006). 200µl de chaque extrait (dissous dans

le méthanol) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin-Ciocalteu 10 fois dilué. Les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes. Après l'incubation 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75g /l) a été ajoutée. Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 2 heures dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.



Figure 6. Traitement de la culture de pois chiche par huiles essentielle de *T. palleescens* de Noé en culture hydroponique.

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) cité par Djeridane *et al.* (2006) et (Boudiaf, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits. 1 ml de chaque extrait et (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation.

Effectuer la même opération pour la quercitrine à différentes concentrations en introduisant 1 ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d'AlCl₃ à 2%. Le blanc est représenté par l'éthanol additionné à l'AlCl₃, toutes les opérations sont réalisées en triplicata.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits de les plantes étudiés sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercitrine comme standard, les résultats sont exprimés en µg équivalent en quercitrine/ mg de matière fraîche.

3. Conditions expérimentales

3.1. Emplacement et caractéristiques du site expérimental

Les échantillons de sol utilisés pour la mise au point de l'effet de huile essentielle sur la fusariose vasculaire de pois chiche proviennent essentiellement de champs cultivés en pois chiche où des dégâts de flétrissement vasculaire ont été observés l'année 2015. Les échantillons du sols ont été collectés sur 02 différents sites localisés dans deux régions dans le Nord Est Algérien à savoir ; Skikda et Guelma. Chaque région est représentée par deux sites, de chaque site, 100Kg du sol ont été prélevés à la profondeur de 20 à 30 cm. Chaque échantillon a été mis dans des sachets en plastique étiquetés, ensuite transportés et conservés en vue de leurs utilisations.

3.2. Caractéristiques physico-chimiques du sol expérimental

3.2.1. La mesure de pH :

20g de sol fine a été ajoutée à 50ml d'eau distillée (pour mesure le pH eau). Le contenu est agité pendant quelques 5 minutes dans un agitateur rotatif, puis laissé à reposer 2h. Après 2h en mesuré l'aide d'un pH-mètre après une brève agitation.

3.2.2. Conductivité électrique :

La conductivité électrique a été mesurée selon la méthode (Aubert, 1978). Le principe consiste à déterminer la conductivité électrique (C.E.) de l'eau pour déterminer la salinité de l'extrait du sol. Elle est effectuée en mélangeant 1/5 du sol avec 4/5 d'eau distillée. Après une agitation de quelques minutes, la solution est chauffée à une température T (25°C)

3.2.3. Calcaire total

La détermination du calcaire total est réalisée par un Calcimètre de Bernard en utilisant une solution de l'acide chlorhydrique dilué de moitié et une prise d'essai de 1 g du sol.

3.2.4. Phosphore assimilable

Le dosage du P est effectué par une solution de bicarbonates de sodium (NaHCO_3). La prise d'essai est de 5 g de terre à laquelle on ajoute 100 ml de NaHCO_3 à 40% et une cuillère du charbon actif. Après 30 minutes d'agitation mécanique, on procède à une filtration sur papier filtre pour éliminer les particules solides. Dans des tubes-à-vis, on prélève 1 mL de filtrat de chaque échantillon, puis on ajoute 1 mL d'acide ascorbique et on complète à 10 mL avec de l'eau distillée. La mesure de la densité optique est faite à 710 nm après 30 minutes d'addition de l'acide ascorbique.

3.2.5. Dosage de l'azote total

Pour le dosage de l'azote total la méthode de Kjeldahl décrite par (Lambert, 1975), a été utilisée. Cette technique se déroule en trois étapes à savoir ; la minéralisation, la distillation de la solution minéralisée et enfin, la titration de la solution distillée par l'acide sulfurique (0.05 N). Le dosage de l'azote total est effectué selon la méthode Kjeldahl, dans laquelle l'azote des composés organiques est transformé en azote ammoniacal sous l'action de l'acide sulfurique concentré à ébullition, qui se comporte comme un oxydant et détruit les matières organiques. Pour accélérer cette transformation, on utilise un catalyseur renfermant du sulfate de cuivre, du sulfate de potassium et du sélénium. Lorsque la matière organique est entièrement oxydée, la solution de sulfate d'ammonium obtenue est récupérée et on procède ensuite au dosage. L'ammoniac est déplacé de la combinaison par la soude, distillée et récupéré dans une solution d'acide borique. Il est titré avec une solution d'acide sulfurique de normalité connue.

3.3. Conduite et organisation de l'essai

Deux expérimentations contrôlées sous serre ont été menées sur deux campagnes agricoles (2017-2018); au niveau de la pépinière d'el Hammadia, Bordj Bou Arreridj Algérie localisée entre 33.740 N de latitude et de 73.130 105 de longitude. L'essai a été mené dans des pots en plastique mesurant (10x25cm) et portant 10 kg du sol préalablement broyés et tamisés. Le dispositif expérimental adopté est une randomisation totale avec trois répétitions pour chaque site.



Figure 7. Traitement de sol et de plantules de pois chiche par la formulation de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé.

3.3.1. Traitement des sols par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé

Des formulations de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé avec la concentration $0.5\mu\text{L mL}^{-1}$ a été préparée selon la technique citée préalablement. Les deux sols ont été mis dans des sacs en plastique et traités trois fois successives par la formulation de *T.pallescens* de Noé en utilisant des pulvérisateurs produisent des gouttelettes fines.

Les grains de la variété Guab 4 ont été désinfectées trois fois successives à l'hypochlorite de sodium (1%), lavées trois fois successives à l'eau distillé stérile et séchées entre deux papiers filtres stériles. Ces grains ont été mis dans des pots contenant de la matière organique stérilisée à 105°C pendant 35min pour un pré germination. Les plantules de pois chiche (stade deux feuilles) ont été tramées à la formulation de l'HE de *T.pallescens* de Noé, puis transplantés dans des pots remplis par le sol traité avec l'HE. Des plantules non traitées ont été transplantées dans des pots contenant le même sol non traités ont été servie comme témoin. Trois répétitions ont été menées pour chaque sol et pour chaque témoin.

3.3.2. Exploitation des résultats

Le prélèvement des résultats est fondé sur l'observation des symptômes et la notation de l'incidence (DI) et la sévérité (ISM) de la maladie. Les deux notations sont exprimées en index de maladie DII. Lors de chaque notation, l'incidence et la sévérité de la maladie ont été évaluées selon les méthodes de (Trapero-Casas, 1983).

3.3.2.1. Mesure de l'Incidence :

L'incidence est le moyen le plus rapide pour la mesure de la maladie ; il nécessite seulement le comptage du nombre d'unités malades qui peut être exprimé par un pourcentage du nombre total d'unités. L'incidence (DI) est évaluée selon la formule :

$$DI = \frac{NPM}{NTP} \times 100$$

3.3.2.2 Mesure de la sévérité d'attaque :

La sévérité (S) ou l'indice de sévérité moyenne (ISM) est calculée selon la formule :

$$\text{Sou(ISM)} = \frac{\sum n_i \times i_j}{\sum n_j}$$

Où

n_j : est le nombre de plantes caractérisées par l'indice

i_j : est l'indice de sévérité attribué aux plantes malades.

L'échelle de notation utilisée par Trapero-Casas, (1983) a été appliquée le long de nos expérimentations. Cette échelle consiste à donner une note à la plante malade examinée en fonction de l'importance des symptômes observés :

0: pas de symptômes.

1 : jaunissement ou flétrissement du 1/3 de la plante.

2: mêmes symptômes mais affectant les 2/3 de la plante.

3: symptômes identiques affectant la plante entière.

4: plante morte.

3.3.2.3. Calcul de l'indice de Flétrissement (*DII*)

L'incidence *I* et la sévérité *S* sont utilisés pour le calcul, l'index de l'intensité de la maladie *DII*

$$\text{Où : } DII = \frac{DI \cdot ISM}{4}$$

3.3.2.4. Calcul de l'AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve)

L'AUDPC est calculé selon la formule rapportée par (Cook, 2006) :

Où :

$$AUDPC = \sum_{i+1}^n [(x_i + x_{i+1})/2](t_{i+1} - t_i)$$

x_i = la proportion des tissus ou le nombre de plantes malades à toute une seule mesure (intensité de la maladie) à l'observation i ,

t_i = temps (jours) après l'inoculation à l'observation,

n = le nombre total d'observations. La somme de régions individuelles trapézoïdes, ou régions de i à $n-1$.

$i + 1$ représente des observations de 1 à n .

3.3.2.5. Récolte et la détermination de la biomasse aérienne et poids sec de la nodosité

La fin de stade productif, les parties racinaires ont été séparées des parties aériennes dénombrées, séchées et pesées. Les parties aériennes ont été séchées à 70 °C pendant 48 heures et pesées pour déterminer la biomasse aérienne. Les nodules de chaque plante ont été soigneusement séparés des racines, séchées et pesées.

3.3.2.6. Récupération du sol rhizosphérique et analyse de N-Total et P-olsen

Le sol de la rhizosphère a également été soigneusement récupéré à partir des racines des plantules de pois chiche. Les échantillons du sol collectés ont été conservés au réfrigérateur à 4 °C pendant trois jours au maximum avant les analyses.

La concentration en N dans le sol est déterminée avec à la méthode de Kjeldahl expliquée précédemment. Les teneurs en P assimilable dans le sol sont déterminées à la fois par la technique de (Olsen, 1956).

3.3.2.7. Analyse des teneurs en polyphénols et des flavonoïdes :

Le dosage des phénols totaux a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par (Ardestani and Yazdanparast, 2007). La méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) décrite par Chua *et al.* 2011 est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

4. Analyses statistiques

Les résultats obtenus ont été traités par deux analyses indépendantes à l'aide de logiciel XLSTAT (2008). La première analyse est l'analyse de la variance « ANOVA » permettant de connaître la signification des différences (le seuil de signification est $\leq 0,05$). La deuxième analyse consiste à mettre en évidence des corrélations entre les variables étudiées (zone d'inhibition, le type de l'huile et la concentration et l'interaction entre les deux facteurs au seuil de signification $\leq 0,05$).

Chapitre III. Résultats et discussion

1. Résultats :

1.1. Résultats in vitro

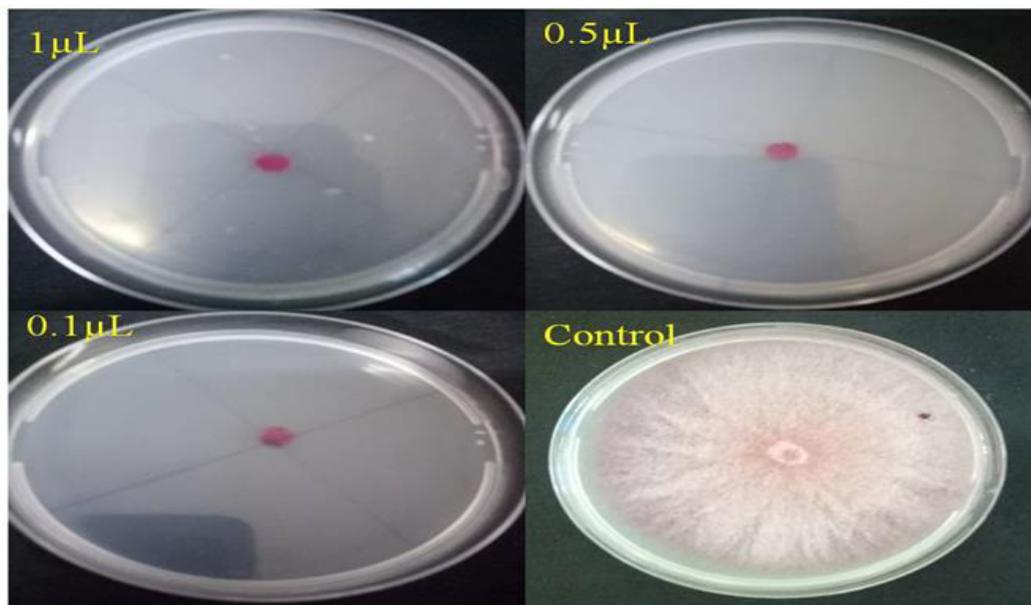


Figure 8 : Effet fongicide de l'huiles essentielles de *T.pallescens* de Noé vis-à-vis le Foc représenté par l'inhibition de la croissance mycélienne après 8 jours d'incubation à $25\pm 3^{\circ}\text{C}$.

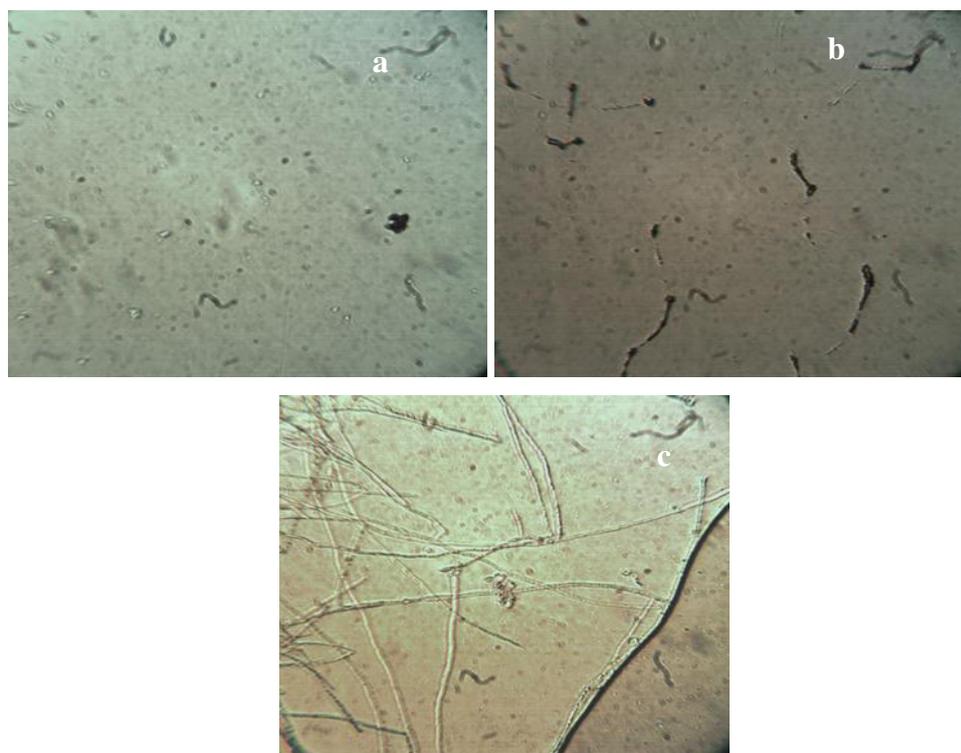


Figure 9 : Effet de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur la germination des conidies de Foc (a) inhibition total de la germination (b) la lyse des tubes germinatifs et (c) témoin non traités.

1.1. 1. Effet antifongique de l'huile essentielle de *T.pallecsnes* de Noé sur le Foc

L'amendement de milieu PDA par les différentes concentrations de l'HE de *T.pallescents* de Noé affecte significativement la croissance mycélienne (Figure 8) et par conséquent la sporulation.

Le traitement de la concentration sporale de Foc par les différentes concentrations de la formulation de thym expose des modifications morphologiques indiquées par un éclatement des spores, une réduction de cytoplasme, inhibition de la germination et la lyse des tubes germinatifs. Cependant, le transfert des fragment de Foc déjà mis dans les boites traitées par l'huile dans un d'autres boites contenant milieu non traité a montré l'effet fongicide de cette bio-formulation, où aucune croissance mycélienne a été constaté.

Tableau 1 : L'effet de l'huile essentielle de *T.pallescents* de Noé sur la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des conidies du FOC. Les valeurs représentent les moyennes de quatre répétitions \pm l'erreur standard. Les lettres a, b et...représentent le niveau de signification au seul 5%.

Species	Des μ /ml	Inhibition de la croissance mycélienne (%)	Inhibition de la sporulation (%)	Inhibition de la germination des conidies (%)
<i>T.pallescents</i>	0.1	100,00 \pm 0,00a	100,00 \pm 0,00a	87,93 \pm 0.60bb
<i>T.pallescents</i>	0.5	100,00 \pm 0,00a	100,00 \pm 0,00a	100,00 \pm 0,00a
<i>T.pallescents</i>	1	100,00 \pm 0,00a	100,00 \pm 0,00a	100,00 \pm 0,00a

Selon l'ANOVA la dose affecte significativement le taux d'inhibition de la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des conidies. L'analyse de l'effet de l'HE de *T.pallescents* de Noé contre la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des conidies de Foc montre effectivement un effet fongicide très prononcé. La croissance mycélienne, la sporulation, et la germination des conidies ont été totalement inhibés avec les concentrations 1 et 0.5 μ L, tandis que la concentration 0.1 μ L a dénudée une inhibition de la germination plus au moins importante environ 87.93%.

1.1.2. Effet des traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur la sévérité de Foc en culture hydroponique

Dans tous les traitements préventifs, l'HE de *T.pallescens* de Noé a provoqué une diminution significative de la sévérité de la fusariose chez les plantules de pois chiche comparée aux contrôles non traités (figure10). Cependant, la prévention la plus efficace contre l'infection fongique a été constaté chez les plantules traitées avec la dose 0.5 μ L, où la sévérité de la maladie était significativement réduite jusqu'à 100%.

L'activité protectrice de l'HE de *T.pallescens* de Noé a été constatée moins significative chez les plantes traitées avec les doses les plus faibles, par rapport aux résultats obtenus après le traitement par la dose les plus élevée. En effet, une réduction plus au moins remarquable environ 64.56 et 53,83% a été constaté chez les plantules traités avec la dose 0.5 et 0.05, respectivement.



Figure 10 : Efficacité des huiles essentielles de *T.pallescens* d Noé en culture hydroponique.

1.1.3. Effet des traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur le teneur des plantules d pois chiche en polyphénols et en flavonoïdes en culture hydroponique

Le traitement de la culture hydroponique par trois concentrations de l'HE de *T.pallescens* de Noé affect significativement le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les plantules de pois chiche. Les analyses ANOVA montre également un effet hautement significatif de la dose et l'organe analysé sur le taux des polyphénols et flavonoïdes. Toutefois, les analyses ANOVA indiquent un effet hautement significatif de la dose et les teneurs en polyphénols et les flavonoïdes sont dose dépendent.

Chapitre III. Résultats et discussion

L'analyse des résultats affichés dans la figure 11 énonce une augmentation des taux des polyphénols et des flavonoïdes par rapport aux témoins non traités. Le taux des polyphénols augmente environ 37.22 à 54.45% dans les tiges et 4 à 10.67 % dans les racines chez les plantules traités par l'HE de *T.pallescens* de Noé comparé avec le témoin non traité. Cependant, le taux d'augmentation des flavonoïdes varie entre 31 à 51.55% dans les racines et 26.10 à 68.32% dans les tiges chez les plantules traitées avec l'HE de *T.pallescens* de Noé en comparaison avec celles non traitées.

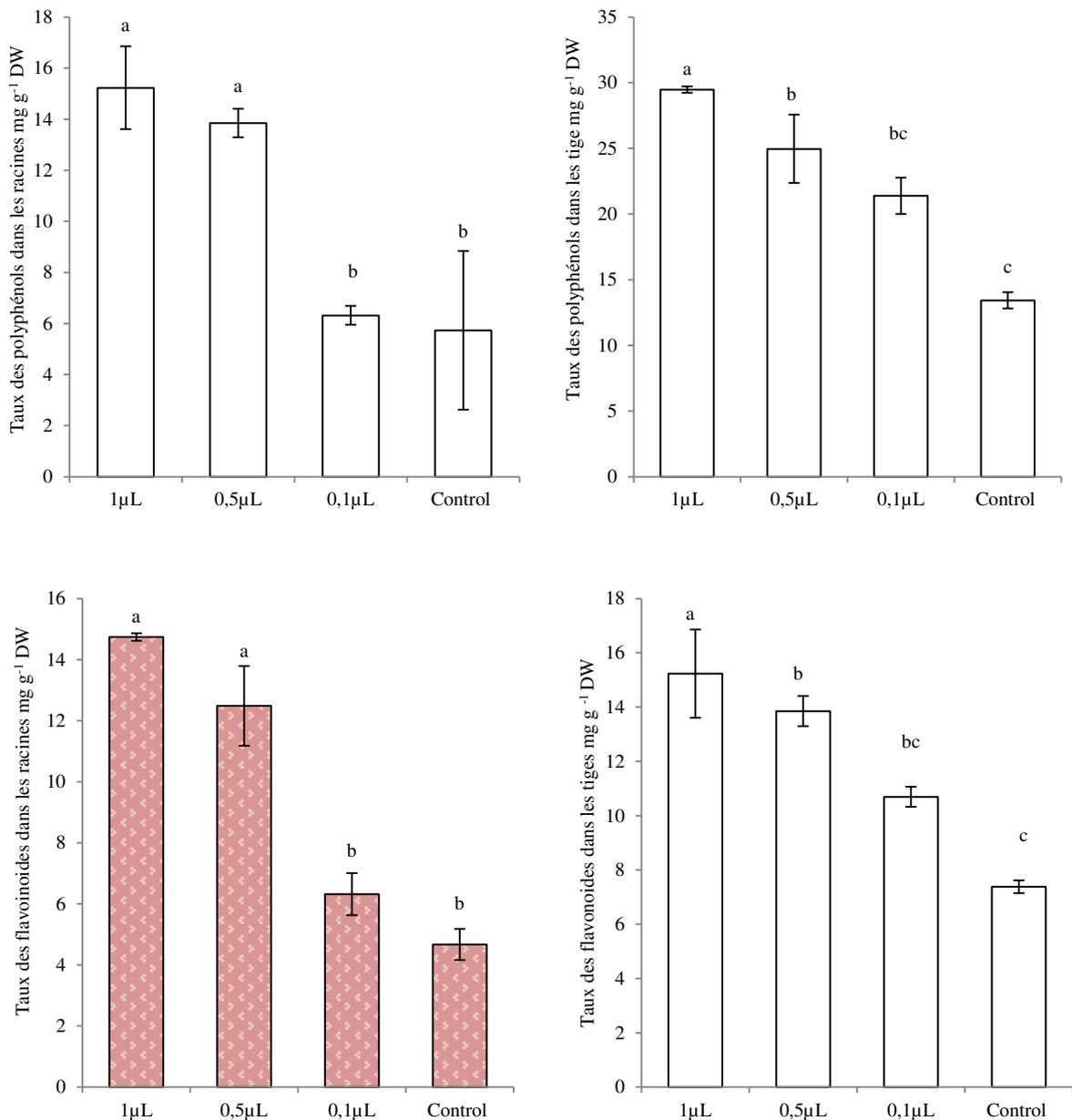


Figure 11 : Variation des taux des polyphénols (a et b) et des flavonoïdes (c et d) chez les plantules de pois chiche traitées avec l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé en culture

Chapitre III. Résultats et discussion

hydroponique. Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

1.2. Résultats des traitements in vivo

1.2.1 Typologie des sites étudiés

Afin de caractériser le sol initial de chaque site vis-à-vis de la variabilité pédologique, les principales caractéristiques physico-chimiques qui déterminent le gradient de la fertilité du sol sont mesurées dans chaque site. Les différentes caractéristiques physico-chimiques sont représentées dans le tableau 3.

Tableau 2 : Propriétés physico-chimiques du sol des sites expérimentaux S1 et S2. Les valeurs représentent la moyenne de 4 répétitions \pm SE (Erreur standard). Les lettres indiquent une différence significative entre les moyennes à $p < 0,05$.

	Argile (%)	Limon (%)	sable (%)	pH	CE	Caco3 (%)	Total-N (g kg ⁻¹)	Olsen-P (mg kg ⁻¹)
S1	23.49+0.31b	63.3+0.51a	13.12+0.8a	7.27 \pm 0.0a	138.35+0.3b	19.92+0.5a	1.50+0.07a	16.89 \pm 0.26b
S2	36.02+0.1a	53.8175+0.3b	10.16+0.2b	7.05 \pm 0.01b	155.03+0.8a	15.16+0.4b	1.35+0.02b	20.08 \pm 0.23a
p-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

Les résultats obtenus montrent une différence significative entre les deux sites étudiés concernant les propriétés physiques en termes de proportions d'argile S1 (23%), S2 (36%) et de sable S1 (13%), S2 (10%). Par contre une différence très hautement significative est observée dans la teneur en limon; le S2 contient la plus forte proportion de limon (63,3%).

En ce qui concerne les propriétés chimiques les teneurs en N-total, P total et le P-Olsen sont significativement différentes entre les deux sites expérimentaux.

Le site expérimental S2 est caractérisé par une faible teneur en N-total (1.35 g kg⁻¹) et le S1 caractérisé par une forte teneur en N-total (1.50 g kg⁻¹). Cependant, le S2 est caractérisé par un taux élevé en P-Olsen environ (20.08 mg kg⁻¹) comparé avec le S1 (16.89 mg kg⁻¹). La teneur de calcaire total (CaCO₃) dans les deux sites est plus au moins élevé, alors que le S1 évoque un taux environ 19.92% et le S2 environ 15.16%. Par ailleurs, ces deux sites ont présentés des valeurs de pH environ 7.27 et 7.05, respectivement (Tableau 3).

1.2.2. Résultats des analyses microbiologiques de sol

D'après l'ANOVA, la variabilité des sites dénonce un effet hautement significatif sur le taux des espèces fongique et bactérienne. Les résultats des analyses fongiques et bactériennes des deux sites sont indiqués dans la figure 12.

Chapitre III. Résultats et discussion

Les isollements fongiques pratiqués sur le sol de la rhizosphère de pois chiche montrent également une importante variabilité des espèces fongiques. La plus grande trame des genres fongiques identifiés, lors des isollements effectués est groupée au sein des Champignons Mitosporiques, et dont la plupart des taxons appartiennent à la classe des Hyphomycètes (*Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*). Le reste des genres sont attribués au Phylum des Ascomycota; *Penicillium*, *Aspergillus* et *Trichoderma*.

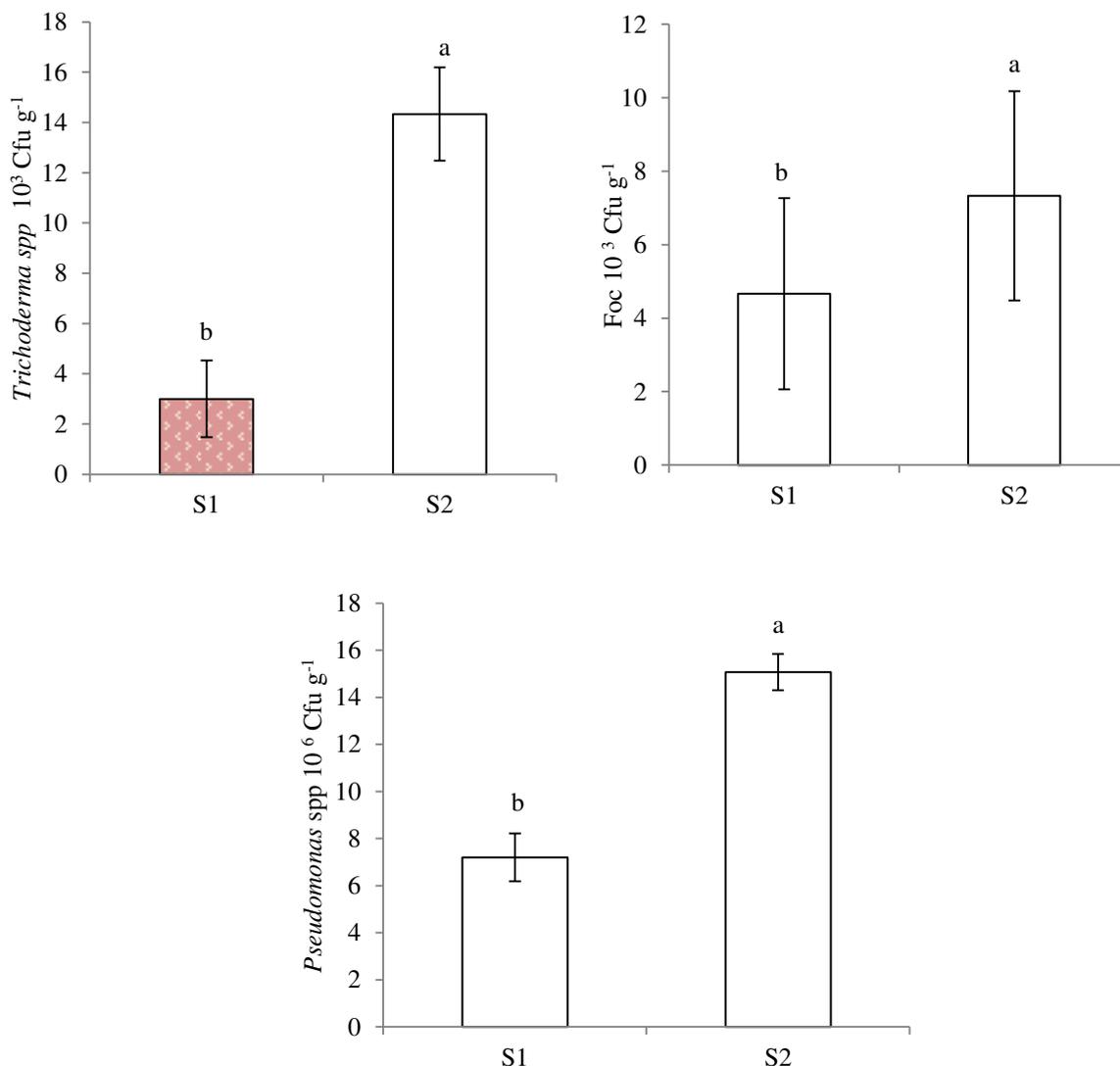


Figure 12 : Résultats des analyses mycologiques et bactériologiques des sols initiaux (a) Foc ; (b) *Trichoderma* (c) *Pseudomonas* spp. Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

L'analyse des données montre que le S2 est très riche et diversifié en espèces fongiques comparé avec le S1. A cet effet, la population fongique inventoriée dans le S2 est environ 450 isolats, tandis qu'elle est dans l'ordre de 230 isolats. La lecture des résultats a mis

Chapitre III. Résultats et discussion

en évidence la dominance de genre *Aspergillus* et *Penicillium* dans les deux sites. Cependant, le genre *Fusarium* a montré sa dominance au niveau de S1 (7.33×10^3 Cfu g⁻¹ soil) comparé avec le S2 (4.67×10^3 Cfu g⁻¹ soil). Par contre, le genre *Trichoderma* et le plus dominant en S2 (7.33×10^3 Cfu g⁻¹ soil) comparé avec le S1 (4.3×10^3 Cfu g⁻¹ soil).

Les observations morphologiques et les tests biochimiques montrent également que les isolats de *Pseudomonas* spp appartenant aux trois espèces sont, *P. aeruginosa*, *P. luteola* et *P. fluorescens*. Cependant, le taux le plus élevée en *Pseudomonas* spp a été constatés sur S2 (15.7×10^6 Cfu g⁻¹ soil) comparé avec le S1 (7.2×10^6 Cfu g⁻¹ soil).

1.2.3. Résultats des traitements par les huiles essentielles

1.2.3.1. Description des symptômes de la maladie

Les observations effectuées sur les plantes de pois chiche durant les deux années d'expérimentation indiquent l'apparition des symptômes atypiques de la maladie représentés par un jaunissement qui entretend les parties basales et qui progresse vers les parties supérieures des plantes (Figure 13). D'après les observations effectuées on constate une défoliation intensive, une faible floraison ou la promotion des fleurs stériles (Figure 13).





Figure 13 : Symptômes de flétrissement vasculaire de pois chiche sur plantules de pois chiche. (a et b) représente le sol S1 et S2 traités ; (c et d) les témoins S1 et S2 non traités.

1.2.3.2. Isolement, identification et pathogénicité de *Fusarium*

Les isolats sélectionnés de FOC obtenus à partir des sols après l'isolement, l'identification et la monospore ont totalement exprimés les symptômes de flétrissement vasculaire après l'inoculation de ces derniers sur la variété sensible ILC 3279. Les symptômes extériorisés par les plantes du pois chiche ont montré une ressemblance avec les symptômes observés sous serre.



Figure 14 : Pathogénie des isolats du FOC issues de sol et des tiges des plantes malades.

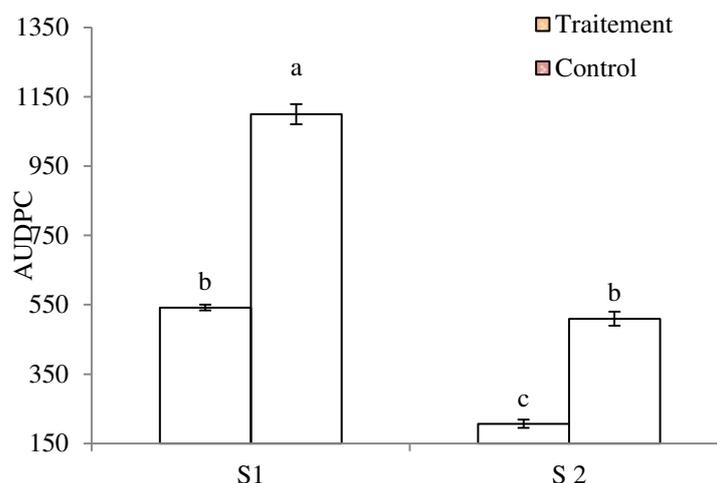


Figure 15 : Variations des valeurs de l’AUDPC chez les plantules traitées et non traitées avec l’huile essentielle de *T.pallescens* de Noé des deux sites expérimentaux. Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

1.2.3.3. Variation de l’AUDPC en fonction le traitement par la formulation de *T.pallescens* de Noé

D’après l’ANOVA, le traitement, le site et l’effet conjugué sites x traitement montrent un effet hautement significatif ($p \leq 0.001$). L’analyse des données affichées dans la figure 15 montre effectivement que les valeurs de l’AUPDC les plus élevées sont constatées dans les témoins des sites S1 (1100) et S2 (510). Alors, qu’une diminution de ces valeurs dans les mêmes sites a été enregistrée après le traitement par l’HE de *T.pallescens* de Noé avec des fréquences environ 541.67 et 206.67, respectivement. Ces dernières valeurs indiquent une diminution de la maladie environ 50.75 et 59.47%, respectivement.

1.2.3.4. Variation de poids sec de la partie aérienne et la biomasse nodulaire en réponse aux traitements par l’huile essentielle de *T.pallescens* de Noé

Les résultats de la Figure 16 montrent que les paramètres de croissance varient considérablement en réponse aux traitements par les HEs dans les deux sites expérimentaux. Les analyses ANOVA exposent également un effet significatif de traitement et de site sur le poids secs de la partie aérienne ainsi que sur le poids secs nodulaire.

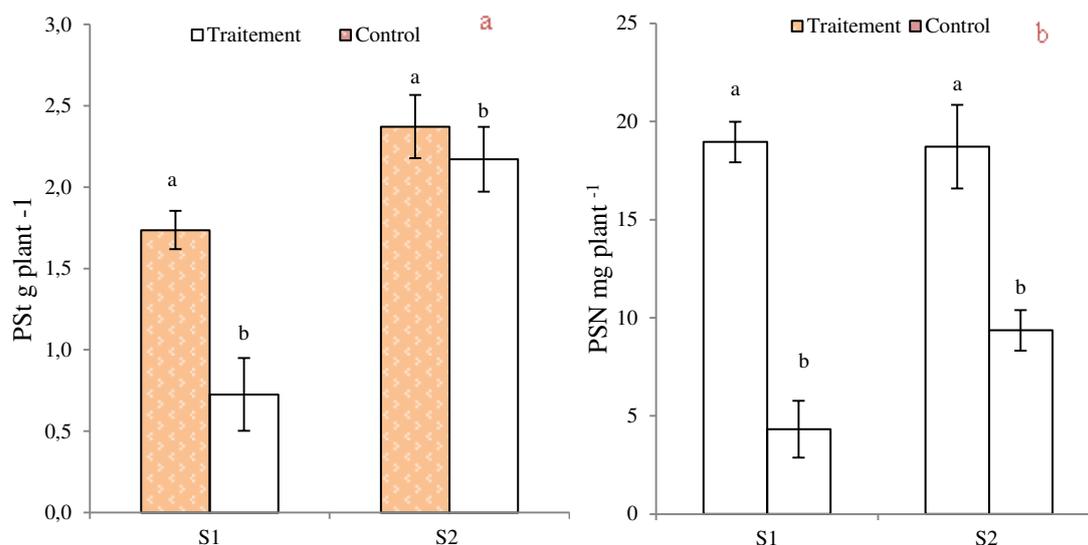


Figure 16 : Poids sec de la partie aérienne (a) et le poids sec des nodules (b) dans le S1 et le S2 en réponse aux traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé. Les données sont les moyennes de 5 répétitions \pm ES. Différence significative à $p < 0,05$ et $p < 0,01$, respectivement.

L'analyse des données dans le S1, montre que le poids sec de la partie aérienne a significativement augmenté (58.17%) dans la culture traitée par rapport au témoin non traité (Figure 16). Cependant, une augmentation plus au moins faible (8.43%) a été constatée chez

les plantules de S2 traitées avec l'HE de *T.pallescens* de Noé comparé avec le témoin non traité.

Le poids sec nodulaire dans les deux sites expérimentaux, est rapporté dans la figure 16. Il est considérablement augmenté lorsque le pois chiche est traité avec l'HE comparé avec les témoins non traités. Cette augmentation est supérieure environ 77.21% chez plantules de S1 comparée avec le S2 (50%).

1.2.3.5. Variation du (Olsen-P) assimilable dans la rhizosphère en réponse aux traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé

La concentration en P-Olsen, a été mesurée dans la rhizosphère du pois chiche (Figure 17) traitée par l'HE de *T.pallescens* de Noé afin qu'elle soit comparée à celle du sol bulk (témoin) non traité. Le teneur en P-Olsen en S1 est supérieur dans le sol traité (22.89 mg kg⁻¹) comparé avec le témoin non traité (19.26 mg kg⁻¹). Ces résultats dégagent une augmentation environ 15.58%. Dans le S2, la concentration en P-Olsen dans la rhizosphère diminue significativement par rapport à celle du sol bulk. Cependant, le taux de P-Olsen enregistré dans le S1 est de l'ordre de 30.42 mg kg⁻¹ affiche une réduction environ 3.15%.

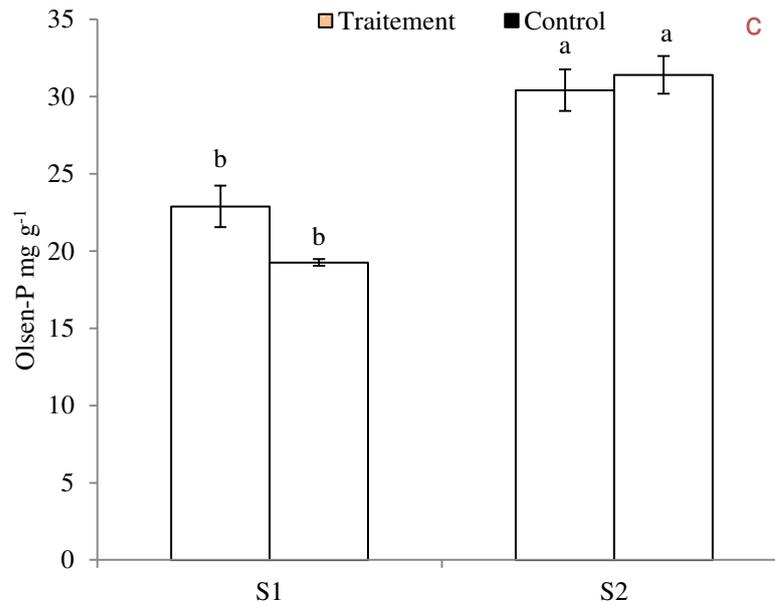


Figure 17 : P-Olsen (mg kg^{-1}) dans le sol de la rhizosphère traités avec l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé (a et b) dans les deux sites expérimentaux (S1 et S2). Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

1.2.3. 6. Variation de N-Total rhizosphérique

Pour évaluer l'effet des traitement par l'HE de *T.pallescens* de Noé sur la teneur en N-Total dans la rhizosphère du pois chiche et le poids sec des nodules, la courbe de la régression de la corrélation entre ces deux paramètres est étudiée dans les deux sites expérimentaux sous la culture traitée et la sol bulk non traité (Figure 18).

L'analyse des données affichées sur la figure 18 montre également une augmentation significative des taux de N-Total dans les deux sites traitées comparée avec leurs témoins non traités, mais avec des degrés supérieur dans les S2 comparée avec le S1. Les données enregistrées montrent une augmentation plus moins importante en S1 environ 20.65%, alors que le S2 a connu une augmentation environ 30.74% en comparaison avec les témoins.

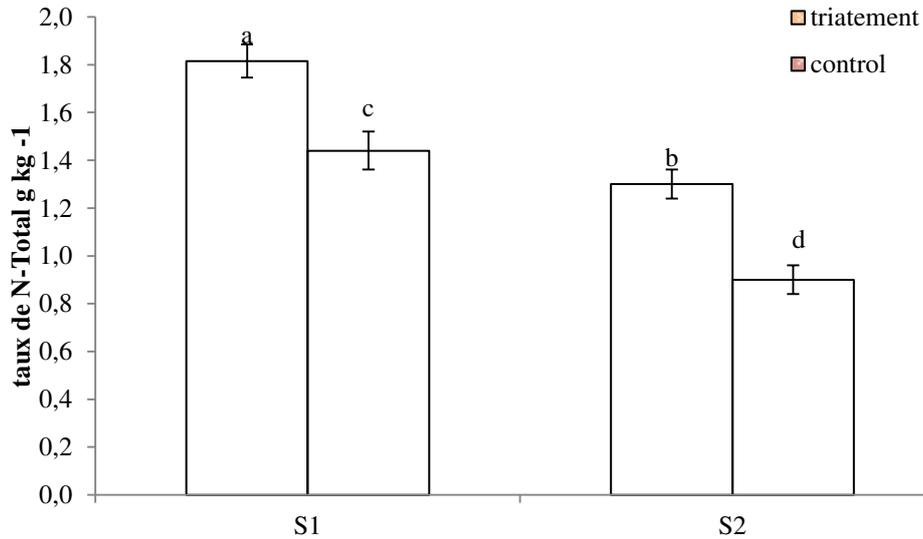


Figure 18 : N-Total (mg kg⁻¹) dans le sol de la rhizosphère du pois chiche dans les deux sites expérimentaux (S1 et S2) en réponse aux traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé. Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

1.2.3.7. Variation de la population microbiologique en réponse aux traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé

Dans le but d'étudier l'effet des traitements par l'HE de *T.pallescens* de Noé sur la qualité microbiologique dans chaque site multilocal des isolements ont été pratiqués et la population de *Pseudomonas* a été mesurée. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 19. Le traitement de données par l'analyse de la variance explique l'effet significatif de site de traitement sur la population fongique et bactérienne.

Chapitre III. Résultats et discussion

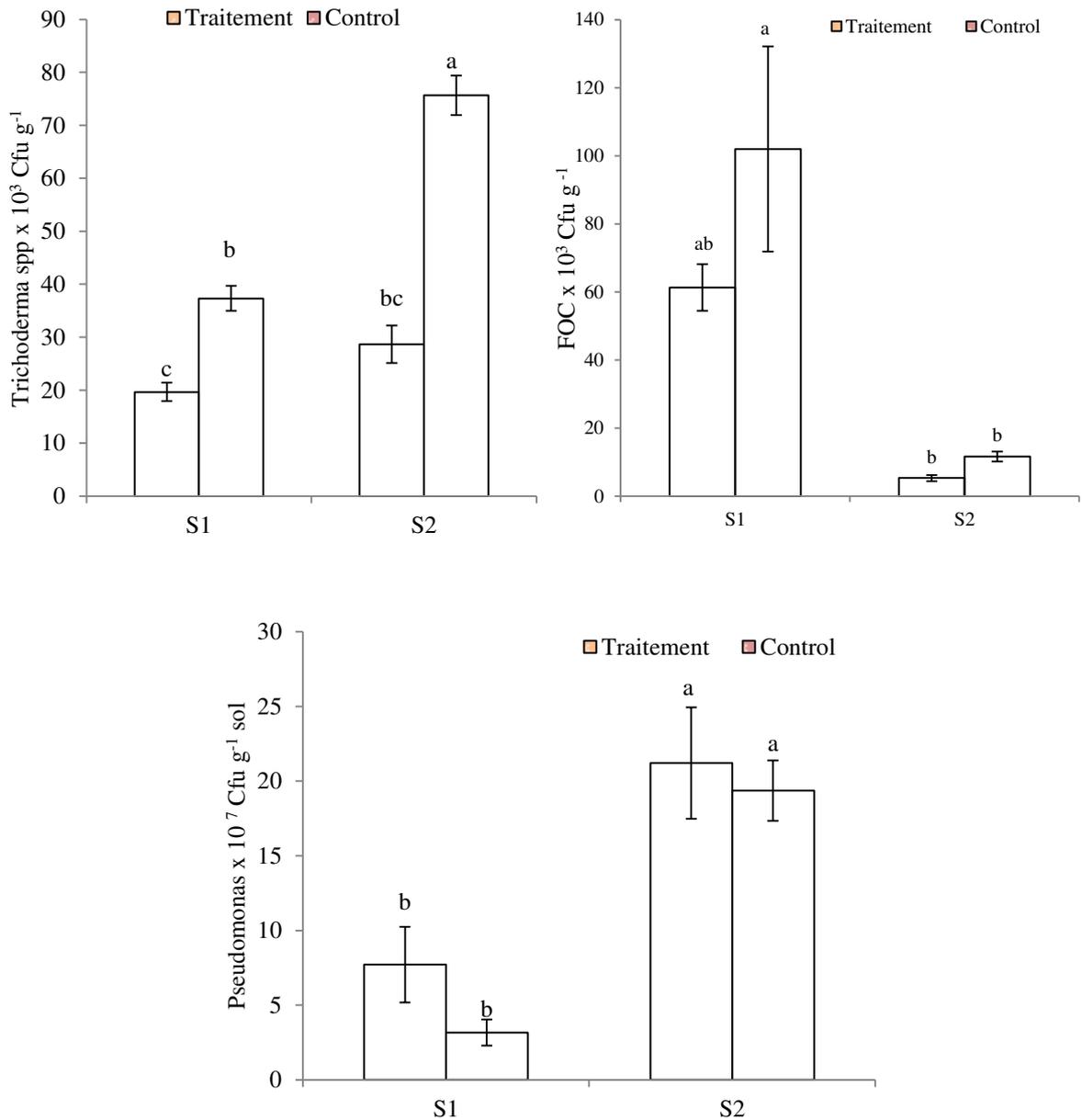


Figure 19 : Variation d'espèces fongique et bactérienne dans le sol rhizosphérique traitées et non traitées des deux sites expérimentaux. Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

Le traitement de sol par l'HE de *T.pallescens* de Noé affecte significativement la population de Foc. Une diminution significative de la population de Foc a été constatée dans les deux sites. Cependant, 39.86 % de diminution a été constatée dans le S1 et 54.28 % dans le S2. Par ailleurs, la population des *Trichoderma* a suivi la même tendance que le Foc, où une diminution significative a été constatée dans les deux sites. Cependant, la diminution est supérieure environ 62.11% comparée avec le S1 qui est de l'ordre de 47.32%.

Le traitement par l'HE de *T.pallescens* de Noé a affecté significativement la population de *Pseudomonas* spp dans les deux sites expérimentaux. Néanmoins, une augmentation significative de la population de *Pseudomonas* spp a été constatée dans la rhizosphère de pois chiche dans le S1 avec une fréquence environ 59.04%. Par contre, la population de *Pseudomonas* spp a connu une diminution environ 8.75 % dans le sol rhizosphérique de S2.

1.2.3.8. Quantification des composés phénoliques et des flavonoïdes dans la partie aérienne

Pour mettre en évidence le potentiel de l'HE de *T.pallescens* de Noé dans l'induction de la défense des plantules contre les infections provoquées par le Foc, les composés phénoliques et les flavonoïdes ont été étudiés dans les tiges de pois chiches. D'après l'ANOVA l'HE affecte significativement le niveau des composés phénoliques et des flavonoïdes.

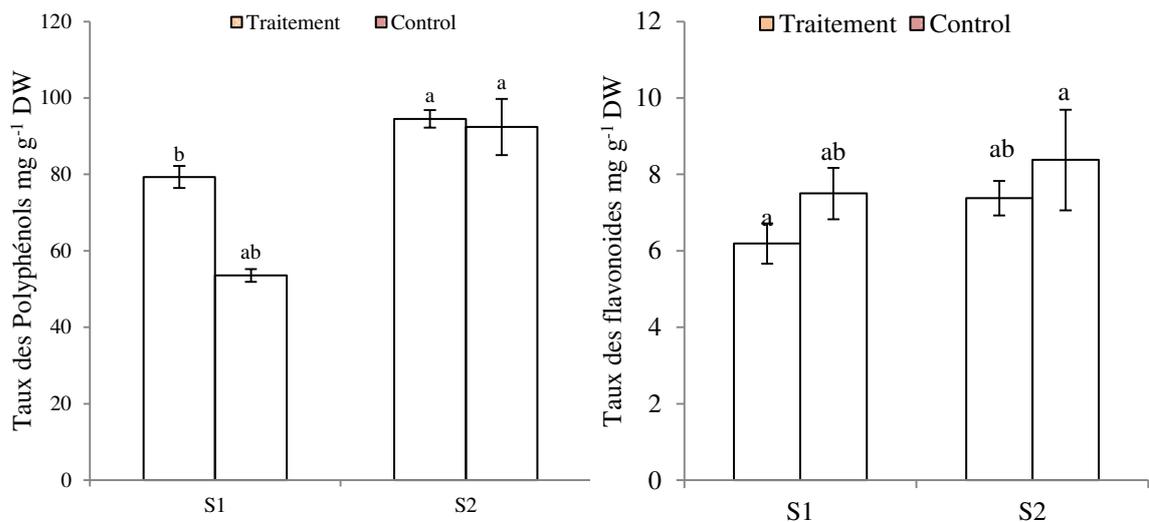


Figure 20 : Variation des teneurs en polyphénols et flavonoïdes chez les plantules des deux sites traitées avec l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé comparés avec les plantules non traitées. Les données sont les moyennes de 3 répétitions \pm SE. Les valeurs moyennes marquées avec des lettres grecques représentent le niveau de signification à $p < 0,05$.

L'analyse des résultats montre que le niveau de composés phénoliques (figure 20) a augmenté d'une façon significative dans les tiges des plantules de pois chiche traités avec l'HE de *T.pallescens* de Noé en comparaison avec le témoin. Cependant, le taux

d'accumulation dans les tiges est avéré supérieur dans le S2 comparé avec le S1. A ce titre, le taux des polyphénols enregistré dans les plantules de S1 est environ 79.29 mg g⁻¹ DW montrent une augmentation environ 48.08% comparé avec le témoin non traité ; alors qu'il est environ 94.52 mg g⁻¹ DW traduit une augmentation de l'ordre de 2.29% comparées avec les plantules non traitées.

L'analyse des données a mis en évidence que les flavonoïdes ont suivi la même disposition que les polyphénols. En effet, dans les résultats affichés dans la figure 20 montre également que l'accumulation des flavonoïdes dans les tiges des plantules de S2 est supérieure à celui accumulés dans les plantules de S1. Dans cette optique, le taux des flavonoïdes enregistré dans les tiges des plantules de S2 traitées avec l'HE de *T.pallescens* de Noé est de l'ordre de 7.5 mg g⁻¹ DW dégage une augmentation environ 17.46%, tandis que il est de l'ordre de 8.38 mg g DW énonce une augmentation environ 11.94% dans les plantules de S2 traitées avec l'HE comparées avec celles non traitées.

2. Discussion :

Différentes plantes aromatiques synthétisent des molécules odorantes qui constituent les huiles essentielles capables d'exercer un effet équivalent à celui des fongicides, et cela grâce à la nature chimique de leurs constituants. Les extraits végétaux ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene *et al.*, 2006). Elles agissent en empêchant la croissance et la sporulation des champignons.

Bien que les travaux effectués sur l'effet de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur la croissance mycélienne et la germination des spores de *Fusarium oxysporum* f sp *ciceris* aient montré une activité antifongique remarquable qui varie selon la dose appliquée.

En effet, l'activité antifongique des huiles essentielles peut s'expliquer par les principaux composés des huiles essentielles (Herman *et al.*, 2016 ; Carovic-Stanko *et al.*, 2010) les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques). Des composés chimiques qui ont une grande efficacité et à plus large spectre sont présents dans les huiles essentielles en particulier les phénols (1,8 cinéole, carvacrol, octanol, ...) les alcools, (α - terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones (Camphor, etc.) (Herman *et al.*, 2016 ; Carovic-Stanko *et al.*, 2010), ce qui explique l'activité antifongique sur les mycètes. Autrement, nos résultats indiquent que l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé est très riche en composés phénoliques caractérisées par son antifongique notamment le carvacrol, thymol et 1,8 Cinéole.

En effet, nos résultats de recherche sur le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé corroborent ceux obtenus par Benchaabn *et al.*, 2015 ; Hazzit *et al.*, 2009a, 2009b. Ces chercheurs ont signalés la richesse de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé en composé phénolique (thymol, carvacrol et 1.8 cinéole). Cependant, Hazzit *et al.* 2009a, ont avéré l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé contre. Des résultats similaires ont été obtenus par Manganyia *et al.* (2015) après un traitement de milieu de culture avec différentes concentrations de l'huile essentiel de *Thymus vulgaris*. Les résultats obtenus montrent une zone d'inhibition totale contre *Fusarium oxysporum* avec les concentrations 500, 1000, 2000, 2500 et 3000 ppm et 61% pour la concentration 250 ppm. Nos résultats se corroborent avec ceux obtenus par Kumar *et al.* (2008), dont une inhibition totale a été obtenue après le traitement de par l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*. Ces chercheurs ont constaté une zone d'inhibition environ 100% avec une concentration minimale de 700ppm.

Les travaux menés par Bhaskara Reddy *et al.*, 1997 sur les effets des huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sur *Botrytis cinerea* et *Rhizoctonia stolonifer* ont montré leur effet antifongiques, à différentes concentration de l'huile. La zone d'inhibition marquée à la concentration 50 ppm est de 26,5% pour *B. cinerea* et 5.5% pour *Rhizoctonia stolonifer*. Ces valeurs elles sont élevées à la concentration 200ppm 63.5% pour *B. cinerea* et 50.5% pour *Rhizoctonia stolonifer*. Des résultats similaires ont été obtenus par Serife Evrim Arici *et al.*, 2013. L'étude de l'activité antifongique de *Thymus vulgaris* contre *Fusarium oxysporum radialis-lycopersici* et *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* a montré une zone d'inhibition totale par trois concentrations 0.5, 1 et 2%.

Toutefois, il y a beaucoup de recherches qui tentent d'expliquer les mécanismes par lesquels ces composés agissent sur les champignons. L'activité antifongique des huiles essentielles, peut se faire selon différents mécanismes, qui peuvent être représentés par une attaque sur la composition phospholipidique de la membrane cellulaire, la perturbation des systèmes enzymatiques, l'inactivation et la destruction du matériel génétique fongique, l'hydroperoxydase est la formation des acides gras par l'oxygénation des acides gras insaturés, la coagulation du cytoplasme, la perturbation de la force motrice protonique, le flux d'électrons et / ou le transport actif (Badawy et Abdelgaleil., 2014).

Une étude a porté sur les effets antifongiques de l'huile essentielle, les triglycérides trioléine et trilinoléine de l'espèce *J. curcas* (Cordova-Albores *et al.*, 2015), et plus particulièrement sur les conséquences de cette huile sur l'ultra structure du champignon *Fusarium oxysporum*. Elle a tout d'abord permis de déterminer grâce à la microscopie électronique, que lorsque *Fusarium oxysporum* sont exposé à l'huile essentielle, celle-ci a provoqué la formation de nombreuses vacuoles, l'altération de la morphologie de la paroi extérieure du mycélium et des conidies, l'inhibition de l'activité de la membrane après 24 h d'incubation. Nos résultats confirment ceux obtenus par ce dernier, où nous avons constaté une modification très implorante sur la morphologie des conidies de *Foc* après leurs expositions à différentes concentrations de l'huile de *T.pallescens* de Noé. Ces modifications sont représentées par un rétrécissement des cytoplasmes, un éclatement des spores, un arrêt de la germination et la lyse des tubes germinatifs.

Giordani et Kaloustian (2006) ont souligné que les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Cox, 2000). D'autre part, les huiles essentielles peuvent contribuer à l'acidification de l'intérieur de la

cellule, bloquer la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure, affectent aussi la respiration cellulaire, les systèmes enzymatiques, la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de champignons.

Le pouvoir antifongique et les différences observées dans l'efficacité de l'huile essentielle sont expliqués d'une part par la composition et la richesse des huiles testées en composés antifongiques. Il est cependant clair qu'ils interviennent directement sur la morphologie ou la physiologie de l'organisme nuisible ou indirectement par le déclenchement des mécanismes de défense de la plante.

En effet les huiles bioactives des plantes exercent une activité fongicide contre la population fongique du sol, celui-ci est témoigné par les travaux de Belabid et al. (2010). Le traitement du sol par la poudre et les huiles essentielles de neuf plantes médicinales inoculé préalablement par le Fol *Fusarium oxysporum* f. sp *lentis* diminue significativement la population fongique et par conséquent, l'incidence de la maladie.

De plus, l'effet des huiles essentielles sur la maladie pourrait être directement lié l'accumulation intensive des substances phénoliques et des flavonoïdes dans la plante infectée. Nos résultats ont indiqués que le taux des polyphénols et des flavonoïdes sont très élevées dans les plantes traitées avec l'huile essentielle comparé avec les témoins non traités.

En effet, l'efficacité des huiles essentielles de *T.pallescens* de Noé est attribuée aux changements quantitatifs des enzymes relatives à la résistance systémique induite à savoir, phenylalanine ammonia lyase, polyphenoloxidase et peroxidase (Ojaghian *et al.*, 2014). Il a été rapporté que la résistance systémique contre les agents pathogènes des plantes est associée à des changements dans l'activité de trois enzymes qui ont été évalués dans cette étude. Les PODs sont impliqués dans l'oxydation des polyphénols en des quinones (composés antimicrobiens) et lignification des cellules végétales lors de l'invasion microbienne (Kolattukudy *et al.*, 1992).

En outre, les PODs sont des enzymes oxydo-réducteur qui participent à la formation des barrières tels que l'oxydation des phénols, subérisation et lignifications de cellules hôtes pendant la réaction de défense contre les agents pathogènes (Sommer et al., 1994). En outre, le PAL est une enzyme essentielle dans la voie de biosynthèse de phényle propanoïde conduisant à la synthèse de phytoalexines ou des phénols, qui ont des fonctions de défense chez les plantes, telles que le renforcement de la paroi de cellule végétale (Shanmugam et Kanojia, 2011; Ojaghian *et al.*, 2013).

Ces résultats sont témoignés par les travaux de Ben Jabeur *et al.* (2015). Ces auteurs, ont constaté une réduction significative de l'incidence et de la gravité de flétrissement

vasculaire de la tomate causé par *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis lycopersisi*. Après sept jours de traitement une réduction de 30.76% a été observée. Par ailleurs, les mêmes auteurs montrent bien que l'effet biologique des huiles essentielles dans la réduction de la gravité fusarienne est accompli par l'activation des mécanismes de défense de la plante via une augmentation des quantités produites des composés phénoliques et la voie des peroxydases dans les racines et les feuilles. Par conséquent, l'expression de nombreux gènes de défense et les gènes de biosynthèse de métabolites secondaires. De même, Hashem *et al.* (2010) ont prouvés que les huiles essentielles réduisent d'une façon significative la gravité de la pourriture radiculaire provoquée par le complexe de (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. equiseti* et *F. Lateritium*).

Les résultats obtenus montrent une réduction de la fréquence qui varie entre 28.1 et 92,5%. Soylu *et al.* (2010) ont investigué l'effet des huile essentielles de sur *Botrytis cineria*. Le niveau de protection des huiles testées contre ce champignon obtenu est varié en fonction la dose appliquée et le type de traitement préventifs et curatifs. Le niveau des traitements curatif par l'huile est supérieur entre 30.0 et 80,53% comparé avec le traitement préventif qui varie entre 8.95 et 78.95%. Cependant, le niveau de protection augmente au fur et à mesure l'augmentation de la dose.

Dans cette étude des changements significative dans les assimilât au niveau de la rhizosphère de plantules de pois chiches traitées avec l'huile de *T.pallescens* de Noé a été constatés. Ces résultats peuvent être expliqués par l'effet bénéfique de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur les bactéries qui solubilisent le phosphore de sol. A cet égard, une augmentation significative dans le taux de la population des Pseudomonas dans les pots traités avec l'huile de *T.pallescens* de Noé. Cependant, une corrélation négative a été constaté entre le Olsen-P et le les valeurs de l'AUDPC. Ces résultats peuvent être expliqués par la prévention conduite par l'huile de *T.pallescens* de Noé qui diminue par la suite le taux d'infection comparée avec les témoins non traités signalant un taux d'infection très élevée qui nécessitent un bilan énergétique supplémentaire.

Dans le même contexte, une augmentation significative dans le taux de N-total dans les plantules traitées avec l'huile de *T.pallescens* de Noé comparée avec les témoins non traités. Ces résultats peuvent être expliqués par un effet bénéfique des huiles essentielles sur la population des rhizobiums augmentent par la suite le taux de l'azote biologique dans le sol. Ces résultats peuvent être expliqués par l'augmentation occurrente des nombre et de poids sec des nodules. Nos résultats corroborent ceux obtenus par Bidyarania *et al.* (2016). Les résultats

obtenus par ces chercheurs montre une augmentation significative de deux fois de la teneur en légéoglobine des nodules et de la biomasse végétale a été enregistrée avec le traitement par *Anabaena laxa*. Ces dernières sont révélées être les meilleurs traitements et affectent positivement la chlorophylle du sol, la fixation et la disponibilité de l'azote, le rendement en grains. A cet effet, l'effet cumulatif de l'amélioration de la croissance des plantes et de l'absorption des nutriments a montré une corrélation positive avec l'activité microbologique, en particulier la fixation de l'azote.

Dans la présente étude, une augmentation significative de la biomasse microbienne en particulier le *Pseudomonas* dans les pots traités avec l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé a été enregistrée, par rapport aux témoins non traités. Bien que la corrélation positive de plusieurs caractères de rendement avec des paramètres microbiologiques ait été enregistrée, les analyses de pathogène, qui considèrent l'effet de tous les paramètres sur un seul caractère, ont révélé des résultats intéressants.

Les résultats obtenus indiquent que la population des *Pseudomonas* résiste aux traitements biofongicides par les huiles essentielles.

Les souches de *Pseudomonas spp* identifiées dans cette étude ont directement influencées la croissance des plantes et facilitées l'absorption des nutriments de la rhizosphère, conduisant à l'augmentation de la fertilité du sol. Indirectement, ils ont amélioré la croissance des plantes, en contrôlant et en inhibant l'effet de Foc par la libération de phytohormones. Selon (Babu *et al.*, 2015a, Bidyarani *et al.*, 2015, Prasanna *et al.*, 2015) ces bactéries sont connues pour favoriser la croissance des plantes en produisant des IAA, inhiber la croissance des champignons phytopathogènes et susciter des enzymes de défense des plantes.

Nos résultats indiquent une diminution significative de la fraction fongique dans les sols traités comparés avec ceux non traités. Une diminution significative de la population de Foc, alors que la population des *Trichoderma* a suivi la même tendance que la population de Foc. Ces résultats peuvent être expliqués par la sensibilité des espèces de *Trichoderma* aux traitements des huiles essentielles. Ces résultats démontrent aussi le non sélectivité de l'effet fongicide des huiles essentielles vis-à-vis la population pathogène et la population des antagonistes.

CONCLUSION

Conclusion

Le flétrissement vasculaire de pois chiche, causé par *Fusarium oxysporum* f .sp. *ciceri* (FOC), est la maladie fongique la plus dévastatrice sur la culture de pois chiche. La lutte contre cette maladie est restreinte sur la lutte chimique. Cependant, les HEs ont été proposées comme une stratégie biologique pour la gestion de cette maladie pour éviter les effets néfastes de la lutte chimique.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'effet des huiles essentielles sur la maladie de flétrissement vasculaires de pois chiche, la disponibilité des éléments nutritifs (N-Total ; P-Olsen) ainsi que sur les communautés microbienne de la rhizosphère. Nous nous sommes focalisés sur l'influence de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé sur la disponibilité du P et N en relation avec l'efficacité de l'utilisation de la symbiose rhizobienne des nodules dans deux sols contrastés en matière des teneurs minérales (N et P) dans le sol initial. Cette étude a centralisée pareillement sur l'efficacité des traitements par l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé en relation avec la population pathogènes et antagoniste, ainsi que leurs effets sur la résistance systémique des plantules de pois chiche.

L'analyse de profil chimique de l'HE de *T.pallescens* de Noé a présenté plus de 20 composés, dont le carvacrol (54.09%), le thymol (16.24%), le γ -terpinène (8.47) constituent les composés majoritaire.

Les tests des huiles essentielles in vitro indiquent une efficacité fongicide contre le Foc. La croissance mycélienne, la sporulation, et la germination des conidies ont été totalement inhibés avec les concentrations 1 et 0.5 μ L. Les observations microscopiques des suspensions sporales traitées avec l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé ont montré des modifications profondes et un éclatement, une inhibition de la germination totale ou partielle et la lyse des tubes germinatifs a été constatés.

Les résultats obtenus indiquent une diminution de la sévérité de la maladie en culture hydroponique. A cet effet, une diminution environ 100% a été constatée chez les plantules traitées avec la concentration de 1 μ L. Cependant, une augmentation des teneurs en polyphénols environ 37.22 à 54.45% dans les tiges et 4 à 10.67 % dans les racines. Par ailleurs, une augmentation des teneurs en flavonoïdes environ 31 à 51.55% dans les racines et 26.10 à 68.32% dans les tiges a été constatée chez les plantules traitées avec l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé en comparaison avec celles non traitées.

L'analyse des données de la sévérité de la maladie a été démontrée l'efficacité de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé dans la protection des plantules de pois chiche contre le Foc dans les conditions in vivo. Les valeurs de l'AUPDC les plus supérieures sont

Conclusion

constatées chez les témoins des S1 (1100) et S2 (510), traduisant une diminution de la gravité de la maladie environ 50.75 et 59.47%, respectivement.

L'application des huiles essentielles dans des deux sols naturels indiquent des effets variables sur les nutriments (l'azote et le phosphore) et sur la population microbiologique du sol rhizosphérique de la culture de pois chiche.

Ce travail a permis de montrer que la disponibilité du P-Olsen augmente dans la rhizosphère du pois chiche de S1 (15.58%) sous l'effet de traitement par l'huile essentielle ; tandis qu'une diminution plus au moins remarquable (3.15%) a été décelée. Elle est, dans une certaine mesure, accompagnée par une augmentation de l'efficacité de l'utilisation de la symbiose rhizobienne et par une stimulation de la croissance nodulaire. A ce titre une augmentation dans la disponibilité de N a été constatée dans les deux sites avec des fréquences environ 20.65 % et 30.74% dans les S1 et le S2, respectivement. Cette augmentation est expliquée par la stimulation de la croissance nodulaire, où une augmentation de la biomasse rhizobienne environ 71.21 et 50% ont été constaté dans les deux sites, respectivement.

Par ailleurs, la compréhension des effets des huiles essentielles sur la fraction microbiologique du sol et en particulier le Foc et les antagonistes dans la rhizosphère est nécessaire pour mettre en évidence l'efficacité et la sélectivité des traitements par l'huile essentielle. Une diminution de la concentration de Foc dans les soles S1 et S2 rhizosphérique a été enregistrée avec des pourcentages environ 39.86 % et 54.28 %, respectivement. La population des *Trichoderma* spp a suivi la même tendance avec des fréquences de régression environ 62.11% et 47.32%, respectivement.

Néanmoins, une augmentation significative de la population de *Pseudomonas* spp a été constatée dans la rhizosphère de pois chiche dans le S1 avec une fréquence environ 59.04% et une diminution environ 8.75 % dans le sol rhizosphérique de S2. A ce titre on conclut que l'huile de *T.pallescens* de Noé est une substance promotrice d'espèces bactériennes à effet antagonistes contre le Foc et le *Trichoderma* sp.

Le résultat de l'effet des traitements par l'huile de *T.pallescens* de Noé a permis aussi de confirmer les résultats obtenus en culture hydroponique. L'application de l'huile essentielle de *T.pallescens* de Noé influe significativement les mécanismes de résistances des plantules de pois chiche, et une augmentation des teneurs des plantules traitées en polyphénols et flavonoïdes a été révélée. Un accroissement environ 48.08 et 2.29 % des polyphénols a été constaté chez les plantules de S1 et S2, respectivement. Parallèlement, les

Conclusion

fréquences d'accroissement des flavonoïdes sont de l'ordre de 17.46 et 11.94 %, respectivement.

Nos conclusions peuvent déboucher sur des perspectives de recherche en rapport avec d'autres pathosystème pour confirmer ces pertinents résultats. De plus, il est souhaitable, d'orienter les recherches vers l'étude de l'effet des huiles essentielles sur d'autres facteurs chimiques et biologiques de sol.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- A., (2009)** : Evaluation of the acaricide activity of thymol on engorged and unengorged larvae of
- Afnor, (2000)** : Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome 1) Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. 1et 2).
- Agrios G. N., (1988)** : Plant pathology. 3rd edition. San Diego (CA): Academic Press, Inc. 803p.
- Allali H., Boussouar K., (2007)** : Etude des besoins en eau de la culture de pois chiche (*Cicer arietinum*) dans la région de Sidi Bel Abbés mémoire de fin d'étude de des biologies et physiologie végétale.
- Anonyme 2, (2011)** : Lutte biologique contre la fusariose vasculaire du pois-chiche. Agropedia.<<<http://agropedia.iitk.ac.in/content/lutte-biologique-contre-la-fusariose-vasculaire-du-pois-chiche>>>.
- Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic
- Ardestani A., et Yazdanparast R. (2007)** : Antioxidant and free radical scavenging potential of Achillea santolina extracts. Food Chemistry, 104(1), 21-29.
- Aubert G., (1978)** : Rapport de mission auprès de l'Institut national de la recherche agronomique en Algérie du 7 au 14 avril 1978. Rapp. Mu1tigr., Paris, Orstom, 35 p.
- Ayadi A., (1986)** : Analyse agronomique de différents types de pois chiche : Influence de la date de semis. Diplôme d'agronomie approfondie. ENSA, France, 73p.
- Babar B. M., Shah T. M., Abbas G. and Ahsanul haq M., (2009)**: Genotype X environment interaction for seed yield in Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L). genotypes developed through mutation breeding. *Pakistan Journal of Botany*. 4:1883-1890.bacteria. Soil and environment., 1: 56-59.
- Babu S., Prasanna R., Bidyarani N., Singh R., (2015a)** : Analysing the colonization of inoculated cyanobacteria in wheat plants using biochemical and molecular tools. *J. Appl. Phycol.* 27, 327–338.
- Badawy E.I., Samir A.M., Abdelgaleil, (2014)**: Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi Mohamed . *Industrial Crops and Products* 52 (2014) 776– 782.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., (2008)**: Review MI-Biological effects of essential oils-A review food and chemical toxicology. (46); pp 446-475.
- Baumgartner A., (1998)** : Le pois chiche : la viande des pauvres. *Tabula*, 3: 16–19.
- Belabid L., Fortas Z., Dalli D., Khiare M. et Amdjad D., (2000)** : Flétrissement et pourriture racinaire de la lentille dans le nord-ouest Algérien. , *Phytopathologie*, Institut d'agronomie, BP 763, Mascara, 29000 Algérie. Cahiers Agricultures.
- Belkou H., beyoud F., et talebbahmed Z., (2005)** : Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*Mentha spicata* L) dans la région de ouargla, mémoire DES, univouargla. P2-61.
- Bella D. K., Wells H. D. and Markma C.R., (2003)** : *Phytopathology* 72, 372 .
- Ben Freha F., Benveless M., et Merzoug A., (2010)** : La fusariose vasculaire du pois chiche (*cicer arietinum* L) dans le nord-ouest algérien : extension et dégâts. 1^{er} séminaire National sur la protection des plantes cultivées. Centre Universitaire de Khemis Miliana. Institut des Sciences de la Nature et de la terre.p.62.
- Ben Mbarek K., Boujelben A., Boubaker M. et Hannachi C., (2009)** : Criblage et performances agronomiques de 45 génotypes de pois chiche (*Cicer arietinum* L.) soumis à un régime hydrique limité. *Biotechnologies Agronomique et Sciences Environnementales.*, 3:381-393.
- Beneteaud E., (2011)** : Comité français du parfum.

Références bibliographiques

- Benferha M., (2008) :** 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 test de sa sensibilité aux triazoles. Mémoire de Magister, Université d'Oron.
- Benhammou N., Bekkara F.A. et Panovska T.K.,(2009) :** Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. C. R. Chimie. 12: 1259- 1266.
- Ben-Jabeur Maissa, Emna Ghabri, Machraoui Myriam et Walid Hamada, (2015):** Thyme essential oil as a defense inducer of tomato against gray mold and Fusarium wilt. *Plant Physiology and Biochemistry* 94 (2015) 35-40.
- Berger J., Abbo S. and Turner N.C., (2003):** Ecogeography of annual wild Cicer species: The poor state of the world collection. *Plant Genetic Resources. Crop Sci.*, 43:1076-1090.
- Bidyarani N., Prasanna R., Babu, S., Hossain F. and Saxena A.K. (2016) :** Enhancement of plant growth and yields in Chickpea (*Cicer arietinum* L.) through novel cyanobacterial and biofilmed inoculants. *Microbiological Research*, 188:97-105.
- Billerbeck V.G.D., (2008) :** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapies*, 5(5) , 249-253.
- Bouchra C., Achouri M., Hassani L.M.I. Et Hmamouchi M., (2003):** Chemical Composition And Antifungal Activity Of Eessential Oils Of Seven Moroccan Labiatae Against Botrytid Cinereapers .*Fr-Journal Of Ethno Pharmacology* ; (89): 165-169.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S. et Abrini J., (2006) :** Thymus essential oils : chemical composition and in vitro anantioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai 2006
- Boutoba, (2013) :** Effet Acaricide de huile de *thymus Vulgaris* sur la varroa jacobsoni. Pp : 25-44.
- Bouzerzour H., Djekoune A., Benmhammed A. et Hassous L., (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.
- Bouznad Z., Solh M., Labdi M., Rouibah M. et Tebbal H., (1990) :** Preliminary results on the causes of wilt and root rot of chickpea in Algeria. In the 8th congress of the Mediterranean phytopathological union. pp: 345-346. Agadir -Morocco.
- Bruneton J., (1999).** Pharmacognosie et phytochimie, médicinales plantes Paris, Lavoisier.
- Burits M., et Bucar F., (2000):** Antioxidant Activity Of Nigella Sativa Essential Oils. *Phytotherapy Research*, 14, 323-328.
- Calvet C., Pera J. et Bera J.M., (1990) :** Interaction of *Trichoderma* spp. with *Glomus*
- Canda F., Unlu M.T.B., Daferera, Daferera D., Polissiou M., Sokmen A. et Akpulat A., (2003).** Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Methanol Extracts Of Achillea Millefolium Subsp. Millefolium Afan. (Asteraceae).*Journal Of Ethnopharmacology*. 87,251-220.
- Chazel M., Chazel L., (2012) :** Découverte naturaliste des garrigues : Guide pratique. Paris, Quae, 208p.
- Chemat S., Lagha A., Ait Amar H., Bartels P.V. et Chemat F., (2004) :** Comparison Of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal*, (19), pp : 188 – 195.
- Chérif M., Arfaoui A. and Rhaim A., (2007):** Phenolic compounds and their rol in Bio-control and resistance of chickpea to fungal pathogenic attacks. *Tunisian Journal of Plant protection*.2:7-12.

Références bibliographiques

- Chua L.S., Rahaman N.L.A., Adnan N.A., Tan T.T.E., (2011)** : Antioxidant Activity of Three Honey Samples in Relation with Their Biochemical Components. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-8.
- Clevenger J.F., (1928)**: Apparatus for the determination of volatile oil. American Pharmaceutical association, 17,345-349.
- Cooke B.M., (2006)**: Disease Assessment and Yield Loss.P 43-80.In Cooke.B.M. :KAYE .B./and Greth.J. D.The Epidemiology of plant Diseases. Springer.538p
- Cortés-Giraldo I., Megías C., Alaiz M., Girón-Calle J., Vioque J., (2016)** : Purification of free arginine from chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. *Food Chem.* 2016 Feb 1; 192:114-8.
- Cox S.D., Mann Cm., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. et Wyllie S.G., (2000)** : The mod of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree oil). *J. Appl. Microbiol*, 88(1):170- 175.
- Cseke L., Korrnfeld A., Kaufman P.B., Kirakosyan A., Warbers L. et Brielmannh L., (2007)** : Natural products from plants, how and why these compounds are synthesized by plants,edition taylor et fracis ,2eme edition.p611.
- Daemon E., De Oliveira Monteiro C.M., Dos Santos Rosa L., Aparecido Clemente M., Arcoverde Davidson J. A., Pande S., Bretag T. W., Lindbeck K. D., et Kishore G. K., (2004)** : Biology and management of *Botrytis spp.* in legume crops. In: Elad Y, Williamson B, Tudzynski P, Delen N (Eds). *Botrytis: Biology, Pathology and Control* .Kluwer Academic Publishers, Netherlands. pp: 295-318.
- Degryse A.C., Delfa I. et Voinier M.A., (2008)** : Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique.* (2008). 94, 8-11.
- Djeridane, A., Yous, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. (2006)** :
- Dorman, H .J. D. et Deans S .G., (2000)** : Antimicrobail Agents From Plants : Antibacterial Activity Of plant Volatile Oils ,*Journal Of Applied Microbiology* ;(88) ;N° 2 PP :308-316.
- Duke J.A., (1981)**. Legumes of world economic importance Ed .Plenum press,New-York and London, 25p.
- Durante M.C.T., Figueira G. M., Sartoratto A., Rehader V.L.G. et delaramelina C., (2005)** : Anti –Candida Activity Of Brazilina M edicinal Plants .*Journal Of Ethnopharmacology* ,97(2) ; 305-311.
- Ebrahimi S.N., Mirjalili J.H., Sonboli A., Yousefzadi M., (2008)** : Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stage. *Journal Food Chemistry*, 110(4),927-931 .
- Edel V., Steinberg C., Avelange I., Laguerre G. and Alabouvette C., (1995)** : Comparaison of three molecular methods for the characterization of *Fusarium oxysporum* strains. *Phtopathology*, 85: 579-585.
- Edris A. E., (2007)** : Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their
- El Ouali Lalami A., EL-Akhal F., Ouedrhiri W., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., Greche H., (2013)** : Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulagris* et *Thymus satureioïdis*, *Les Technologies de laboratoire* ,8(31),27-33.
- Ettatyebi K., El Yamani J., Et Rossi-Hassani B.D., (2000)** : Synergistic Effects Of Nisin And Thymol on Antimicrobial Activities In *Listeria Monocytogenes* And *Bacillus Subtilis*. *Fems Microbiology Letters*, pp: 191-195.
- FAOSTAT., (2017)** : Base de données de l'organisation mondiale de l'agriculture et de l'alimentation www.raostatoru.chickpea-statical.

Références bibliographiques

- Fravel D., Olivain C. et Alabouvette C., (2003):** *Fusarium oxysporum* its biocontrol. New Phytologist. 157, pp: 493-502. *Fusarium oxysporum* agent causal du bayoud ,Thèse doctorat, Université
- Gaur P.M., Krishnamurthy L. and Kashiwagi J., (2008) :** Improving drought avoidance root traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.)- Current status of research at ICRISAT. Plant Production Science. **11(1)**. 3-11.
- Gerhardson B.,(2002) :** Biological substitutes for pesticides. Trends Biotechnol, **20**: 338-343.
- González-Trujano M.E., Pena E.I., Martinez A.L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Déciga-Campos M., Lopez-Munoz F.J., (2007):** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents *J theopharmacol.* 111:476-482.
- Gupta O. M., Kotasthane S. R. et Khare M. M., (1986) :** *Fusarium* wilt of chickpea (*Cicer arietinum*). *Agricult. Rev.* 7, pp: 87-97.
- Hadar Y., Papadopoulou K.K., (2012):** Suppressive composts: microbial ecology links between abiotic environments and healthy plants. *Annu. Rev. Phytopathol.* 50, 133–153.
- Harman, G.E. (2006) :** Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:190-194.
- Hassan F., (2006):** Heterologous expression of a recombinant chitinase from *Streptomyces olivaceoviridis* ATCC 11238 in Transgenic Pea (*Pisum sativum* L.) Doctorat thesis, University of Damas, Syria, pp.150.
- Haware M. P., Nene Y. L. et Mathur S. B., (1986):** Seed borne diseases of chickpea. Technical Bulletin from the Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries. Copenhagen Denmark. (1), 14p.
- Haware M. P., Nene Y. L. et Natarajan M., (1996):** Survival of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* in soil in the absence of chickpea. *Phytopathologia Mediterranean.* pp: 35-9-12.
- Hellal Zohra., (2010) :** Contribution à l'étude des propriétés antimicrobiennes.
- Horn N. M., Reddy S. V. et Reddy D. V. R., (1995):** Assessment of yield losses caused by chickpea chlorotic dwarf geminivirus in chickpea (*Cicer arietinum*) in India. *European Journal of Plant Pathology.* 101, pp: 221-224. <http://legume.ipmpipe.org>
- individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy research*, 21(4), 308-323.
- Iqbal A., Ateeq N., Khalil I.A., Perveen S., Saleemullah., (2006) :** Physicochemical characteristics and amino acid profile of chickpea cultivars grown in Pakistan foodservice. 17: 94-101.
- ITGC., (2003) :** Céréaliculture revue de l'Institut Technique des grandes Cultures N°40.
- ITGC., (2011) :** La lentille et le pois chiche pour une conduite mécanisée. ITGC, Algéri.
- Jaiswal R. et Singh N.P., (2001) :** Plant Regeneration from NaCl Tolerant Callus/Cell Lines of Chickpea, International Chickpea and pigeonpea Newsletter, N°8; ICRISAT International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics; Patancheru 502 324, Andhra Pradesh; 73 pages.
- Jiménez-Gasco M. M., Navas-Cortés, J. A. et Jiménez-Díaz R.M., (2004) :** The *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*/*Cicer arietinum* pathosystem : a case study of the evolution of plant pathogenic fungi in races and pathotypes. *Internat. Microbiol.* 7 (2): 95-104.
- Jukic M., Et Milos M., (2005) :** Catalytic Oxidation And Antioxidant Properties Of Thyme Essential Oils (*Thymus Vulgaris* L.) –*Croatia Chemica Acta* ; Vol.78 ; N°1 ; PP205-110.
- Kechache. K., (2005) :** Contribution à l'étude de l'effet de la fertilisation phosphate à base des engrais SSP 20% et TSP 40% sur le pois chiche mémoire de fin d'études.
- 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.

Références bibliographiques

- Kim. N.S. et Lee D.S., (2002):** Comparison Of different extraction methods the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatograph-mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, 98, P31-47. Labiateae family. Paper presented at VII International congress of essential oils (Cannes), P118-123.
- Klein K. K. et Correll J. C., (2001):** Vegetative compatibility group diversity in *Fusarium*. In: *Fusarium*: Paul E. Nelson Memorial Symposium. (Eds. Summerell B.A., Leslie J.F., Backhouse D., Bryden W.L., Burgess L. W.), APS Press. St. Paul, MN.
- Kommedhal T., Christensen J. J. et Frederiksen R. A., (1970) :** A half century of research in Minnesota on flax wilt caused by *Fusarium oxysporum*. University Minnesota Agric. Exper. Stn. Techn. Bull. USA. n°273. 35 p.
- Labore M., (2000) :** Les Huiles Essentielles Et Les Soins Du Plan, Mortagne.
- Ladizinsky G., (1987):** Pulse domestication before cultivation. *Econ. Bot.* 41, 60-65.
- Lamara M., (2012) :** Effet D'huile essentielle de thym sur la varroa. Mémoire Université Saad Dahleb B lida. Pp : 63-66.
- Lambert, Wallace E., (1975):** Howard Giles and Omer Picard. Language Attitudes in a French-American Community *International Journal of the Sociology of Language* 4 , 127-152.
- Landa B .B., Navas-Cortes J. A. et Jimenez-Diaz R. M., (2004) :** Integrated management of *Fusarium* wilts of chickpea with sowing date, host resistance and biological control. *Phytopathology*. 94, pp : 946-960.
- Lepoivre P., (2003) :** Phytopathologie: bases moléculaires de biologiques des pathosystèmes et fondement des stratégies de lutte. De Boeck & Presses Agronomiques de Gembloux (Eds.), Brussels, Belgium. pp: 149-167.
- Leport L., Turner N.C., Davies S.L. and Siddique K.H.M., (2006) :** Variation in pod production and abortion among chickpea cultivars under terminal drought. *Europ. J.*
- Leroux P. et Credet A., (1978) :** Document sur l'étude de l'activité des fongicides. INRA Versailles. France. p12.
- Lhoste P., Dolle V., Rousseau J. Et Soltner D., (1993) :** Manuel De Zootechnie des Régions Chaudes. Les systèmes D'élevage. Collection P. récifs D'élevage. Ministère de La Coopération. Pp : 288 ; paris.
- Lopez-Bellido L., Lopez-Bellido R.J., Castillo J.E. and Lopez-Pellido F.J., (2004) :** Chickpea response to tillage and soil residual nitrogen in a continuous rotation with wheat I. Biomass and seed yield. *Field Crops research* 88: 191-200.
- Lucchesi ME., (2005) :** Extraction sans solvant assistée par microondes: Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, juillet 2005. p 17 ; 23, 52.
- Lydie S., (2010) :** La lutte biologique. *Isabella sick*. 323, pp: 163-164.
- M.A.D.R., (2015) :** Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. *Annuaire Statistiques*, K, série B.
- Maatougui M. E. H., Bouznad Z. et Labdi M., (1996) :** Chickpea in Algeria. In N.P., Saxena, M.C., Johansen C., Virmani S. M. and Harris H., (eds). A chapter from adaptation of chickpea in the west Asia and North Africa region. pp: 89-99.
- Maslouhy, (1989) :** Contribution à l'étude in vitro et in situ des antagonistes de
- Mayet J., (2013) :** 365 jours ou les éphémérides allant du XVIIe au XXe siècle France, Mon petit éditeur, 716p. *meat. Meat Science*, (73), 236-244.

Références bibliographiques

- Miguel A., Maroto J.V., San Bautista A., Baixauli C., Cebolla V., Pascual B., Lopez-Galarza S., Guardiola J.L., (2004) :** The grafting of triploid watermelon is an advantageous alternative to soil fumigation by methyl bromide for control of *Fusarium* wilt. *Sci. Hortic*, 103: 9–17.
- mossaeae* and two wilt pathogenic fungi. *Agricultural Ecosystem and Environment*,
- Muehlbauer F. J. and Rajesh P. N., (2008) :** Chickpea, a common source of protein and starch in the semi-arid tropics. PH. Moore, R Ming (eds.) *Genomics of tropical crop plants*.
- Naghavi M. R., Jahansouz M. R., (2005) :** Vaiation in the agronomic and morphological traits of Iranian chickpea accessions. *J. Integ. Plant. Boil.* 47(3): 375-379.
- Naghibi F., Mossadegh M., Mohammadi M.S. et Ghorbani A., (2005) :** Labiatae Family in folk Medicine in Iran : from Ethnobotany to pharmacology – *Iranian journal of pharmaceutical Research*;(2);pp 63-79.2005.
- Nasroui B., (2008) :** Principales maladies fongiques des céréales et légumineuses. 129, pp: 42-101.
- Navas -Cortes J. A., Hau B. et Jimenez-Diaz R. M., (1998) :** Effect of sewing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum f. sp. Ciceris* on development of *Fusarium* wilt of chickpea .*Phytopathology*. 88, pp: 1338-1346.
- Nene Y. L., Reddy M. V., Haware M. P., Ghanekar A. M. et Amin K. S., (1991):** Field diagnosis of chickpea diseases and their control. In: *Information Bulletin n°28*, ed. By International Crops Research Institute for the semi-Arid Tropics, Patancheru, India.
- Nene Y. L., Sheila V. et Sharma S., (1996):** A world list of chickpea and pigeon pea pathogens. *ICRISAT Pulse Pathol. Progr. Rep.*
- Nestel P., Cehun M., Chronopoulos A., (2004) :** Effects of long-term consumption and single meals of chickpeas on plasma glucose, insulin, and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr.* March; 79 (3):390-5.
- Nielson D.C., 2001.** Production functions for chickpea, field pea and lentil in the central Great Plains. *Agronomic Journal*, 93: 563-569.
- Olsen S. R., Cole C. V., Watanabe F. S. et Dean L. A., (1956) :** Estimation of available phosphorous in soils by extraction with sodium bicarbonate. *USDA Circ.* 939.
- Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE) :** (Page consultée le 23 mars 2013), Maladies.
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L. et Lacroix M., (2006) :** Antimicrobial effects of
- Pande S., Narayana R. J. et Sharma M., (2007).** Establishment of the chickpea wilt pathogen *Fusarium oxysporum f.sp. Ciceris* in the soil through seed transmission .*The Plant Pathology Journal*. 1, pp: 3-6.
- Pibiri M.C., (2006) :** Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huiles essentielles.
- Pinto E., Salgueiro L. R., Cavaleiro C., Palmeira A., et Gonçalves M. J., (2007) :** In
- Plancquaert P.H., Wery J., (1991) :** Le pois chiche : Culture et utilisation. Brochure Ed. ITCF, Paris, France ; 11 p.
- Nene YL, Sheila V.K. Sharma S.B., 1996.** A world list of chickpea and pigeonpea pathogens. 5th edition, ICRISAT, Patancheru, India. 27p.
- Reddy M. V., Gridley H. E. et Kaack H. J., (1980) :** Major disease problems of chickpea in North Afnc, *International Chickpea Newsletter* 3: 13- 14.
- Rekha K. T. and Thiruvengadam M., (2009) :** An efficient Micropropagation of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Phillip Agriculture Scientist.*, 3: 320-326.
- Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1808) (Acari: Ixodidae). *Parasitology research* 105, 495–7.
- Salle J –L., (2004) :** Les huiles essentielles synthés d’aromathérapie. Edition Frion Roche.

Références bibliographiques

- Saxena M. C. et Singh K. B., (1987)** : The chickpea. Ed- CAB internat, 399 p.
- Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z., (1999)** : Les maladies des légumineuses alimentaires, in : Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. Guide pratique. ITGC Algérie. 41p.
- Scott J.C., Gordon T.R., Kirkpatrick S.C., Koike S.T., Matheron M.E., Ochoa O.E., Truco M.J. and Michelmores R.W., (2012)** : Crop rotation and genetic resistance reduce risk of damage from *Fusarium* wilt in lettuce. *California Agriculture*, 66:20-24.
- selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas Putida* strain isolated from
- Sharm K. D., Chen W. et Muehlbauer F. J.,(2005)** : Genetics of chickpea resistance to five races of *Fusarium* wilt and a concise set of race differentials for *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Plant Dis.* **89**: 385-390.
- Singh K.B., (1997)** : Chickpea (*Cicer arietinum* L.) .Field crops research, 53(1-3): 161-170.
- Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskienė R. ET Sarkinas A., (2006)**. Antimicrobial Activity of Commercial Samples of Thyme and Marjoram Oils. *Journal of Essential Oil Research*; P: 698-703
- Slama F., (1998)** : Cultures industrielles et légumineuses à graines. Ed. Centre de diffusion Universitaire Tunisie, en Arabe; 300 p.
- Smithson J. B., Thompson J. A. and Summerfield R. J., (1985)** : Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: Summerfield R. J. and Roberts E. H. (Eds), Grain Legume Crop, pp.312-390. Collins, London, UK.
- Snyder W.C. and Hansen H.N., (1940)** : The species concept in *Fusarium*. *Am. J. Bot.* 27, 69.
- Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez J.F., Estarron-Espinosa M., Garcia-Fajardo J.A., Obledo-Vazquez E.N., (2006)** : Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*. *Chemical composition and fungicidal.* 4(16) ,1-7.
- Soylu E., Mine Soner Soylu. et Sener Kurt, (2006)** : Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia* (2006) **161**: 119–128.
- Summerfield R.J., Hadley P., Roberts E.H., Minchin F.R. et Rawthorne S., (1984)** : Sensitivity of chickpea (*Cicer arietinum* L.) to hot temperatures during the reproductive period. *Exp. Agric.*, 20, 77-93.
- Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. et Polissiou M., (2005)** : Antimicrobial And Antioxidant Activities Of The Essential Oil And Various Extracts Of *Salvia tomentosa*.
- Teuescheet E., Anton R., Lobstein A., (2005)** : Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier Tec et Doc, Paris Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry* ,9(3), 333-340.
- Toulaiti H., (1988)** : L'agriculture Algérienne - Les causes de l'échec. Ed. Office des publications universitaires Alger, 550 p.
- Trapero-Casas A. et Jiménez-Díaz R. M., (1983)** : Fungal wilt and root rot disease of chickpea in southern Spain. *Phytopathology*. 75, pp: 1146-1151.
- USDA, (2008)** : United States Département of Agriculture.
- Vail S. L., (2005)**: Population studies of *Ascochyta rabiei* on chickpea in Saskatchewan. These de Magister. University of Saskatchewan Saskatoon. 115p
- Verghis T.I., McKenzie B.A. et Hill G.D., (1999)** : Phenological development of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of crop; and Horticultural Science* 27, 249 – 256.
- vitro susceptibility of some species of yeasts and filamentous fungi to essential oils of *Salvia*
- Viveros A., Brenes A., Elices R., Arija I., Canales R., (2001)** : Nutritional value of raw and autoclaved kabuli and desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) for growing chickens. *Brit. Poult. Sci.* 42: 242-251.

Références bibliographiques

- Wang D., Collins P.J., Gao X., (2006):** Optimizing indoor phosphine fumigation of paddy rice bag-stacks under sheeting for control of resistant insects, *Journal of Stored Products Research*, 42 (2), 207-217.
- Wery J., Silim S.N., Knights E.J., Malhotra R.S. et Cousin E., (1994):** Screening techniques and sources of tolerance to extremes of moisture and air temperature in cool season food legumes. *Euphytica*; 73, 73-83.
- Watson R.H., (1976) :** Les Maladies Du Bétail Transmises Par Les tiques et leurs vectrices résistances aux acaricides. *Revue Mondiale de Zootechnie, Fao*, pp : 8-15.
- Yahyaoui N., (2005) :** Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Mentha Spicata L* sur *Rhyzoperthudominicu (F)* (Coleoptera, Bostrychidae) et *Triboliumconfusm(Duv.)* (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach.
- Yusuf A. M., Krishnamurthy L., Saxena N. P., Rupela O. P., Kumar J. and Johansen C., (2002) :** Scope for genetic manipulation of mineral acquisition in chickpea. *Plant and soil*. 245:123-134.
- Zambonelli A., d'Aulerio A. Z., Bianchi A. et Albasini A., (1996) :** Effets of essential
- Zhang N., He X., Zhang J., Raza W., Yang X., Ruan Y., Shen Q., Huang Q., (2014b) :** Suppression of Fusarium wilt of banana with application of bio-organic fertilizers. *Pedosphere* 24, 613–624.
- Zikara-Zine F. et Bouznad Z., (2007) :** Virulence et groupes de compatibilité dans les isolats d'*Ascochyta rabiei* en Algérie. *INRA Algérie - Recherche Agronomique*. n°19, pp: 48 -55.
- Zulet M.A., Macarulla M.T., Portillo M.P., Noel-Suberville C., Higuere P., Martínez JA., (1999):** Lipid and Glucose utilization in hypercholesterolemic rats fed a diet containing heated chickpea (*Cicer arietinum L.*): a potential functional food. *Int J Vitam Nutr Res Nov*; 69(6):403-11.

Annexe

Composition de milieu de culture hydroponique

- [Nitrate d'ammonium](#) (NH_4NO_3) 1.650 mg/l
- [Acide borique](#) (H_3BO_3) 6,2 mg/l
- [Chlorure de calcium](#) ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 440 mg/l
- [Chlorure de cobalt](#) ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 0,025 mg/l
- [Sulfate de magnésium](#) ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 370 mg/l
- [Sulfate de cuivre](#) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 0,025 mg/l
- [Phosphate de potassium](#) (KH_2PO_4) 170 mg/l
- [Sulfate de fer](#) ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 27,8 mg/l
- [Nitrate de potassium](#) (KNO_3) 1.900 mg/l
- [Sulfate de manganèse](#) ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 22,3 mg/l
- [Iodure de potassium](#) (KI) 0,83 mg/l
- [Molybdate de sodium](#) ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 0,25 mg/l
- [Sulfate de zinc](#) ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 8,6 mg/l
- [EDTA](#) ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 37,2 mg/lb

Additifs organiques communs

- [i-Inositol](#) 100 mg/l
- [Acide nicotinique](#) 0,5 mg/l
- [Pyridoxine](#) / HCl 0,5 mg/l
- [Thiamine](#) / HCl 0,1 mg/l
- [AIA](#) 1-30 mg/l
- [Kinétine](#) 0,04-10 mg/l
- [Glycine](#) (recristallisée) 2,0 mg/l
- [Édamine](#) 1,0 g/l
- [Saccharose](#) 20 g/l
- [Agar](#) 10 g/l

Effacité de l'huile essentielle de *Thymus pallescens* de Noé dans la suppression de flétrissement vasculaire du pois chiche et l'amélioration des propriétés chimiques et biologiques du sol.

Résumé

La littérature explique les effets des huiles essentielles sur le Foc dans les conditions contrôlés, mais aucune étude n'a été faite sur l'effet dans les conditions naturelles. Dans cette étude, une expérience en pot a été conduite pour évaluer l'efficacité de l'HE de *Thymus pallescens* de Noé sur la sévérité du flétrissement du pois chiche et leur effet sur les propriétés chimiques et biologique du sol dans les conditions naturelles. Les analyses phytochimiques de l'HE de *T. pallescens* de Noé montre que le carvacrol (54.09%) et le thymol (16.24%) constituant les composés majoritaires. Alors que, les tests in vitro indiquent que la croissance mycélienne, la sporulation et la germination des conidies ont été totalement inhibés avec les concentrations 1 et 0.5µL. Les résultats in vivo ont montré que l'HE de *T. pallescens* de Noé a contrôlée efficacement la maladie et une diminution significative dans le S1 et le S2 environ 50.75 et 59.47% de la valeur de l'AUDPC a été constatée, respectivement. Sous l'effet de traitement par l'HE, la disponibilité du P-Olsen augmente dans le S1 (15.58%) et diminue dans le S2 (3.15%), tandis qu'une augmentation dans la disponibilité de N-total a été constatée dans les deux sites avec des fréquences de 20.65 % et 30.74%, respectivement. La population microbiologique a été fortement influencée par les traitements de l'HE ans le S1 et le S2 et les résultats obtenus indiquent une augmentation significative des taux de *Pseudomonas* spp (59.04% en S1) et une diminution des taux de Foc (39.86 % et 54.28 %,) et de *Trichoderma* spp (62.11% et 47.32%). La réaction de résistance des plantules de pois chiche observée après les traitements est attribuée principalement à l'accumulation de composés phénoliques et flavonoïdes. L'application de l'HE de *T. pallescens* de Noé a diminuée la sévérité du flétrissement fusarien en améliorant l'état chimique du sol et influençant la composition de la communauté microbienne du sol, y compris l'enrichissement spécifique de *Pseudomonas* spp.

Mots clés : pois chiche, *Thymus pallescens* de Noé, *Fusarium oxysporum* f. sp *ciceris*, polyphénols, flavonoïdes.

Efficacy of essential oil of *Thymus pallescens* de Noé for suppressing *Fusarium* wilt disease of chickpea as well as enhancing microbial and chemical properties of soil under greenhouse conditions.

Abstract

Essential oils have been proposed as a strategy for the management of chickpea *Fusarium* wilt disease, which has severely decreased chickpea production. In this study, a pot experiment was conducted to evaluate the effects of essential oils extracted from *Thymus pallescens* application at chickpea *Fusarium* wilt disease suppression, soil chemical properties and microbial communities. The chemical analysis of the isolated oils was carried out by gas chromatograph/mass spectrometer (GC/MS). The major constituents in *T. pallescens*, were carvacrol (54.0%) and thymol (21.8%). EOs isolated from *T. pallescens* showed a Total inhibition of mycelium growth and Foc sporulation, and conidia germination in vitro conditions at 1µL/ml concentration. The results showed that essential oil application effectively controlled the disease in greenhouse condition. The means values of AUDPC were 22.5 and 225 in S1 and S2 representing 50.75 and 59.47% reduction of disease severity, respectively. Furthermore, total nitrogen and available phosphorus were more influenced by oil essential treatment. In this hand, Olsen-P (15.58% in S1) and N-total (20.65 in S1 and 30.74% inside S2) in rhizosphere soil were increased. Obtained result showed that the soil bacterial and fungal communities in the treatment were significantly different from site. Moreover, the abundance of *Pseudomonas* spp was significantly increased in S1 (59.04%) compared with the control. In other hand, the abundance of *Foc* (39.86 % and 54.28 %, respectively) and *Trichoderma* spp (62.11% and 47.32%, respectively) was significantly reduced in S1 and S2 treated with *T. pallescens* oil compared with control. Chickpea seedlings resistance response observed after treatments were mostly attributed to phenolic and flavonoid compounds accumulation. In conclusion, sustainable essential oils application suppressed the *Fusarium* wilt disease might through improving soil chemical condition and manipulating the composition of soil microbial community, including specific enrichment of *Pseudomonas* spp and *Trichoderma* spp.

فعالية الزيت العطري للزعرتر (*Thymus pallescens* de Noé) لتثبيط مرض الذبول الفيوزاريومي من الحمص وكذلك لتعزيز الخصائص الميكروبية والكيميائية للتربة تحت ظروف الاحتباس الحراري.

ملخص

اقتُرحت الزيوت الأساسية كاستراتيجية لإدارة مرض الذبول الفيوزاريومي، الذي يؤدي إلى انخفاض حاد في إنتاج الحمص. في هذه الدراسة، أجريت تجربة لتقييم آثار الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات الزعرتر (*Thymus pallescens*) في تثبيط فطر *Fusarium oxysporum* f.sp *ciseris* الحمص، وكذا في تحسين خصائص التربة الكيميائية وتأثيره أيضا على المجتمعات الميكروبية. تم إجراء التحليل الكيميائي للزيوت المعزولة بواسطة جهاز قياس كروماتوغراف / مطياف الكتلة للغاز (MS / GC). المكونات الرئيسية في هذا الزيت كالكرافكول بنسبة 54% والثيمول بنسبة 21.8%. أظهرت نتائج الزيوت المعزولة من تثبيط إجمالي النمو الفطري و التبريغ وكذا انتشار الأبواغ في ظروف المختبر عند تركيز 1. وأظهرت النتائج أن تطبيق الزيوت الأساسية سيطر بشكل فعال على المرض كانت قيم AUDPC هي 22.5 و 225 فيما أدى إلى انخفاض بنسبة 50.75 و 59.47% من شدة المرض في الوعاء 1 و 2 على التوالي. علاوة على ذلك، فإن النتروجين الكلي والفوسفور المتاح كانا أكثر تأثرا بالمعالجة الأساسية للزيت. في هذا الصدد، تم زيادة في كمية الفوسفور المتاح بنسبة 15.58% على مستوى الوعاء رقم 1 و زيادة في نسبة النتروجين الكلي بما يقارب 30.74% و 20.56% في الوعاء 1 و 2 على التوالي. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن المجتمعات البكتيرية والفطرية في التربة المعالجة تختلف اختلافا كبيرا حسب الموقع. علاوة على ذلك، ازدادت وفرة *Pseudomonas* spp بشكل ملحوظ في الوعاء رقم 1 بنسبة 59.04% مقارنة مع الشاهد. في ناحية أخرى، انخفضت وفرة *Fusarium* بنسبة 39.86 و 54.28% ونسبة *Trichoderma* spp 62.11% و 47.32% على التوالي مقارنة مع الشاهد. رد فعل المقاومة لثقلات الحمص الذي لوحظ بعد العلاج تعزى في الغالب إلى تراكم مركبات الفينول والفلافونويد. في الختام، تطبيق الزيوت الأساسية حد من مرض الذبول الفيوزاريومي من خلال تحسين حالة المواد الكيميائية والتلاعب في تركيبة المجتمع الميكروبي في التربة.

