

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA 1
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES
LABORATOIRE DE PROTECTION ET DE VALORISATION DES RESSOURCES
AGROBIOLOGIQUES

Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Option : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Caractérisation de la résistance chez *Pisum sativum* face à la
fusariose vasculaire**

Présenté par

Hafsa FECHIT

Soutenu devant le jury :

AMMAD F.	M.C.A.	U. Blida 1	Présidente
MEKHALDI D.	Doctorante	U. Blida 1	Promotrice
BENCHABANE M.	Professeur	U. Blida 1	Co-promoteur
BENSAID F.	M.A.A.	U. Blida 1	Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018/2019

Remerciements

Je remercie avant tout mon DIEU le tout puissant qui m'a comblé de ses bienfaits et m'a donné assez de force pour achever ce travail et de venir au bout de cette formation.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Mlle MEKHALDI D. pour avoir proposé ce thème, pour son encadrement, sa disponibilité, son savoir faire, ses conseils, elle m'a permis de réaliser la partie pratique dans les meilleures conditions, sa compétence, sa patience, son enthousiasme et son attention particulière avec laquelle elle a suivi et dirigé ce travail en permettant son aboutissement à temps.

Je tiens à exprimer ma gratitude au Pr. BENCHABANE M. chef d'option de Biotechnologie Microbienne, pour ses orientations et ses précieux conseils le long de notre cursus de licence et de master.

Mes sincères remerciements s'adressent aussi aux membres du jury Mme AMMAD F. Ainsi que Mme BENSALD F. d'avoir accepté de participer à l'évaluation de ce travail.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Pr. BELKAHLA H. de nous avoir permis d'effectuer ce travail au sein du laboratoire de virologie.

Je dois une mention particulière à Mme Fadil Djamila, ingénieur de laboratoire de mycologie qui m'a aidé toute la période de travail.

Je souhaite exprimer mes profonds remerciements à mes parents pour leur soutien moral et matériel indispensable pour le bon déroulement de mes études. Sans leurs aides, je ne serai pas ce que je suis aujourd'hui.

A toutes personnes intervenant de près et de loin par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques qui ont guidé mes réflexions et qui ont accepté à répondre à mes questions durant ma recherche.

Dédicaces

A MA CHERE MAMAN

Honorable aimable tu représente pour moi le symbole de la bonté par excellence,
la source de la tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de
m'accompagner

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour

A MON CHER PAPA

Autant de phrases et d'expressions ne sauraient exprimer ma gratitude et ma
reconnaissance, tu as su graver en moi le sens de la responsabilité de l'optimisme
et de la confiance en moi

Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain.

A MES CHERES FRERES

YOUNES, ABDRAHIM ET YACIN

ET MES CHERES SŒURS ROUMAÏSSA et RAHMA,

Je vous dédie ce modeste travail en témoignage de l'amour que je ressens pour
vous cinq vous ne cessez pas de veiller sur moi. Merci pour tous.

A mes très chers grands parents. (Que Dieu vous prête une bonne santé et
une longue vie)

A TOUS MES PROCHEs

Tantes oncles

A MES MEILLEURES AMIES

Merci d'être toujours près de moi

A TOUTES MES AMIES

En souvenir de nos bons moments

Ainsi qu'à toutes les personnes qui me sont chères que j'ai omis de citer.

Caractérisation de la résistance chez *Pisum Sativum* face à la fusariose vasculaire

Résumé

Notre travail porte sur la caractérisation de la résistance d'une collection de 06 génotypes de *Pisum* spp. vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), (souche R2F42 race 2), en vue de la valorisation de nouvelles sources de résistance naturelle face à la fusariose vasculaire du pois. Trois parties ont été effectuées. La première a été consacrée pour l'étude de comportement des génotypes. L'expérimentation a été menée dans des conditions semi-contrôlées sous serre. Les 06 génotypes ont été inoculés selon la méthode d'immersion des racines partiellement coupées par la suspension fongique du pathogène après son ajustement à une valeur de 5×10^6 spores/ml. La souche R2F42 de Fop a induit des symptômes typiques de la fusariose vasculaire sur les plants inoculés (jaunissement, enroulement des feuilles, flétrissement, dessèchement et mort de la plante ainsi que la décoloration des tissus vasculaires). Le taux d'infection et l'AUDPC (courbe des aires de progression de la maladie), sont les paramètres utilisés pour caractériser le développement et la progression de la maladie. Suivant les valeurs du taux d'infection, les génotypes 1160, 2633 et P648 sont résistants à la souche R2F42 alors que les génotypes 3029 et 3068 sont considérés comme partiellement résistants et le génotype 952 à été sensible à R2F42. Les valeurs d'AUDPC enregistrées confirment le comportement des génotypes étudiés vis-à-vis de Fop, dont les génotypes résistants ont enregistré les valeurs les plus faibles.

La deuxième partie consiste à la détection de la présence de Fop dans les tissus des plantes inoculées. Cette présence est indiquée par l'apparition des colonies de Fop autour des sections des différentes parties de la plantes (racine, collet, tige inférieure et tige supérieure). Chez le génotype 952, nous avons enregistré l'apparition des colonies dans toutes les parties, tandis que chez les génotypes 1160, 2633, P648, 3029 et 3068, l'apparition a été détectée uniquement autour des sections des racines et des collets.

La troisième partie traite le traçage de la continuité de la sève en utilisant le bleu de naphthol. Nous avons enregistré une circulation normale de la sève chez les génotypes résistants par rapport au témoin, alors qu'un blocage a été noté chez le génotype sensible 952.

Mots clés : *Pisum* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, fusariose vasculaire, résistance, sensible.

Resistance characterization of *Pisum Sativum* against fusarium wilt

Abstract

Our work focuses on resistance characterization of a collection of 06 genotypes of *Pisum* spp. against *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), (R2F42 strain 2), for objectif to promoting new sources of natural resistance to fusarium wilt of pea. Three parts were achieved. The first was devoted to the study of genotype's behavior. The experiment was conducted under semi-controlled greenhouse conditions. The 06 genotypes were inoculated according to the method of immersing the roots partially cut, by the fungal suspension of the pathogen after its adjustment to a value of 5×10^6 spores/ml. Fop strain R2F42 induced typical symptoms of fusarium wilt disease in inoculated plants (yellowing, leaf curling, wilting, drying and death of the plant, and discoloration of vascular tissue). The infection rate and the AUDPC (Area Under Disease Progress Curve) are the parameters used to characterize the development and disease progress. According to the infection rate values, the genotypes 1160, 2633 and P648 are resistant to the R2F42 strain while the genotypes 3029 and 3068 are considered partially resistant. The genotype 952 has been sensitive to R2F42. The AUDPC values recorded confirm the behavior of the genotypes studied against Fop, whose resistant genotypes recorded the lowest values.

The second part consists in detecting Fop presence in inoculated plants tissues. This presence is indicated by the appearance of Fop colonies around sections of different parts of the plant (root, crown, lower stem and upper stem). In genotype 952, we recorded the appearance of colonies in all parts, while in genotypes 1160, 2633, P648, 3029 and 3068, the appearance was detected only around the sections of the roots and crowns.

The third part deals with the tracing of sap continuity using naphthol blue. We recorded normal sap flow in the resistant genotypes compared to the control, whereas a block was noted in the susceptible genotype 952.

Key words: *Pisum* spp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, fusarium wilt, resistance, sensitive.

خصائص مقاومة البازلاء *Pisum spp.* تجاه *Fusarium oxysporum*

ملخص

يركز عملنا على توصيف مقاومة مجموعة من 06 أنماط وراثية من *Pisum spp.* تجاه *Fusarium oxysporum f.sp. pisi* (سلالة R2F42) ، بهدف تعزيز مصادر جديدة للمقاومة الطبيعية للذبول الفوزاري للباذلاء. تم القيام بثلاثة أجزاء. تم تكريس الأول لدراسة سلوك الأنماط الوراثية، وقد أجريت التجربة في ظل ظروف شبه محكمة في بيت بلاستيكي. تم تلقيح الأنماط الوراثية 06 وفقاً لطريقة عمر الجذور المقطوعة جزئياً في المعلق الفطري بعد تعديل تركيزه على قيمة $10^6 \times 5$ بوغة/مل. سببت السلالة R2F42 الأعراض النموذجية لمرض الذبول الفوزاري في النباتات الملقحة (الاصفرار ، إتفاف الأوراق ، الذبول ، جفاف وموت النبات ، وتغير لون الأوعية). معدل الإصابة وAUDPC (منحنى مساحة تطور المرض) هما المقياسان المستخدمان لوصف تطور المرض. وفقاً لقيم معدل الإصابة ، فإن الأنماط الوراثية 1160 ، 2633 و P648 تقاوم سلالة R2F42 بينما تعتبر الأنماط الجينية 3029 و 3068 مقاومة جزئياً وأن النمط الجيني 952 كان حساساً ل R2F42. تؤكد قيم AUDPC المسجلة لسلوك الأنماط الوراثية التي تمت دراستها تجاه Fop ، والتي سجلت الأنماط المقاومة أدنى القيم.

الجزء الثاني يعالج اكتشاف وجود Fop في أنسجة النباتات الملقحة. يشار إلى هذا الوجود بظهور مستعمرات Fop حول قطع من أجزاء مختلفة من النبات (الجذر، العنق، الساق السفلى والساق العلوية). في النمط الوراثي 952 ، سجلنا ظهور المستعمرات في جميع الأجزاء ، بينما في الأنماط الوراثية 1160 ، 2633 و P648 و 3029 و 3068 ، تم تسجيل ظهور الفطر فقط حول قطع الجذور والعنق.

يتناول الجزء الثالث تتبع استمرارية النسغ باستخدام الحبر الصيني الأزرق. سجلنا تدفق النسغ الطبيعي في الأنماط الوراثية المقاومة بالمقارنة مع الشاهد ، في حين لوحظ انسداد في النمط الوراثي الحساس 952.

الكلمات المفتاحية: *Pisum spp.* ، *Fusarium oxysporum f. sp. pisi* ، الذبول الفوزاري ، المقاومة، حساسة.

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des symboles et abréviations	
Liste des tableaux et des figures	
Introduction	1
Chapitre I. Synthèse bibliographique	
1. Le pois (<i>Pisum</i> spp.)	3
1.1. Généralités	3
1.2. historique et origine.....	3
1.3. classification.....	4
1.4. Morphologie et cycle de développement	5
1.4.1. Système racinaire.....	5
1.4.2. La tige.....	5
1.4.3. Les feuilles.....	5
1.4.4. Les fleurs.....	6
1.4.5. Le fruit.....	7
1.4.6. La graine.....	7
1.5. Exigences agro-écologique.....	8
1.5.1. Climat.....	8
1.5.2. Eau et lumière.....	8
1.5.3. Sol.....	9
1.5.4. Azote.....	9
1.6. Importance de la culture.....	9
1.6.1. Intérêt nutritionnel	9

1.6.2. Intérêt agronomique.....	10
1.7. Production.....	11
1.7.1. Dans le monde.....	11
1.7.2. En Algérie	12
1.8. Utilisation	14
1.9. Facteurs limitant la production	14
1.9.1. Stress abiotiques	14
1.9.2. Stress biotiques	15
1.9.2.1. Principaux ravageurs.....	15
1.9.2.2. Principales maladies virales	15
1.9.2.3. Principales maladies bactériennes	15
1.9.2.4. Principales maladies fongiques	16
2. La fusariose vasculaire du pois.....	18
2.1. Importance et dégât de la maladie	18
2.2. Symptomatologie.....	19
2.3. Agent pathogène (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>).....	21
2.3.1. Position taxonomie	21
2.3.2. Cycle épidémiologie.....	21
2.3.3. Variabilité du pouvoir pathogène	24
2.3.4. Interaction hôte – pathogène.....	26
2.4. Contrôle de la maladie.....	27
2.4.1. Lutte prophylactique.....	27
2.4.2. Lute chimique.....	28
2.4.3. Lutte biologique.....	28
2.4.4. Lutte génétique.....	28

Chapitre II. Matériel et méthodes

1. Matériel végétal.....	30
2. Matériel fongique	30
3. Etude de comportement des géotypes vis-à-vis de de la fusariose vasculaire.....	31
3.1. Pré- germination des graines	31
3.2. Préparation de l'inoculum.....	33
3.3. Inoculation des plantes.....	33
3.4. Traitements appliqués.....	34
3.5. Paramètres étudiés.....	34
3.5.1. Suivi symptomatologique.....	34
3.5.2. Calcule de taux d'infection.....	35
3.5.3. Calcule de l'AUDPC.....	35
4. Essai de détection la présence de Fop	36
5. Traçage de la continuité de la sève.....	36

Chapitre III. Résultats et discussion

1. Comportement des géotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire.....	38
1.1. Les symptômes.....	38
1.1.1. Symptômes externes.....	38
1.1.1.1 Partie aérienne	38
1.1.1.2 Partie racinaire	42
1.1.2. Symptômes internes.....	43
1.2. Taux d'infection.....	43

1.3. Courbe des aires de progression de la maladie (AUDPC).....	45
2. Détection de la présence de Fop.....	46
3. Traçage de la continuité de la sève.....	49
4. Discussion générale.....	50
Conclusion.....	54

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux et des figures

Tableau 1. Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de pois.....	10
Tableau 2 Superficie et de la production de petit pois par rapport aux autres légumineuses alimentaires en Algérie.....	12
Tableau 3. Principales maladies virales du pois.....	16
Tableau 4. Principales maladies fongiques du pois.....	17
Tableau 5. Génotypes de pois étudiés.....	30
Figure 1. Structure d'une plante de pois.....	6
Figure 2. Cycle de vie de petit pois.....	8
Figure 3. Part de la production de Pois frais par région.....	12
Figure 4. Quantités de production de Pois frais par pays.....	13
Figure 5. Production de Pois frais en Algérie 1994 – 2017.....	13
Figure 6. Symptômes de la fusariose vasculaire de petit pois.....	20
Figure 7. Aspect microscopiques de <i>Fusarium oxysporum</i>	22
Figure 8. Cycle infectieux du <i>Fusarium oxysporum</i>	23
Figure 9. Cultures de la souche R2F42 de Fop.....	31
Figure 10. Désinfection des graines.....	32
Figure 11. Prégémination et mise en culture.....	32
Figure 12. Préparation de l'inoculum fongique.....	33
Figure 13. Inoculation des plantes du pois.....	34
Figure 14. Désinfection superficielle des plantes et de ré-isolément de Fop.....	36
Figure 15. Essai de continuité de flux de la sève sur des plantes du pois.....	37

Figure 16. Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur tout les génotypes.....	39
Figure 17. Aspect des racines du tout les génotypes.....	42
Figure 18. Coupe des racines du génotype 952 sous microscope.....	43
Figure 19. Taux d'infection de tous les génotypes étudiés 30 jours après leur inoculation.....	44
Figure 20. Cinétique des taux d'infections de tous les génotypes.....	45
Figure 21. Valeurs d'AUDPC des 06 génotypes du pois inoculés avec la souche R2F42 de Fop.....	46
Figure 22. Les parties de ré-isolement à partir des plantes non inoculé.....	47
Figure 23. Les réisolement à partir des plantes inoculées avec l'isolat R2F42.....	47
Figure 24. Coupes des racines du quelque génotype (témoin et inoculée) sous microscope optique (G:100).....	49

Liste des symboles et abréviations

AUDPC	Area Under Disease Progres Curve
Cm	Centimètre
CSIC	Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Spain)
EDS	Eau Distillée Stérile
f. sp.	Forme spéciale
FAO	Food and Agriculture Organization on the United Nations
Fop	Fusarium oxysporum f. sp. pisi
G	Grossissement
IAS	Institute of Sustainable Agriculture (Cordoba, Spain)
kcal	Kilocalorie.
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinases
ml	millilitre
mm	millimètre
OEPP	Organisation euro-méditerranéenne pour la protection des plantes
PDA	Potato Dextrose Agar (milieu de culture)
PDB	Potato Dextrose Broth (milieu de culture)
pH	potentiel d'hydrogène
rpm	Rotation par minute
spp.	Espèces
ssp	Sous-espèce
µm	Micromètre

Introduction

En Algérie, les légumineuses alimentaires font partie de l'alimentation traditionnelle et constituent une source non négligeable de protéines, ainsi elles sont présentes dans le système agricole associé aux céréales aux quel elles laissent des quantités importantes d'azote dans le sol. Leurs contributions à la fertilité des sols et l'amélioration de leurs structures sont une réalité reconnue (Feinberg *et al.*, 1991 ; Feliachi, 2002 ; Dahan *et al.*, 2002). Parmi les légumineuses alimentaires, le pois occupe la place la plus importante tant au niveau de sa superficie que de sa production (Maatougui, 1996 ; Feliachi, 2002).

Le pois (*Pisum spp.*) est une plante importante dans le monde. Il a servi comme un excellent sujet pour les études génétiques et physiologiques. Sa facilité, le cycle court de production et la richesse de la variation morphologique ont servi à de nombreuses recherches scientifiques. La valeur nutritionnelle de pois frais immatures et matures et le pois secs destinés à la consommation humaine et animale ont favorisé une production soutenue depuis sa domestication (Mc Phee *et al.*, 2007).

La culture du pois est sujette à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Elle peut être attaquée à la fois par les organismes du sol, provoquant la pourriture des racines et les fontes de semis et par des agents pathogènes endommageant la partie foliaire du végétal (Hebblethwaite *et al.*, 1985).

La fusariose du pois, causée par *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, a été signalée dans tous les pays où le pois est cultivé commercialement (Haglund, 1984). La maladie présentait un problème sérieux dans le moyen orient entre 1830 à 1960 (Hagedorn, 1991). Elle est souvent sévère là où on pratique des rotations courtes avec d'autres cultures. Dans ces conditions, quand le pathogène a développé des quantités suffisantes d'inoculum et quand on plante un cultivar sensible, il en résulte des pertes considérables (Kraft et Pflieger, 2001).

Le contrôle de la fusariose vasculaire du pois se base essentiellement sur l'intégration des différentes méthodes de gestion, y compris les pratiques

culturelles, la désinfection des sols, le biocontrôle et l'amélioration de la résistance des génotypes cultivés (Navas-Cortes *et al.*, 1998 ; Infantino *et al.*, 2006 ; Alabouvette *et al.*, 2009 ; Momma *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2010 ; Bani *et al.*, 2012). Parmi ces méthodes, l'utilisation de cultivars résistants est largement reconnue comme la méthode la plus économique et la plus efficace pour protéger les cultures du pois contre cette maladie (Infantino *et al.*, 2006).

Dans cette optique, notre travail a pour objectifs de caractériser la résistance de quelques génotypes de pois face à la fusariose vasculaire. Pour cela, trois parties expérimentales ont été réalisées :

- **La première partie** est consacrée pour l'étude de comportement des génotypes de pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire dans des conditions semi-contrôlées sous serre.
- **La deuxième partie** vise l'étude de la colonisation de ces génotypes par le pathogène en réalisant des essais de ré-isolement du champignon à partir des plants inoculés.
- **La troisième partie** concerne la détermination de la continuité de la sève chez les plants inoculés.

Chapitre I.

Synthèse bibliographique

1. Le pois (*Pisum* spp.)

1.1 Généralités

Les légumineuses ou *Fabaceae* en classification phylogénétique regroupe : parmi les plantes à fleurs trois sous familles : *Mimosoideae*, *Caesalpinioideae*, et *Papilionoideae* (Doyle et Luckow, 2003). La diversité de cette famille végétale qui comprend environ 20 000 espèces, offre des possibilités énormes d'exploitation (**Gepts et al., 2005**). Les *Papilionoideae* regroupe les espèces cultivées les plus importantes économiquement comme, le soja, le haricot, le pois, la luzerne, l'arachide, le pois chiche et la fève (**Lazrek-BenFriha, 2008**).

Parmi les légumineuses, le pois (*Pisum sativum*L.) est l'une des cultures les plus anciennes au monde, comme il a d'abord été cultivé avec des céréales comme l'orge et le blé, Il y a 9000 ans (McPhee., 2003). C'est la culture indigène de la Syrie, Irak, Iran, Turquie, Jordanie, Ethiopie, Liban et a été cultivé en Europe pendant plusieurs milliers d'années. Le pois est l'un des aliments les plus importantes légumineuses dans le monde non seulement pour sa très vieille histoire. (**Choudhury et al., 2006**).

1.2 Historique et origine

Trois siècles avant notre ère et dans son livre intitulé "recherches sur les plantes", Théophraste a décrit plusieurs espèces de la famille actuelle des légumineuses notamment le pois (**Davies et al., 1985**). Il est consommé depuis environ 5000 ans avant Jésus Christ, et était déjà très apprécié dans les civilisations anciennes (**Smart, 1990**). Les origines primaires du pois se situent vraisemblablement dans le sud-ouest d'Asie, dans l'Abyssinie en Afghanistan et dans les régions avoisinante. La région méditerranéenne constitue un centre secondaire (**Zohary et Hopf, 2002**). A partir de ces centres, le pois se serait

dispersé dans le reste de l'Europe et de l'Asie (**Kay, 1979 ; Makasheva, 1985 ; Coussin 1997**). Basé sur la diversité génétique, quatre centres d'origines ; l'Asie centrale, le Proche orient, l'Abyssinie et la Méditerranée ont été identifiés (**Gritton, 1980**).

1.3 Classification

Les Légumineuses ou *Fabaceae* sont classées parmi les Angiospermes. Il s'agit de la troisième plus grande famille d'Angiospermes en nombre d'espèces (après les *Orchidaceae* et les *Asteraceae*) avec plus de 18 000 espèces classées en 750 genres environ (**Ildis, 2001**).

La classification botanique du pois est résumée de la façon suivante (**Coussin, 1974**) :

- Règne : Végétal ;
- Embranchement : Spermaphytes ;
- Sous-embranchement : Angiospermes ;
- Classe : Dicotylédones ;
- Ordre : *Fabales* ;
- Famille : Fabacées ;
- Sous famille : *Faboïdeae* ;
- Genre : *Pisum*.

L'espèce la plus répandue du genre *Pisum* est *P. sativum* L. Elle rassemble plusieurs sous-espèces, classées comme suit :

-*P. sativum* ssp. *sativum* var. *sativum* (petit pois, pois potager ou pois des jardins),

-*P. sativum* ssp. *elatius* (pois sauvage)

-*P. sativum* ssp. *sativum* var. *arvense* (pois fourrager, pois protéagineux ou pois des champs). (**Coussin, 1974**)

De nombreux botanistes ont décrit différentes formes sauvages qui ne diffèrent que par quelques caractères morphologiques. Parfois, ces types ont constitué des espèces différentes, dont la dénomination rappelle fréquemment le lieu d'origine.

Mais le plus souvent, ils sont considérés comme appartenant à des sous espèces de *Pisum sativum* : *P. sativum* ssp. *arvense* (Linné), *elatius* (Bieb Stev), *abyssinium* (Braun), *jomaradi* (Schrank), *asiatium*, *humile*, *transcaucasicum*, *aethiopicum* et *unbellatum*. Tous ces groupes peuvent être croisés entre eux, il est donc logique de les considérer comme faisant partie de la même espèce. Par contre, les croisements avec les genres voisins : *Lathyrus*, *Vicia* et *Lentis* n'ont jamais pu être obtenus (**Coussin, 1996**).

1.4 Morphologie et cycle de développement

Le pois est une plante grimpante herbacée annuelle, autogame de hauteur variable allant de 0.5 à 2 mètres. Son génome comprend sept paires de chromosomes ($2n=14$).

Sa croissance est plus ou moins indéterminée (**Coussin, 1996**). La morphologie générale du pois est décrite dans la **Fig. 1**.

1.4.1 Le système racinaire

Le système racinaire est de type pivotant, pouvant atteindre une profondeur d'un mètre dans des conditions de sol favorables, mais cependant très ramifié, surtout dans la couche superficielle du sol. Les radicelles de 2ème ou 3ème ordre portent des nodosités (**Carrouee et Girad, 1994**).

1.4.2 La tige

La tige, peu ramifiée, de longueur variant de 50 cm à 1,5 m, voire jusqu'à deux mètres, est à croissance indéterminée. Elle est creuse, de section cylindrique, et grimpe en s'accrochant aux supports par les vrilles des feuilles. Elle se caractérise par un certain nombre de nœuds, ou mailles, dont les premiers sont purement végétatifs (émettant des feuilles ou des ramifications) et les suivants reproducteurs (portant des fleurs) (**Carrouee et Girad, 1994**).

1.4.3 Les feuilles

Les feuilles alternées, sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée. Celles-ci sont

entières, ovales, et ont de 1,5 à 6 cm de longueur. Les feuilles possèdent à leur base deux grandes stipules arrondies et crénelées à la base (**Coussin, 1996**).

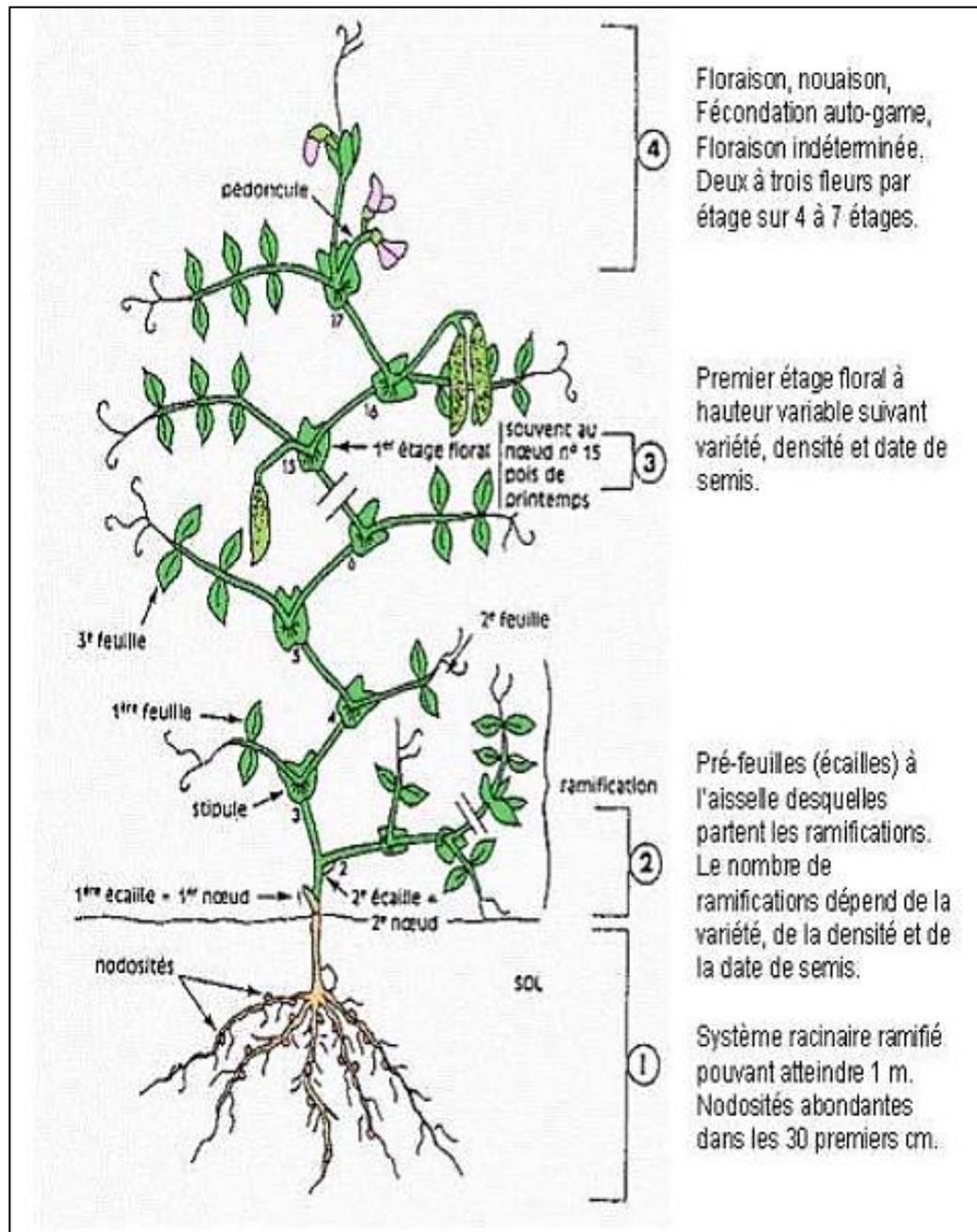


Fig. 1. Structure d'une plante de pois (**Boyeldieu, 1991**).

1.4.4 Les fleurs

Les fleurs, de type « papilionacé », sont zygomorphes, à ovaire supère et cléistogames. Elles apparaissent à l'aisselle des feuilles, solitaires ou groupées en

grappe par deux ou trois. Le calice, de couleur verte, est formé de cinq sépales soudés et présentes cinq dents inégales. La corolle compte cinq pétales très différenciés, l'étendard redressé en position postérieure, les deux ailes en position latérale, enveloppant la carène, elle-même formée de deux pétales inférieurs, partiellement soudés. La corolle est généralement entièrement blanche, parfois rose, pourpre ou violette. L'androcée qui comprend dix étamines (**Muahlbauer et Tubba, 1997**).

1.4.5 Le fruit

Le fruit est une gousse déhiscente bivalve, appelée aussi cosse, de 4 à 15 cm de long, contenant de 2 à 10 graines rondes lisses ou anguleuses, de 5 à 8 mm de diamètre. Ces gousses présentent des variations morphologiques selon les variétés, leur forme générale est droite ou plus ou moins arquée, leur extrémité plus ou moins effilée ou tronquée. Elles comportent généralement une membrane sclérifiée, le parchemin, qui est absente chez les variétés de type « mangetout ». Leur couleur est généralement verte, parfois violette (**Prat et al., 2005**).

1.4.6 La graine

La graine est albuminée et riche en amidon. Les graines de pois peuvent être de trois couleurs différentes: les variétés à fleurs blanches produisent des graines vertes ou jaunes crème, alors que les variétés à fleurs roses ou rouges produisent des graines tachetées de brun. Dans le premier cas, le tégument de la graine est translucide, tandis que dans le second cas, le tégument coloré masque la couleur des cotylédons et contient toujours des tanins (**Hopquin, 1994**).

Le cycle développement du pois comprend deux périodes: périodes végétative et périodes reproductrice. La période végétative s'étend de la germination jusqu'à la ramification. La germination du petit pois est hypogée (Les cotylédons restent dans le sol) sa durée est entre 15 et 25 jours (**Callum et al., 1997**). La période reproductrice est marquée par l'apparition est le développement des nœuds pour la première fleur. Les fleurs naissent à l'aisselle des feuilles, les pédoncules de longueur variable, une, deux et parfois trois fleurs au plus (**Fig. 2**) (**Krawczak, 1999**).

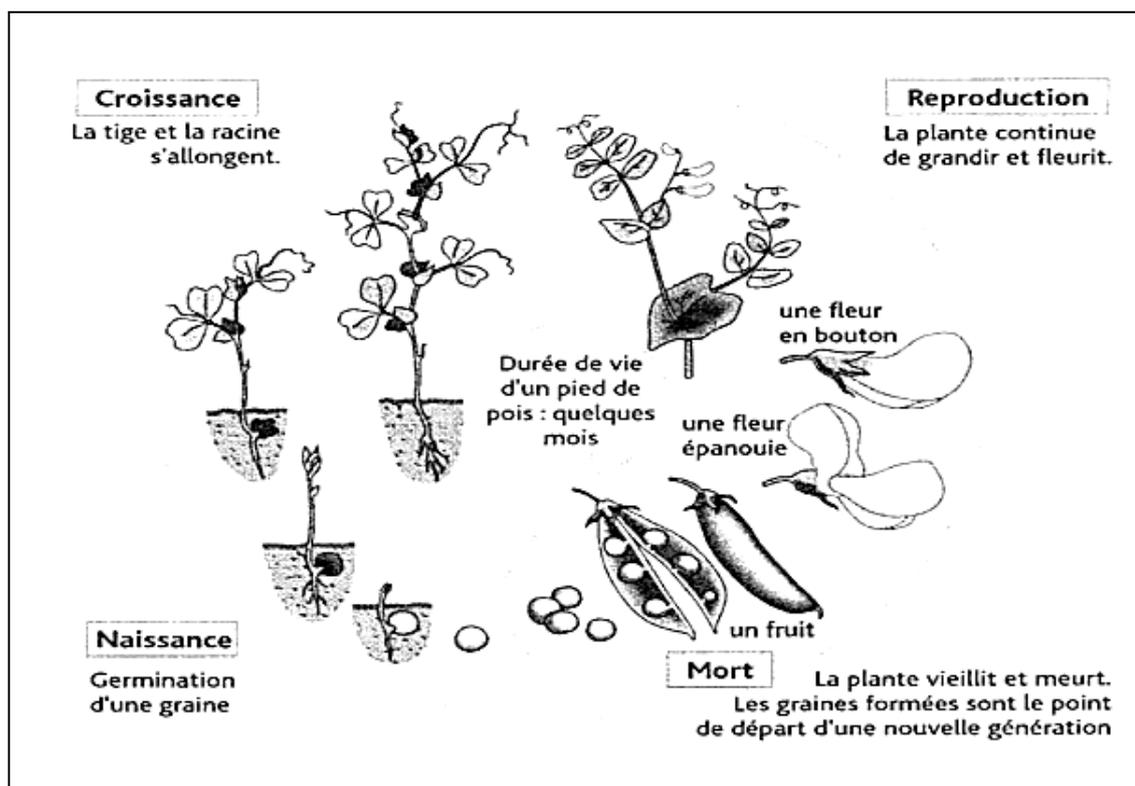


Fig. 2. Cycle de vie de petit pois (www.assistancescolaire.com 02/07/2019)

1.5 Exigences agro-écologiques

1.5.1 Climat

Le pois exige un climat frais et relativement humide et se développe à des altitudes élevées dans les tropiques avec des températures de 7 à 30°C (Duc, 1981). Le pois tolère le gel à -2°C, bien que la croissance supérieure puisse être affectée aux pois robustes d'hiver de -6°C et avec la protection de couverture de neige. Les niveaux de température optimale pour les périodes végétatives et reproductrices des pois sont réciproquement de 21 et 16°C le jour et 16 à 10°C la nuit (Slinkard *et al.*, 1994).

1.5.2 Eau et lumière

Le pois est une plante qui a besoin de la pleine lumière pour accomplir son cycle végétatif. Il faut irriguer ou faire la culture sur des terrains où la nappe phréatique est proche. Néanmoins, il ne faut pas trop irriguer durant la phase de floraison, car cela provoquerait la chute des fleurs. Il apprécie une terre fraîche à

bonne exposition mais craint le calcaire, l'excès d'humidité et la sécheresse. La culture du pois peut être conduite en irrigué ou en sec dans les régions où la pluviométrie est supérieure à 350mm (**Sikerdji, 2002**).

1.5.3 Sol

Le pois pousse sur des sols de toutes natures, dotés de niveaux de fertilité modérés, bien drainés et à pH de 5,5 à 7 (**Brink et Belay., 2006**). Il apprécie une terre fraîche à bonne exposition mais craint le calcaire, l'excès d'humidité et la sécheresse (**Sikerdji, 2002**).

1.5.4 Azote

Le pois, comme toutes les légumineuses, exige peu d'apports azotés, car il peut réaliser une fixation symbiotique de l'azote qui commence 30 jours après le semis et se poursuit pendant environ 60 jours. La quantité d'azote fixée varie largement avec les cultivars, et les conditions de croissance de la culture (**Larue et Patterson, 1981**).

1.6 Importance de la culture

De par son appartenance à la famille des légumineuses, le pois présente des avantages sur deux plans : agronomique et nutritionnel.

1.6.1 Intérêt nutritionnel

Dans l'alimentation humaine, le pois peut être consommé à l'état frais ou encore sous forme de grains secs récoltés à maturité complète. La richesse du petit pois en protéines permet de remplacer certaines protéines animales dans l'alimentation. Les teneurs en protéines des graines varient de 17,25 à 32,2 % selon les génotypes et les conditions de production (**Mossé et al., 1987**). La composition de la graine du pois (**Tab .1**) en a fait une légumineuse très intéressante pour l'alimentation humaine et animale (**Larkom, 1991**).

Tab.1. Valeur nutritionnelle moyenne pour 100 g de pois (**Tacques, 1985**).

Glu/Lip/Prot	Vitamines	Sels Minéraux	Acides aminés essentiels	Divers
Glucides 56g	Vitamine B1 0,7mg	Calcium 60mg	Isoleucine 930mg	Eau 12g
Lipides 1,7g	Vitamine B2 0,2mg	Chlore 50mg	Leucine 1480mg	Fibres 15g
Protides 23g	Vitamine B3 3,1mg	Fer 5,5mg	Lysine 1620mg	Cellulose 5g
	Vitamine C 3mg	Potassium 930mg	Méthionine 210mg	
	Vitamine K 930mg	Magnesium 130mg	Phénylalanine 1000mg	
		Sodium 40mg	Thréonine 860mg	
		Phosphor 380mg	Tryptophane 210 mg	
		Soufre 219mg	Valine 1000mg	
		Zinc 3,5mg		

Frais ou secs, les pois ont en commun d'être des aliments riches en énergie et en protéines. Les pois secs sont comparables à d'autres légumineuses (haricots secs, lentilles, fèves sèches, pois chiches), et aux céréales par leur valeur énergétique (330 kcal/100g). La partie glucidique du pois est formée essentiellement d'amidon (50%) et de sucres (6% de saccharose et oligosaccharides) (**Varela et al., 2004**). Il est aussi riche en protéines. Celles-ci, à teneur élevée en lysine, sont toutefois déficientes en certains acides aminés essentiels comme la méthionine et le tryptophane. En les associant avec des aliments à base de céréales tel que le pain, qui sont au contraire déficients en lysine, on obtient une bonne complémentarité. Les pois sont une bonne source de minéraux: potassium, phosphore, calcium et fer; ainsi que de vitamines. Ils se distinguent également par leur très faible teneur en matières grasses. Les petits pois sont plus riches en eau (74 %), n'apportent que 92 kcal/100g (crus) mais plus énergétiques que la majorité des légumes verts. Ils sont plus riches en sucres solubles que les pois secs et ils sont aussi intéressants pour leurs fibres. Les petits pois sont aussi une bonne source de vitamine C (Tab. 1). (**Holwach, 1982**).

1.6.2 Intérêt Agronomique

Souvent, l'agriculteur est intéressé par la culture de pois visant ses atouts agronomiques. En effet, le pois est capable de fournir ses besoins en azote par une simple fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Cette dernière se fait

grâce à une interaction entre les plantes de pois et les souches de *Rhizobium* qui sont des bactéries Gram négatif, en forme de bâtonnets mobiles (**Broughton et Dilworth, 1971**). Ces bactéries induisent chez la plante la formation des nodules sur les racines. En grande culture, l'agriculteur peut utiliser le pois en tête de rotation pour profiter de l'enrichissement du sol en azote dont il peut laisser un sol enrichi en azote de 30 à 50 Kg/ha (**Boyeldiou, 1991**).

1.7 Production

1.7.1 Dans le monde

Les principaux pays producteurs sont le Canada, la Russie et la Chine. La culture du petit pois est considérée parmi les plus anciennes dans les pays d'Afrique. De l'Ethiopie, du Burundi, de la Tanzanie, de l'Ouganda et du Rwanda [<https://books.google.dz>,22/05/2019]. En Inde, Pakistan et Bengladesh, le pois sec est de plus en plus consommé sous forme de farine, comme dans de nombreux autres pays, il est aussi consommé sous forme de petits grains verts ou jaunes et cuisiné comme des haricot, mais aussi sous forme de grains cassés généralement jaunes, sans le tégument. En France, où l'on recherche plutôt des aliments à faible apport énergétique, la consommation se fait se forme de «petit pois». [[Www. Terresunivie.fr](http://www.terresunivie.fr),12/06/2019].

Pour la production du pois frais en 2017 dans le monde, l'Asie occupe le premier rang en assurant plus de 78 % de la production mondiale, suivi par l'Europe (9,1%), les Etats Unis (7,7%), l'Afrique (3,7%), et l'Océanie (0,7) (figure3) (**FAO, 2017**).

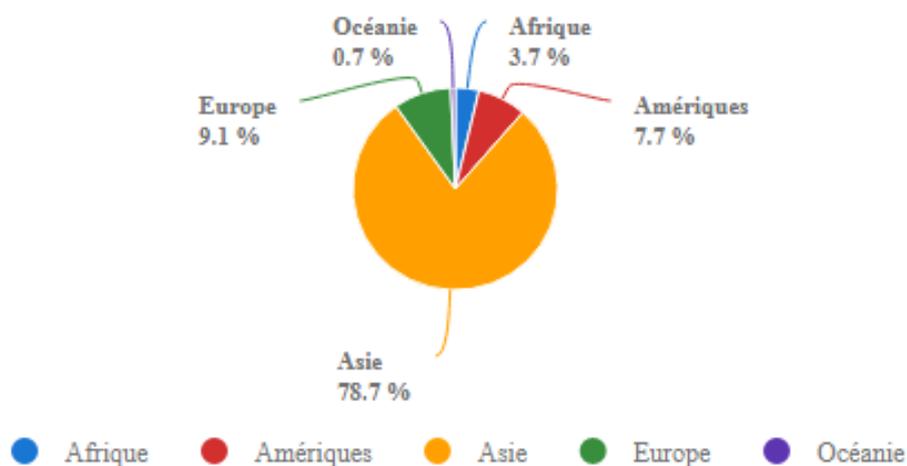


Figure 3. Part de la production de Pois frais par région
Moyenne 1994 - 2017 (FAO, 2017)

1.7.2 En Algérie

Les légumineuses alimentaires en Algérie ont toujours occupé, sur le plan de la superficie, elles occupent le troisième rang après les céréales et les fourrages. Leur superficie soit de l'ordre de 90 mille ha représentant 0,21 % de la superficie agricole utile en 2014. Les espèces les plus cultivées sont dans l'ordre: le pois sec, la fève, le pois chiche, les lentilles et le haricot sec. Les régions les plus occupées par la culture de pois sont : Skikda, Guelma, Ain Tmouchent et Ain Edafla (MADR, 2014).

Tab. 2. Superficie et de la production de petit pois par rapport aux autres légumineuses alimentaires en Algérie (ITGC, 2016).

Cultures	Superficie (ha)	Production (T)/an	Rendement (T/Ha)
Fève/féverole	39977	44807,4	1,12
Pois chiche	25497	24903,3	0,98
Petit pois	11213	11050,3	0,98
Lentille	6330	4945,4	0,78
Haricot-sec	1788	1420,7	0,79
Gesse	265	265,0	1
Total	85070	87392,2	

Selon la FAO, « le taux de production de la saison 2017 est historique jamais atteinte par le secteur agricole du pays ». Ainsi, Sur la valeur totale de la production, l'Algérie a produit 90734,54 tonnes de pois frais, ce qui représente 7,7% de la production agricole du pays.

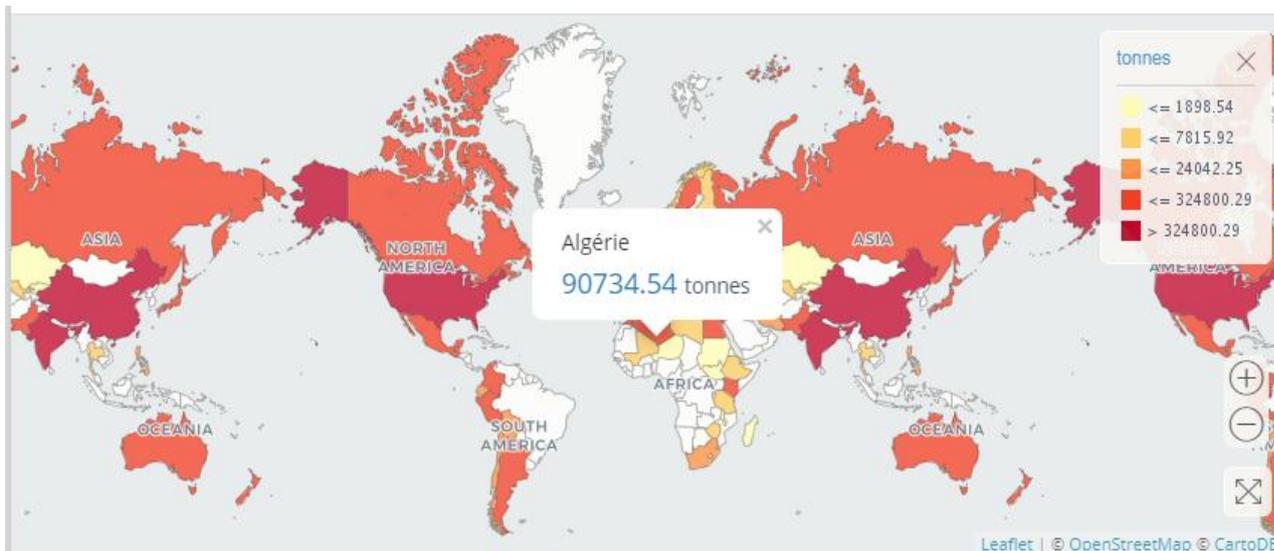


Figure 4. Quantités de production de Pois frais par pays
Moyenne 1994 – 2017 (FAO, 2017)

La production de pois frais pour la saison 2017 a atteint 131,414tonnes, ce qui représente une grande évolution par rapport à 1994 (38, 659 tonnes) (FAO, 2017).

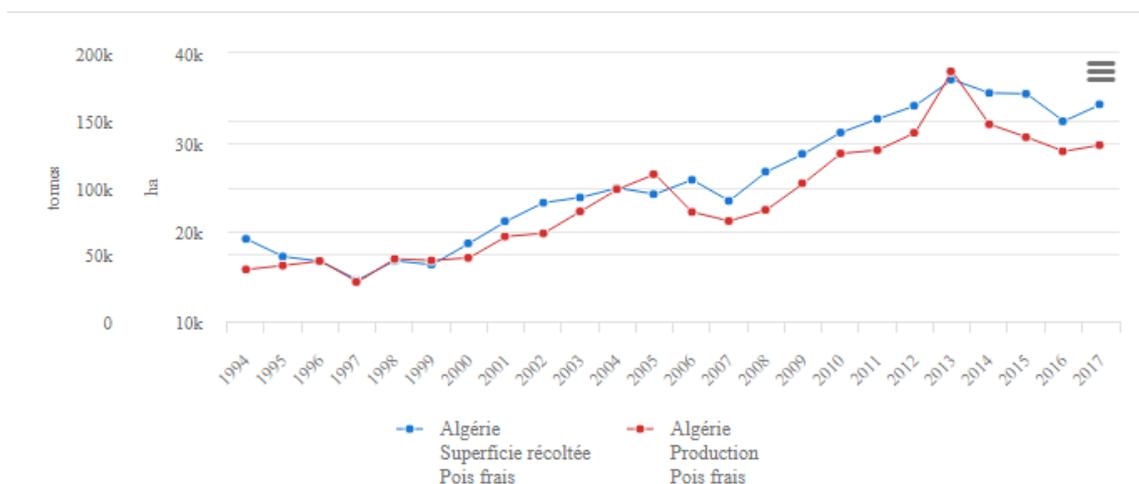


Figure 5. Production de Pois frais en Algérie 1994 - 2017
(FAO, 2017)

1.8 Utilisations

Les espèces de *Pisum* spp. fournit plusieurs types d'aliments tant pour l'homme que pour les animaux (Benoît et al, 2006 ; Brink et Belay, 2006) :

- Le Pois frais (85% d'eau) : les graines sont récoltées au stade avant maturité, on obtient les petits pois verts de maraîchage classés comme légume frais.
- Le Pois sec (15% d'eau) : les graines sont récoltées à maturité au stade sec, soit le pois cassé classé comme un légume sec, soit le pois protéagineux destiné à l'alimentation animale.
- Les jeunes pousses feuillées sont aussi consommées en légume particulièrement en Asie.
- La plante entière fournit un fourrage aux ruminants, soit en sec, soit en vert, frais ou ensilé. On utilise aussi à cet effet la paille, c'est-à-dire les fanes restant sur le terrain après la récolte des gousses ou des graines. En général, on appelle pois fourrager tout type de pois destiné à l'alimentation animale, y compris les pois secs en grains qui sont appelés pois protéagineux. Le pois est aussi une plante importante dans une rotation, car il fixe l'azote atmosphérique et joue ainsi un rôle dans le rétablissement de la fertilité du sol.

1.9 Facteurs limitant la production

Les rendements potentiels de la majorité des productions agricoles sont généralement réduits à cause des contraintes environnementales (abiotiques) et des attaques parasitaires (biotiques).

1.9.1 Stress abiotiques

Ils sont provoqués par un défaut ou excès de l'environnement physico-chimique. Parmi les conditions environnementales qui peuvent causer un stress abiotique, on distingue: les inondations, la sécheresse, les basses ou hautes températures, la salinité excessive des sols ou des eaux, la présence d'un minéral inadéquat dans le sol, cas des métaux lourds, l'excès de lumière qui stimule la photo-inhibition, le cas de faible éclaircissement, les radiations U.V, les composés phyto-toxiques comme l'ozone qui est un haut réacteur oxydant, la pollution de

l'air, les produits oxydés formés à partir des réactions de pesticides. La sécheresse, le froid et la salinité sont les stress les plus fréquents et les plus étudiés. Ils peuvent imposer aux plantes des modifications métaboliques, physiologiques et phénologiques (**Shilpi et Narendra, 2005**).

1.9.2 Stress biotiques

1.9.2.1 Principaux ravageurs

De nombreux insectes ravageurs attaquent les cultures de pois à leurs différents stades. Le pois, comme d'autre culture, est susceptible d'être attaqué par plusieurs ravageurs, comme les insectes et les nématodes.

Parmi les ravageurs nous citons: *Tipula* spp. (tipules); taupins ; vers gris, noctuelles foliaires, thrips; charançons, *Acyrtosiphon pisum* (puceron du pois), *Contarinia pisi* (cécidomyie du pois), *Cydia nigricana* (tordeuse du pois), vers blancs, *Bruchus pisorum* (bruche du pois), *Heterodera goettingiana* (nématode à kystes du pois), mille-pattes, limaces et escargots (**Hagedorn, 1991; Messiaen et al., 1991; OEPP/EPPO, 1994**).

1.9.2.2 Principales maladies virales

Le pois est en face aux attaques des plusieurs virus (Tab.3) comme le virus de la jaunisse apicale, le virus de la mosaïque commune...etc. Les symptômes de certains virus qui attaquent cette culture sont faciles à reconnaître en plein champ, alors qu'ils sont peu apparents pour d'autres et qu'un diagnostic correct requiert une grande expérience (**OEPP/EPPO, 1994**).

1.9.2.3 Principales maladies bactériennes

La graise bactérienne du pois ; causée par la bactérie *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* ; et la maladie des taches brunes causée par *P. syringae* pv. *syringae* sont les plus redoutables maladies bactériennes pouvant toucher le pois. Elles se manifestent par l'apparition des taches huileuses sur les organes aériens, qui s'agrandissent en éventail et prennent une couleur brun clair sur les feuilles, et forment des taches brunes sur les gousses (**Brink et Belay, 2006**).

Tab.3. Principales maladies virales du pois (Hagedorn, 1991 ; Taupin *et al.*, 1994).

Désignation de la maladie	Agent responsable	Groupe	Symptômes
Mosaïque commune de Pois	CMV	<i>Cucumovirus</i>	Mosaïque jaune sur les feuilles.
Virus de la mosaïque de la veine du trèfle rouge	RCVMV	<i>Carlavirus</i>	Mort des jeunes plantes, soit par leur survie sous forme de rosette aux entre nœuds raccourcis.
Virus de la mosaïque Enation Pea	PEMV	<i>Lutéovirus</i>	Eclaircissement des nervures, apparition de taches translucides le long des nervures.
La jaunisse apicale du Pois	PLRV	<i>Lutéovirus</i>	Extrémité de la plante s'arrête de croître et prend une teinte jaune.

1.9.2.4 Principales maladies fongiques

Les principales maladies fongiques qui peuvent toucher le pois sont résumées dans le Tab. 4.

Tab. 4. Principales maladies fongiques du pois (**Messaïen et al., 1991; Chaux et Foury, 1994 ; Brink et Belay, 2006**).

Maladie et agent responsable	Symptômes et dégâts
Champignons des organes aériens	
<p>Anthracnose</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Ascochyta pisi</i> - <i>Ascochyta pinodes</i> - <i>Ascochyta pinodella</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Sur feuilles et gousses : taches nécrotiques brunes cernées d'un anneau brun foncé à pourpre ; centre clair avec ou sans présence de ponctuations noires (pycnides). - Sur feuilles, tiges et gousses : criblures en tête d'épingle, noires ou brunes, cernées d'un halo clair. Taches plus grandes à contour irrégulier. - Sur jeunes plantes : nécrose du collet avec manchon brun violacé à la base des tiges.
<p>Pourriture grise</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Botrytis cinerea</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Feutrage grisâtre dense pouvant se développer sur tous les organes aériens. - Dessèchement, chute des boutons floraux pourriture et chute des gousses.
<p>Pourriture blanche</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Pourriture blanche à la base des tiges, présence de sclérototes noirs. - Flétrissement et destruction de la plante entière.
<p>Mildiou</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Peronospora pisi</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - Les feuilles présentent des jaunissements sur la face supérieure et d'un duvet gris violacé sur la surface inférieure. - Sur gousse les symptômes extérieurs sont peu visibles (taches vert clair sans sporulation). - Par contre à l'intérieur un mycélium blanc est bien visible. A Ce stade les grains sont tachés ou absents.
<p>Oïdium</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Erysiphe polygoni</i> f.sp <i>pisi</i> 	<ul style="list-style-type: none"> - De petites taches blanches et poudreuses qui colonisent d'abord les feuilles âgées. - Un mycélium blanc et pulvérulent se développe ensuite sur tous les organes aériens.

Rouille	
- <i>Uromyces pisi</i>	Des pustules (spores) pulvérulents de couleur brun roux à noir apparaissent sur la face inférieure des feuilles et sur les tiges.
- <i>Uromyces viciae-craccae</i>	
- <i>Uromyces viciae-fabae</i>	
Champignons de sol	
Fontes des semis - <i>Pythium</i> - <i>Rhizoctonia</i> - <i>Fusarium</i> - <i>Thielaviopsis</i>	- Manques à la levée et mort des plantules. - L'Anthracnose (<i>Ascochyta</i>) peut également intervenir dans ce stade.
Fusariose du collet - <i>Fusarium solani</i>	- Jaunissement des feuilles les plus âgées et coloration rougeâtre de la base de tige. - Pourriture du collet et racines.
Fusariose vasculaire - <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i> f.sp. <i>pisii</i>	- Enroulement, jaunissement et dessèchement du feuillage. - Coloration jaune orange du système vasculaire

2. La fusariose vasculaire du pois

2.1. Importance et dégâts de la maladie

La fusariose vasculaire du pois a été signalée en Europe au début des années 1900, bien que plusieurs noms différents aient été utilisés pour l'agent pathogène (**Buxton, 1957**). Il y avait aussi une certaine confusion entre le flétrissement causé par *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisii* et la pourriture racinaire causée par *F. solani* f.sp. *pisii* (**Buxton, 1955**).

En 1916, une maladie de pois décrite comme la fusariose s'est produite à Minnesota aux États-Unis, dans les champs plantés avec des semences importées du Royaume-Uni. À cette époque, l'identité de l'agent pathogène n'était pas encore identifiée. La fusariose vasculaire du pois a été signalée après dans tous les pays où le pois est cultivé commercialement. La maladie est souvent grave là où on pratique des rotations courtes avec d'autres cultures. Dans ces conditions, quand le pathogène développe des quantités suffisantes d'inoculum et

qu'on plante un cultivar sensible, il en résulte des pertes sévères (**Haglund, 1984**).

L'apparition de certaines races du champignon est très fréquente et peut détruire de 1 à 3% des plantes dans les champs infectés. Les températures chaudes du sol sont propices à la propagation de l'inoculum, les dommages peuvent varier considérablement d'année en année et les pertes les plus graves se produisent sur les cultures tardives (**Baugus, 2000**).

Au Canada, plus de 60% des champs de pois ont été infectés et l'incidence de la maladie varie de 1 à 80% (**Neumann et al., 2002**). En Inde *F. oxysporum* est l'agent pathogène prédominant associé avec le complexe du flétrissement-pourriture racinaire, il a été isolé à partir de 58,6% des plantes flétries (**Rana et al., 2009**). En Algérie la maladie peut provoquer des dégâts considérables quand les conditions sont favorables et lors du retour de la cultures sur la même parcelles (**Merzoug et al., 2009**).

2.2. Symptomatologie

Les fusarioses vasculaires sont parmi les maladies les plus graves et les plus fréquentes, dont les symptômes sont divers et peuvent toucher l'ensemble de la plante à n'importe quel stade de sa croissance. Les symptômes de la maladie sont généralement nombreux et apparaissent sous formes différentes avec une intensité plus ou moins variable (**Roger, 1953**).

Les symptômes incluent l'enroulement des feuilles et des stipules vers le bas qui prennent une couleur grise. Le flétrissement progresse des feuilles les plus basses vers le haut de la plante. Les organes aériens montrent en particulier un jaunissement et un flétrissement unilatéral des folioles et des feuilles de la base des plantes (Fig. 3.A), symptômes qui se généralisent à la plante entière (Fig. 3.C) (**Fabregne, 1986**).

A l'extérieur de la tige, une dépression longitudinale, part du collet puis remonte unilatéralement du côté correspondant à la racine malade (**Booth, 1971**). Sur la tige, les symptômes internes se caractérisent par un brunissement des tissus conducteurs contenant du mycélium (Fig. 3.B) (**Nelson, 1981**).

Les racines semblent ne pas être atteintes mais une coupe longitudinale de la tige met en évidence une coloration anormale orange à rouge qui progresse dans le tissu vasculaire à partir de la racine jusqu'à la tige dans la plupart des plantes déterrées. Ces symptômes sont rapportés par plusieurs auteurs (**Nelson et al., 1983; Hagedorn, 1991; Kraft et al., 2001**). Cependant, une altération des vaisseaux conducteurs du xylème racinaire conduit au jaunissement et flétrissement des plantules qui meurent par la suite. (**Figure 6**)

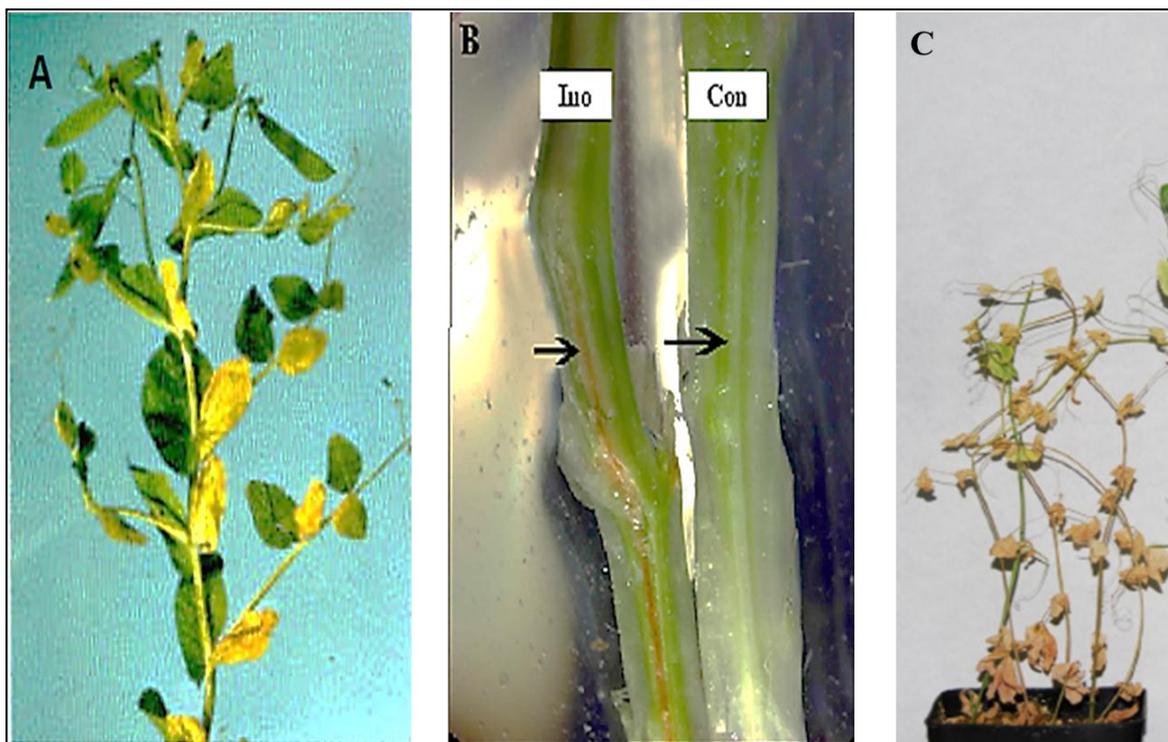


Fig. 6. Symptômes de la fusariose vasculaire de petit pois (**Hagedorn, 1991 ; Bani, 2015 ; Castillejo et al., 2015**).

(A) Jaunissement unilatéral des feuilles, (B) coloration des tissus vasculaires et (C) dessèchement de la plante.

L'infection précoce entraîne souvent la mort des semis, qui peut être masquée par la croissance des plantes voisines. Les plantes infectées peuvent sembler normales à basse température, mais à une température du sol de plus de 20°C, le flétrissement se développe rapidement, entraînant l'effondrement de la partie aérienne. Les plantes sévèrement infectées peuvent mourir prématurément ou produire plusieurs gousses contenant quelques graines détériorées (**Xue et al., 1996**).

2.3. Agent pathogène (*Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*)

2.3.1. Position taxonomique

Fusarium oxysporum f. sp. *pisi* (Fop) est un des Deutéromycètes telluriques appartenant à la sous-classe des Hyphomycètes et à la famille des Tuberculariacées (**Messiaen et Cassini, 1968; Booth, 1971; Nelson et al., 1983; Agriose, 2005**). Il se distingue des autres espèces de *Fusarium* par la production abondante de microconidies, rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courtes (**Fig.7**)

Généralement, *F. oxysporum* est un champignon cosmopolite, le plus répandu dans la nature. Il est présent dans les sols du monde entier où il se comporte soit en parasite, soit en saprophyte. Il s'agit d'une espèce anamorphe qui comprend de nombreuses souches pathogènes des plantes causant des maladies de flétrissement d'une grande diversité d'espèces de plantes hôtes agricoles et ornementales (**Appel et Gordon, 1996**). Selon **Messiaen et Cassini (1968)**, *F. oxysporum* est l'espèce qui comporte des formes phytopathogènes les plus fréquentes et les plus importantes de la microflore fongique des sols cultivés. IL comporte un ensemble de formes morphologiquement identiques, mais présentant des spécificités parasitaires parfois très étroites. Ainsi, plus de 120 formes spécialisées et races ont été décrites chez *F. oxysporum* (**Armstrong et Armstrong, 1981**). Parmi lesquelles, la forme spéciale « *pisi* » est responsable de la fusariose vasculaire du pois. Les races sont souvent en fonction de leur virulence à un ensemble de cultivars d'hôtes différentiels (**Correll, 1991**).

2.3.2. Cycle épidémiologique

F. oxysporum est un parasite tellurique doué d'une vie saprophytique. Par ses organes de résistance, les chlamydo-spores, il est capable de survivre pendant plusieurs années dans les conditions les plus défavorables, en absence de plante hôte (**Haware et al., 1982**). Le cycle de *F. oxysporum* peut être constitué d'une période unique correspondant à une reproduction asexuée qui se renouvelle et se perpétue sous la forme de conidies (**Walker, 1971**). *F. oxysporum* produit trois types de spores asexuées: microconidies, macroconidies et chlamydo-spores (Fig.4) (**Nelson et al., 1983 ; Agrios, 2005**).

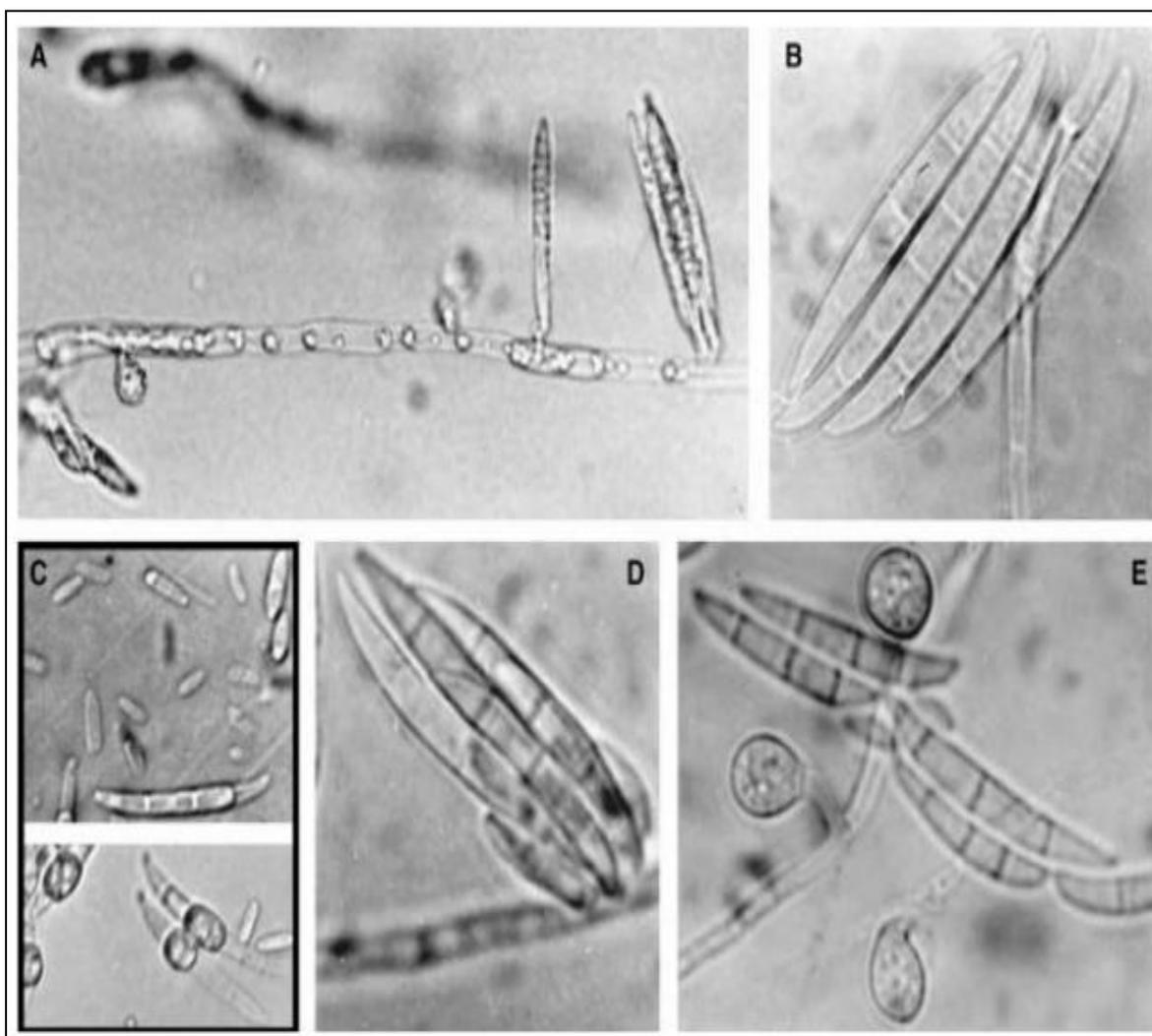


Fig.7. Aspect microscopique de *Fusarium oxysporum* (Watanabe, 2002).

(A) Hyphes, macroconidies, microconidies, et chlamydospores, (B) macroconidies, (C) macroconidies, microconidies et chlamydospores, (D) macroconidies, (E) macroconidies et chlamydospores.

Le Fop se trouve principalement dans la couche labourée du sol et survit sous forme de chlamydospores à paroi épaisse, qui restent viables dans le sol pendant plus de 10 ans (Kraft, 1995). La survie est liée à l'association de l'agent pathogène avec les racines des cultures non hôtes. Il est transmis par le sol et pénètre dans les racines de pois et infecte le système vasculaire à n'importe quel stade de croissance de la plante. Habituellement, les lésions corticales ne sont pas associées à l'infection (Fig. 8).

Le cycle épidémiologique des races 1, 5, et 6 est similaire. Initialement, les plantes sont infectées individuellement et tuées avant la récolte en vert. Avec l'augmentation du potentiel de l'inoculum, de petites zones circulaires infestées se

développent et toutes les plantes dans ces zones sont tuées. Pour les cultivars sensibles, ces zones s'agrandissent et fusionnent, formant des zones irrégulières de plantes mortes. Le degré de perte et la propagation dans les différents régions dépend de l'inoculum primaire, de la température (20-21°C optimale), du cultivar et du sol favorable à l'agent pathogène. La race 2 est presque universellement distribuée dans les régions productrices de pois et provoque généralement la mort de 1 à 3% des plantes dans les champs infectés. Sous des conditions idéales pour l'agent pathogène, les pertes peuvent être graves, et toute la récolte peut être détruite. Ces pertes se produisent généralement à la fin de la saison de croissance en raison des températures élevées du sol. Les plantes infectées par la race 2 sont dispersées dans le champ. La race 2 provoque généralement les pertes les plus graves sur les sols à texture grossière lorsque la température du sol est près de 25°C (Haglund, 1984).

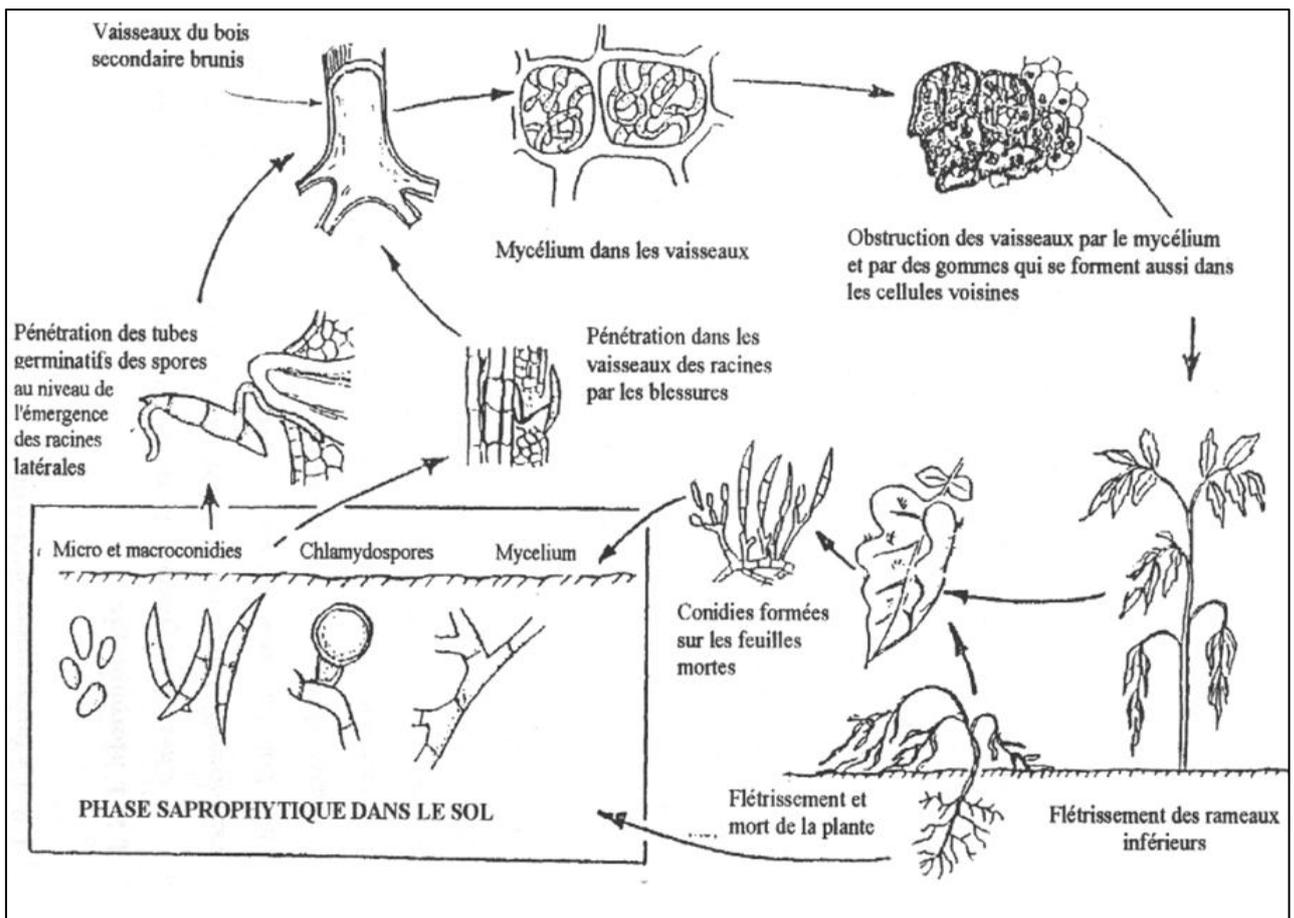


Fig.8. Cycle infectieux de *Fusarium oxysporum* (Agriose, 2005).

Le Fop est diffusée par le mouvement de sols contaminés ou des fragments de végétaux, par l'eau, le vent et/ou l'Homme. La dissémination à longue distance se fait par transport de semences contaminées et/ou infectées (**Haglund, 1984; Neumann et al., 2002**).

2.3.3. Variabilité du pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène de *F. oxysporum* sur différentes espèces de plantes a souvent conduit à la définition des formes spécialisées. Des travaux effectués sur ses agents dont la plupart sont responsables des maladies vasculaires, indiquent qu'ils sont le siège de variations portant notamment sur le pouvoir pathogène (agressivité et virulence) (**Messian et Cassini, 1968; Armstrong et Armstrong, 1974**).

L'instabilité du pouvoir pathogène chez les *F. oxysporum* est un phénomène courant qui se manifeste selon **Buxton (1958)** et **Bohot (1981)** notamment par l'acquisition et/ou la sélection rapide de nouveaux caractères de virulence par suite de l'introduction de nouveaux cultivars. Ces variations du pouvoir pathogène, qu'elles soient qualitatives ou quantitatives, expliqueraient l'initiation des épidémies dans les conditions naturelles et hétérogénéité des résultats obtenues parfois dans les tests de sensibilité/résistances des espèces végétales en cours d'amélioration. La variabilité de l'agressivité a été relativement peu étudiée chez les *F. oxysporum* néanmoins les travaux qui en font état indiquent que cette agressivité peut diminuer voire disparaître après une longue période de culture (**Tolmsof, 1972**) ou qu'elle peut demeurer stable au cours du vieillissement (**Messian et Cassini, 1968**).

Des différences de virulence à l'égard des variétés d'une espèce d'hôtes sont observées chez les souches de certaines formes spécialisées de *F. oxysporum* telles que les formes: *melonis*, *lycopersici*, *apii* et *pisi* (**Risser et al., 1976 ; Schneider et Nrelli, 1981 ; Elias et Schneider, 1991 ; Messian et al., 1991**), entraînant ainsi la définition des races physiologiques.

Les bases génétiques de la spécificité d'hôte (*formae speciales*) et spécificité de cultivar (races pathogènes) de *F. oxysporum* est inconnue (Baayen et al.,

2000). Ces champignons pathogènes sont morphologiquement indiscernables les uns des autres, ainsi que des souches non-pathogènes.

Fop est connu pour sa variabilité pathogénique (**Kraft, 1995**). Onze (11) races de l'agent pathogène ont été décrites, mais des désaccords considérables existent sur le classement de ces races (**Kraft et Haglund 1978 ; Neumann et Xue, 2002**).

Cette maladie a été décrite pour la première fois et distinguée de la fusariose du pied par **Jones et Linford (1925)**. L'agent pathogène a été nommé la race 1 de *F. oxysporum* f. sp. *pisi* Schl. (Van Hall.) Snyder et Hans. En 1935, Snyder décrit une nouvelle race de *F. oxysporum* qui était capable de provoquer le flétrissement des cultivars résistantes à la race 1, elle a été dénommée race 2 (**Goth et Webb, 1981**). La maladie a été appelée «*Near wilt*», car elle apparaît plus tardivement, souvent seulement au stade formation des gousses. Elle est aussi répandue que la race 1 (**Haglund, 1984**). La race 1 provoque un flétrissement brutal, la Race 2 est presque universellement distribuée dans les champs et provoque la mort de 1-3% des plantes dans les champs infectés (**Donald, 1985 ; Messian et al., 1991**). Parce que les symptômes causés par la race 2 ne se produisent habituellement jusqu'à maturité de la plante, la probabilité de transmission par les semences est fortement augmentée (**Hare et al., 1949**). En 1970, la race 5 a été décrite dans le nord-ouest de Washington (**Haglund et Kraft, 1970**), où tous les cultivars commerciaux résistants aux races 1 et 2 étaient sensibles. En raison des courtes rotations des cultures et le climat favorable dans cette zone pour le développement de la maladie, une nouvelle race a été décrite à l'ouest de Washington, elle était pathogène sur les cultivars et lignées différentielles résistants aux races 1, 2 et 5, et a été nommée race 6 (**Haglund et Kraft, 1979**).

La pathogénicité des races 1, 2, 5 et 6 du Fop peuvent être détectées par leur réaction sur les variétés différentielles. La réaction est basée sur une réponse résistante (aucun symptôme visible) et une réaction sensible (plantes mortes ou gravement rabougrées et chlorotiques). La classification des isolats de Fop basée sur les interactions hôte-pathogène est régie par la structure génétique de l'hôte et de l'agent pathogène (**Kraft, 1995**).

2.3.4. Interactions hôte-pathogène

Le cycle d'infection de *F. oxysporum* est initié par la germination des spores dans le sol en réponse à des signaux indéterminés dans les exsudats racinaires de l'hôte (**Di-Pietro et al., 2003**). Lors de la germination, les hyphes infectieux adhère à la surface de la racine et pénètrent directement dans l'épiderme de la racine (**Bishop et Cooper, 1983a ; Rodriguez-Galvez et Mendgen, 1995**). Le mycélium se développe ensuite dans l'espace inter- ou intracellulaire à travers le cortex racinaire, jusqu'à ce qu'il atteigne les vaisseaux du xylème (**Bishop et Cooper, 1983b ; Beckman, 1987**). À ce stade, le champignon passe en mode d'endophyte, au cours du quelle il demeure exclusivement dans les vaisseaux du xylème, il les utilise comme moyen de coloniser rapidement son hôte (**Bishop et Cooper, 1983b**). A ce stade, les symptômes de flétrissement apparaissent à la suite d'un manque d'eau, qui conduit finalement à la mort de la plante. Sur la plante morte, les hyphes du pathogènes poussent vers l'extérieur à partir des tissus vasculaires et commence à sporuler sur la surface de la plante (**Di Pietro et al., 2003**).

Aucune différence n'a été signalée dans la germination des macroconidies et chlamydospores de la race 1 ou 2 de Fop ou la croissance du tube germinatif dans le rhizoplan de cultivars résistants ou sensibles (**Whalley et Taylor, 1976**). De même, **Charchar et Kraft (1989)** ont signalé que les races 1 et 5 colonisent les cellules superficielles des racines des génotypes sensibles ainsi que les génotypes résistants. Cependant, il a été signalé que la population totale des races 1 et 5 a augmenté plus dans la rhizosphère des cultivars sensibles plutôt que des cultivars résistants de pois (**Kraft, 1978 ; Charchar et Kraft, 1989**).

Il ressort à travers des études antérieures que *F. oxysporum* est un saprophyte du sol et un colonisateur efficace des racines, et infecte les cellules épidermiques de nombreuses plantes non hôtes ou également des plantes résistantes qui ne présentent aucun symptôme. **Beckman (1987)** a affirmé que la colonisation vasculaire par les races pathogènes *F. oxysporum* est étendue dans les plantes sensibles mais reste limitée à la partie basale des plantes résistantes. Cette localisation à la base de la plante est aussi observée chez les plantes de pois (**Kraft, 1995**).

De nombreuses théories ont été avancées pour expliquer la nature de la résistance au flétrissement dans les plantes cultivées, qui peuvent être: des exsudats racinaires inhibitrices, des défenses chimiques de l'hôte qui provoquent l'inhibition de la croissance du pathogène, et des barrières physiques qui retardent ou empêchent l'invasion vasculaire (**Buxton, 1957 ; Bell et Mace, 1981 ; Beckman et Talboys, 1981 ; Danko et Corden, 1984 ; Baayen et Elgersma, 1985**).

Actuellement, quatre gènes sont connus pour conférer une résistance individuelle aux différentes races de Fop. Chacun de ces gènes est indépendant et confère une résistance à une seule race (**Kraft et Pflieger, 2001**).

2.4. Contrôle de la maladie

La protection des cultures de pois repose sur plusieurs éléments importants: les méthodes de culture utilisées doivent aider à réduire l'incidence et la sévérité des principaux organismes nuisibles. Les stratégies de lutte dépendent des différents organismes nuisibles présents dans l'environnement de la culture et combinent différents facteurs.

2.4.1 Lutte prophylactique

Le labour profond contribue dans la réduction du taux d'inoculum dans le sol. Ainsi, la pratique des assolements et des rotations convenables avec d'autres cultures, et en particulier les céréales, peut être une voie de destruction de l'inoculum primaire et permet aussi d'atténuer le taux d'infection en désorientant les microorganismes de leur hôte habituel (**Kaiser, 1981**). Cette pratique seule, utilisée pour l'éradication du *F. oxysporum* ne s'avère pas très efficace car le champignon peut se développer même en absence de son hôte et peut survivre à l'état saprophytique dans les débris des végétaux et la rhizosphère des plantes non hôtes (Booth, 1971 ; Donald, 1985).

L'amendement du sol avec la matière organique à base de paille de blé ou d'orge augmente l'activité antagoniste des microorganismes du sol et réduit par conséquent la fréquence de maladies du sol (Booth, 1971 ; Donald, 1985).

2.4.2 Lutte chimique

Les produits chimiques sont efficaces pour lutter contre certaines maladies, mais leur coût est trop élevé. En plus, de nombreuses études démontrent les risques que représentent les pesticides sur la santé humaine et l'environnement (Ploetz, 2000; Ploetz et al, 2003). Le traitement des semences avec le bénomyl à 0.3 % a été rapporté comme moyen de lutte efficace (Kannaiyan et Nene, 1974), mais le bénomyl a été détecté dans les racines et les jeunes pousses de 45 jours après le semis des graines traitées par ce fongicide (Kannaiyan *et al.*, 1975).

Différents autres fongicides couramment utilisés en agriculture ont été testés, tels que : le méthylthophanate, qui inhibent la croissance mycélienne *in vitro* à des doses de 10 et 100 ppm respectivement (Saaidi et Rodet, 1974 ; Vanachter, 1991 ; Frederiks et Dembreber, 1991).

2.4.3 Lutte biologique

La lutte biologique est une stratégie encourageante pour le contrôle des maladies provenant du sol. Ainsi plusieurs types de microorganisme capable de limiter la gravité de la fusariose de pois ont été utilisés. Cependant, à l'heure actuelle, les souches de *Fusarium* non pathogènes sont parmi les microorganismes les plus utilisés et ceux pour lesquels les recherches sont plus proches d'une application pratique. Ces souches réduisent considérablement la sévérité des *Fusarium* pathogènes et dont l'efficacité a été démontrée à plusieurs reprises (**Rouxel *et al.*, 1979 ; Alabouvette, 1986**).

Le traitement des graines de pois par *Pseudomonas fluorescens* 63-28 a induit la production d'enzymes hydrolytiques telles que la chitinase et la B-1,3 glucanase. Ces enzymes hydrolytiques s'accumulent au site de pénétration de Fop et par conséquent, elles peuvent être directement impliquées dans la dégradation des parois cellulaires fongiques (**Benhamou *et al.*, 1996**).

2.4.4 Lutte génétique

La lutte génétique est l'un des moyens les plus sûres, les plus économiques et les plus écologiques pour combattre les maladies. Elle est la plus facilement adoptable par les agriculteurs. Elle repose sur la création des variétés génétiquement résistantes aux parasites.

La résistance génétique est la seule mesure de lutte efficace contre Fop. La plupart des cultivars commerciaux cultivés sont résistants à la race 1 et encore plus sont résistants à la race 2 (**OEPP, 1994**). Toutefois, lorsque le potentiel de la maladie est très élevé, certaines de ces variétés n'offrent pas un contrôle suffisant et il y peut avoir une diminution du rendement et de la qualité. L'efficacité de l'utilisation de cultivars résistants peut être réduite par l'apparition de nouvelles races (**Neumann et Xue, 2002**).

La résistance au Fop est gouvernée par un seul gène dominant spécifique à la race et qui peut être transféré avec succès aux cultivars de pois (**Infantino et al., 2006**). Bien que l'utilisation de ces cultivars résistants c'est avérée efficace dans le contrôle de cette maladie, il y a un risque constant de contourner cette résistance, parce que la résistance monogénique peut être facilement surmonté par l'émergence de nouveaux pathotypes du pathogène. Une recherche permanente de nouvelles sources de résistances pour compléter et renforcer la résistance des cultivars sélectionnés est donc essentielle, en fonction des mécanismes quantitatifs et polygénique. Cependant, les sources de résistance à la fusariose du pois sont limitées (**Ali et al., 1994**). Afin d'élargir la base génétique de la résistance, il est important d'évaluer différentes grandes collections de ressources génétiques, y compris les espèces sauvages, et d'utiliser des techniques de détections précises (**Infantino et al., 2006 ; Bani et al., 2012**).

Chapitre II.

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal

Six génotypes de pois (*Pisum* spp.) ont été étudiés. Ils sont issus de populations spontanées d'origine de différents pays (Tableau 5). La semence de ces génotypes a été fournie par l'institut de l'Agriculture durable de Cordoue (*Institute of Sustainable Agriculture IAS, CSIC, Cordoba, Spain*).

Tableau 5. Génotypes de pois étudiés.

Génotype	Espèce	Pays d'origine
952	<i>Pisum sativum</i>	Hongrie
1160	<i>P. sativum</i>	Inde
2633a	<i>P. sativum</i>	France
3029	<i>P. sativum</i>	Etats-Unis
3068	<i>P. sativum</i>	République Tchèque
P648	<i>P. sativum</i> var. <i>arvense</i>	Ethiopie

2. Matériel fongique

La souche R2F42 de la race 2 de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop) (Figure 9) a été utilisée pour inoculer les différents génotypes. Elle était gracieusement fournie par l'IAS de Cordoue, Espagne.

Afin de régénérer la souche, elle était cultivée sur PDA (*Potato Dextrose Agar*) et incubée à 28°C pendant 4 à 5 jours.



Figure 9. Culture de la souche R2F42 de Fop.

3. Etude de comportement des génotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire

3.1. Pré-germination des graines

Les semences des 6 génotypes ont été superficiellement désinfectées avec de l'hypochlorite de sodium (1% de la solution finale) pendant 30 minutes. la désinfection a été suivie par deux rinçages successifs à l'eau distillé stérile pendant 20 minutes pour chaque rinçage. Ensuite, les semences sont déposées dans des boîtes de Pétri tapissées par du papier buvard stérile imbibé d'eau distillé stérile (Figure 10). Les boîtes ont été couvertes avec du papier aluminium, puis elles sont mises à pré-germer à 4°C (réfrigérateur) à l'obscurité pendant 4 jours. Après la stratification des graines, les boîtes ont été incubées à 20°C pendant 2 jours.

Une fois germées (Figure 11.A), les plantules de chaque génotype ont été transférées dans des pots en plastiques, remplis de perlite stérile (Figure 12.B) et mises en culture dans des conditions semi-contrôlées sous serre.



Figure 10. Désinfection des graines.



Figure 11. Pré-germination des graines et mis en culture des plantules.

(A) Graines du pois germées. (B) mise en culture des graines germées.

3.2. Préparation de l'inoculum

Cinq à six disques mycéliens ont été prélevés à partir de la culture fongique de la souche R2F42 âgée de 5 jours (Figure 12.A). Les disques ont été ensuite mis dans des flacons contenant 200 ml du milieu PDB (*Potato Dextrose Broth*). Les flacons ont été incubés à 25C° sous agitation constante et continue (170 rpm pendant 4 jours). Les conidies ont été récupérées par filtration de la suspension sur 2 compresses stériles (Figure 12.B). Par la suite, la concentration a été mesurée à l'aide d'une cellule de Malassez puis ajustée à 5×10^6 conidies/ml (Haglund, 1989).

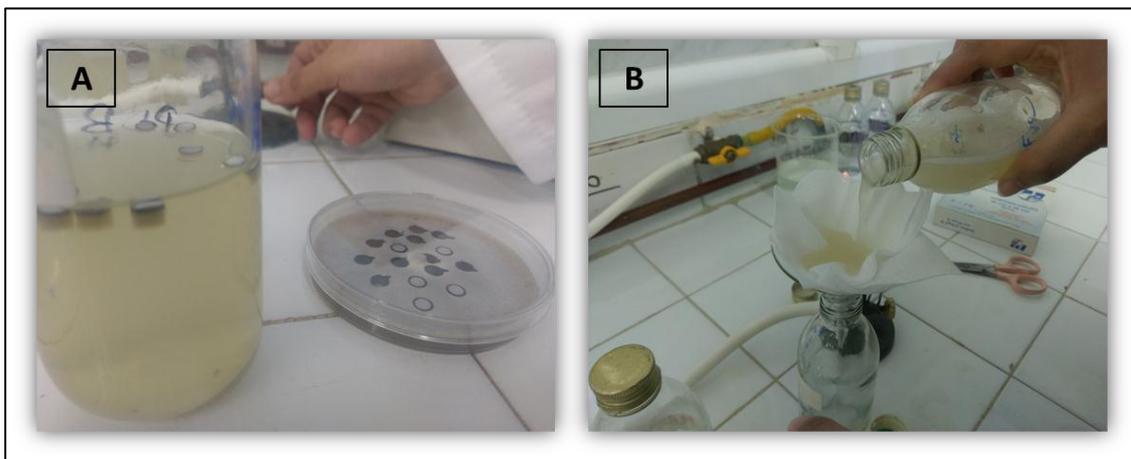


Figure 12. Préparation de l'inoculum fongique.

(A) Prélèvement des disques mycéliens et (B) filtration des suspensions.

3.3. Inoculation des plantes

L'inoculation est effectuée par la méthode d'immersion des racines dans la suspension conidienne du champignon (Haglund, 1989).

Au stade de 2 à 3 feuilles (Figure 13.A), les plantes ont été dépotées, nettoyées de la perlite, puis environ un tiers du système racinaire a été coupé (figure 13.B) avant le trempage du reste de la racine dans la suspension fongique pendant 5 minutes (Figure 13.C). Après l'inoculation, les plantes ont été transplantées dans leurs pots remplis de perlite stérile et installées sous serre jusqu'à la fin de l'expérimentation.

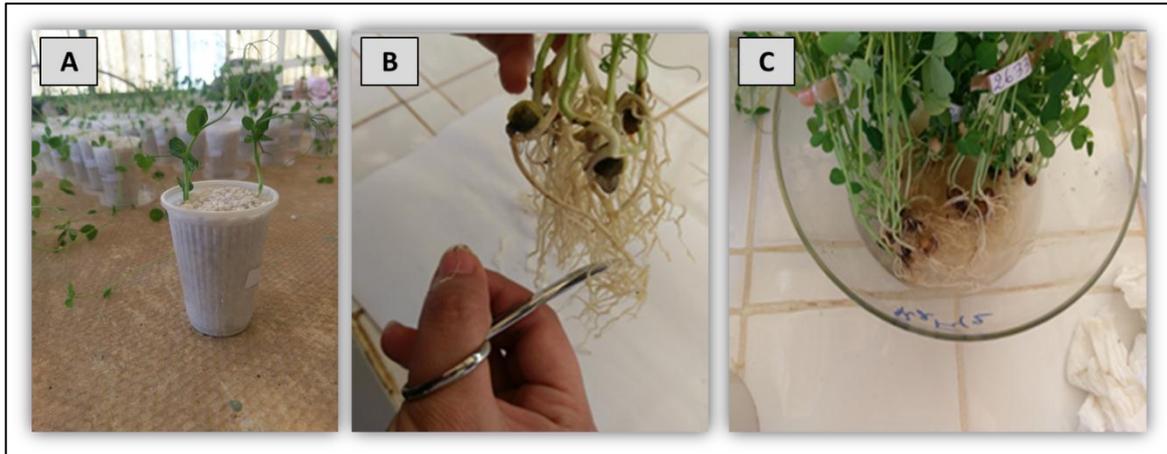


Figure 13. Inoculation des plantes du pois.

(A) Stade d'inoculation, (B) coupure des racines et (C) leur immersion dans la suspension fongique.

3.4. Traitements appliqués

Pour pouvoir étudier le comportement des 6 génotypes de pois vis-à-vis de la souche R2F42 de Fop, deux traitements ont été effectués :

- Le premier consiste à l'inoculation des plantes de chaque génotype par la souche fongique.
- Le deuxième consiste à remplacer la souche fongique par de l'eau distillée stérile (témoins).

Chaque traitement a été répété 5 fois, soit un total de 60 plantes.

3.5. Paramètre d'évaluation

3.5.1. Suivi symptomatologique

Les observations symptomatologiques concernent le suivi et le contrôle du développement des symptômes typiques de la fusariose vasculaire du pois sur les plantes inoculées. Les symptômes externes s'expriment par un flétrissement et un jaunissement des feuilles suivis par un dessèchement et/ou la mort de la plante (**Bani et al., 2012**).

En plus des symptômes foliaires, une coloration rougeâtre à noirâtre des tissus de la tige et du collet de la plante a été précédemment décrite pour être associée aux infections par *F. oxysporum* (**Kraft et Pflieger, 2001**).

3.5.2. Calcul du taux d'infection

Pour chaque plante, nous avons calculé le taux d'infection, représenté par la proportion de feuilles symptomatiques par rapport au nombre total de feuilles.

$$\text{Taux d'infection (\%)} = \frac{\text{Nombre de feuilles symptomatiques}}{\text{Nombre total des feuilles}} \times 100$$

Les génotypes présentant une valeur de taux d'infection inférieure ou égale à 50% sont considérés comme résistants, les génotypes présentant des taux d'infection entre 50 et 70% sont classés comme partiellement résistants alors que les génotypes avec des valeurs de taux d'infection dépassant 70% sont considérés comme sensibles (**McPhee et al., 1999**).

Le calcul des valeurs effectives des taux d'infection pour chaque plante a été réalisé comparativement aux témoins sains traités par l'eau distillée stérile.

3.5.3. Calcul de l'AUDPC

Pour comparer la réaction de résistance ou de susceptibilité des génotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire, les valeurs des taux d'infection de la maladie ont été utilisées pour calculer la courbe des aires de propagation des symptômes (AUDPC : *Area Under the Disease Progress Curve*). C'est un paramètre qui intègre l'intensité des symptômes et leur progression dans le temps, et il a été calculé par l'équation suivante (**Bani et al., 2012**):

$$\text{AUDPC} = \sum \left[\frac{x_i + x_{i+1}}{2} \times (t_{i+1} - t) \right]$$

Avec:

x_i : taux d'infection estimé à la date i ;

x_{i+1} : taux d'infection estimé à la date $i+1$;

t_{i+1} : nombre de jours entre la date i et la date $i+1$.

Le calcul des valeurs effectives des AUDPC pour chaque plante a été réalisé comparativement aux témoins sains traités par l'eau distillée stérile.

4. Essai de détection de la présence de *Fop*

Le pathogène a été ré-isolé à partir de quatre parties (racine, collet, partie inférieure et supérieure de la tige) des plantes inoculées par la souche R2F42 de *Fop*. Le ré-isolement a été effectué 7 jours après l'inoculation.

Suivant la méthode décrite par **Bani et ses collaborateurs (2012)**, les plantes sont lavées de la perlite sous l'eau du robinet, superficiellement désinfectées dans une solution 2.5% hypochlorite de sodium-5% éthanol pendant 2 min, puis rincées deux fois avec de l'eau distillées stériles pendant 2 min (Figure 14.A). les plantes ont été par la suite divisées en quatre parties (racine, collet, région inférieure et supérieure de la tige).

Une section d'environ 1 à 1.5 cm de longueur de chaque partie a été déposée sur le milieu PDA et incubée à 28°C pendant 3 jours (Figure 14.B). La présence de *Fop* dans les sections des plantes a été détectée par l'observation du développement d'une colonie autour de la section.

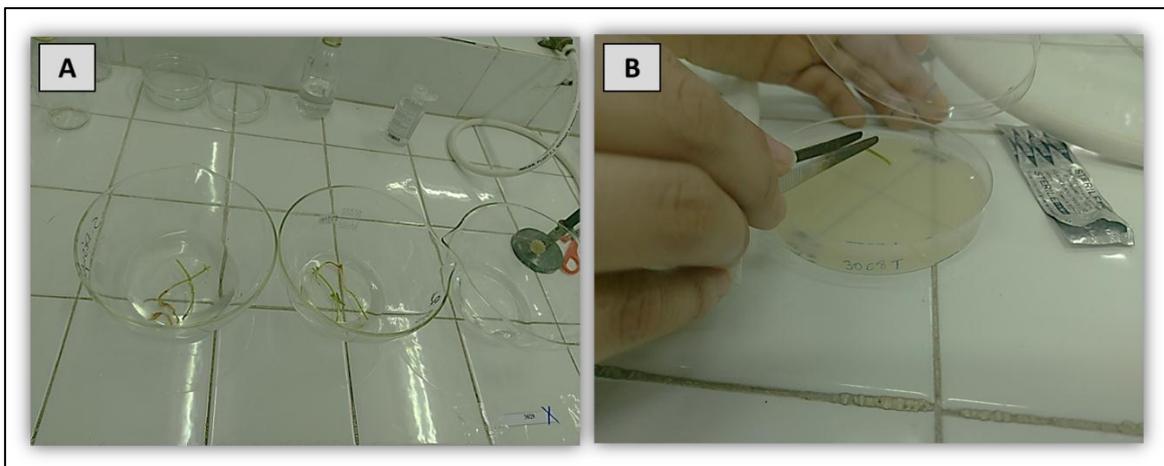


Figure 14. Désinfection superficielle des plantes (A) et de ré-isolement de *Fop* (B) .

5. Traçage de la continuité de la sève

Pour déterminer la continuité de l'eau et de flux des éléments nutritifs au sein des plantes, nous avons déterminé la capacité de rétention et du transport d'une solution du traceur colorant qui est le bleu de naphtol (Figure 15.A). Pour cela, les plantes inoculées avec la souche R2F42 de *Fop* ont été récupérées 30 jours après

leur inoculation et lavées de la perlite sous l'eau du robinet. Les racines des plantes ont été immergées dans une solution de 0,1% de bleu de naphthol dans des tubes en verre de 50 ml (Figure 15.B) pendant 12 h dans la température ambiante. La continuité de l'eau et de flux de la sève a été alors déterminée par observation d'une coloration bleue dans les vaisseaux des plantes à partir des sections longitudinales et transversales du tissu végétal frais sous microscope photonique (**Bani et al., 2012**).

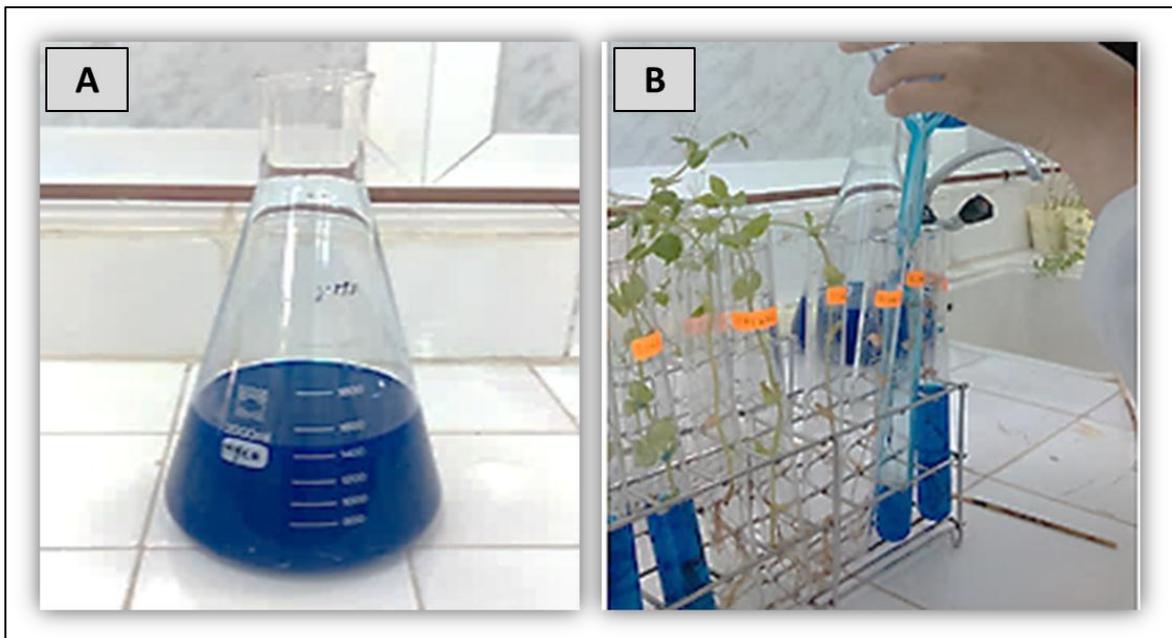


Figure 15. Essai de continuité de flux de la sève sur des plantes du pois.

(A) Solution de bleu de naphthol et (B) immersion des racines dans la solution.

Chapitre III.

Résultats et discussion

1. Comportement des génotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire

1.1. Les symptômes

1.1.1. Symptômes externes

1.1.1.1. Partie aérienne

Au niveau de la plante entière, les premiers symptômes de la fusariose vasculaire ont été observés 7 à 10 jours après l'inoculation sur les génotypes sensibles. Les symptômes de la maladie commencent sur les feuilles primaires et atteignent progressivement les jeunes feuilles, jusqu'à ce que l'ensemble de la plante flétrisse et meure 19 à 30 jours après inoculation (Figure 16).

Deux types de symptômes sont observés :

- Les organes aériens montrent en particulier un jaunissement et un flétrissement des feuilles de la base des plantes et leurs enroulements vers le bas et prennent une couleur grise. Le flétrissement progresse des feuilles les plus basses vers le haut de la plante, symptôme qui peut se généraliser à la plante entière et les plantes restent rabougries (Figure 16. A, C, D, E, F) C'est le symptôme qui a été le plus observé par rapport au deuxième.
- Décoloration des feuilles qui prennent une teinte vert clair qui évolue vers un jaunissement. Ce symptôme est observé au niveau des feuilles apicales et évolue vers les feuilles basales (Figure 16.B).

A l'extérieur de la tige, une dépression longitudinale, part du collet puis remonte unilatéralement du côté correspondant à la racine malade (Figure 16.2).

Les plantules non inoculées par le pathogène (plants témoins), sont restées intactes (Figure : 16.1).



Figure 16.A : Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur le génotype 2633b de petit pois.



Figure 16.B : Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur le génotype 952.

1 : plantes témoins non inoculées par le pathogène. 2 : plantes inoculées par l'isolat R2F42



Figure 16.C : Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur le géotype P648.



Figure 16.D : Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur le géotype 1160.

1 : plantes témoins non inoculées par le pathogène. 2 : plantes inoculées par l'isolat R2F42



Figure 16.E : Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur le génotype 3068.



Figure 16.F : Progression des symptômes de fusariose vasculaire causée par fop sur le génotype 3029.

1 : plantes témoins non inoculées par le pathogène. **2 :** plantes inoculées par l'isolat R2F42

a : Jaunissement des feuilles. **b :** Dessèchement et mort des feuilles/ Brunissement longitudinal de tige

 Le 1^{er} suivi après l'inoculation de 12j

 Le 2^{ème} suivi après l'inoculation de 19j

 Le 3^{ème} suivi après l'inoculation de 37j

1.1.1.2. Partie racinaire

Au niveau des racines, les génotypes inoculés avec la souche R2F42 ont montré une décoloration anormale orange à rouge foncé sur les racines et le collet jusqu'à la tige. Cette décoloration n'a pas été enregistrée chez les plantes résistantes et les plantes immergées dans l'eau distillée stérile (témoins). Le symptôme est observé dans les génotypes sensibles (figure 17).

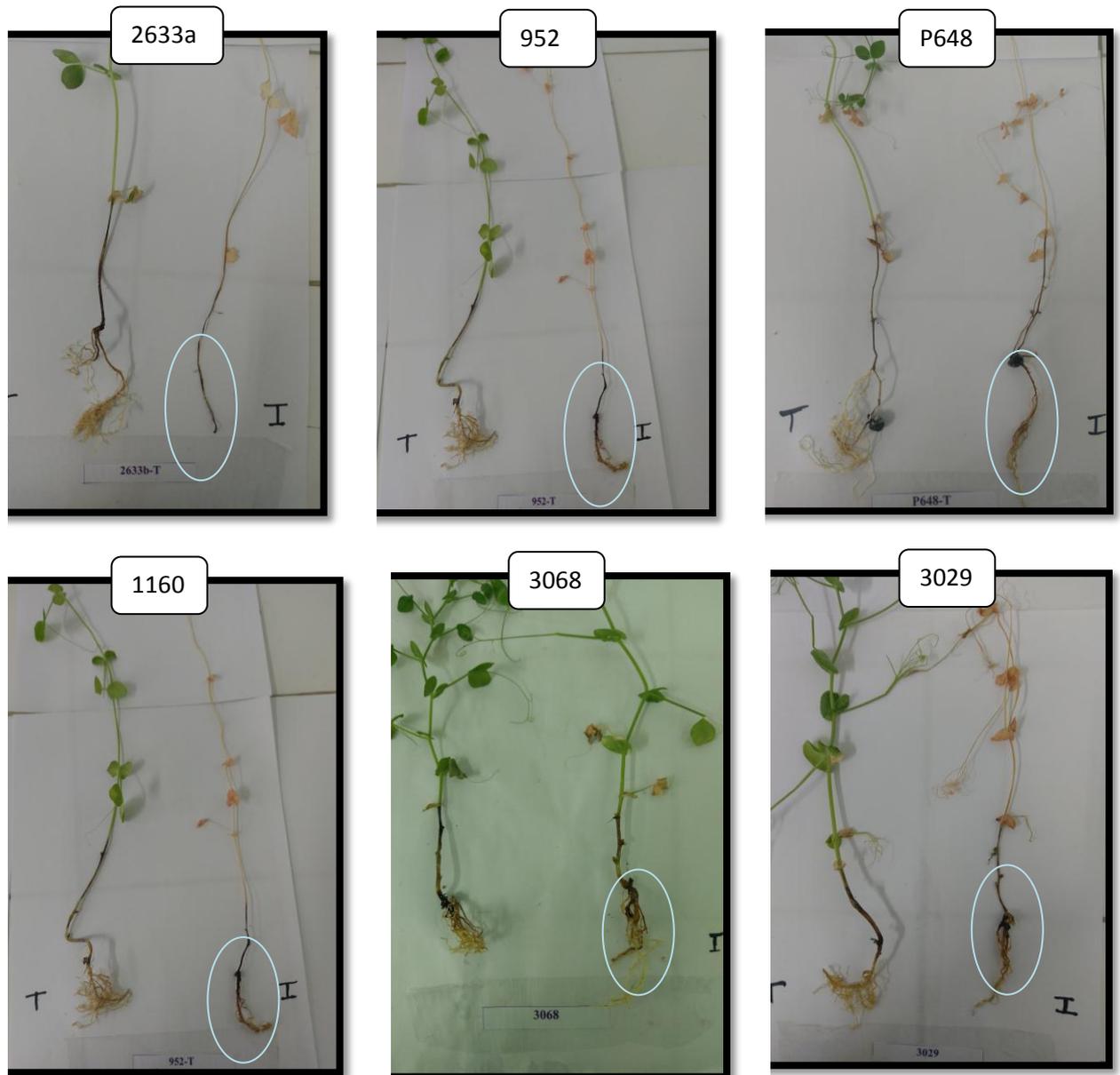


Figure 17. Aspect des racines du tout les génotypes (2633a, 952, P648, 1160,3068, 3029). (T).Témoin(EDS), (I) inoculée avec la souche R2F42

1.1.2. Symptômes internes

Trente jours après l'inoculation, des coupes longitudinales ont été effectuées sur la racine et le collet des différents génotypes. Une décoloration rouge foncée du système vasculaire et du tissu parenchymateux a été observée chez les génotypes sensibles. Cette décoloration a été enregistrée chez les génotypes inoculés avec la souche R2F42 du champignon. Par contre, les racines des plantes immergées dans l'eau distillée stérile (témoins) n'ont pas montré cette décoloration (Figure 18).

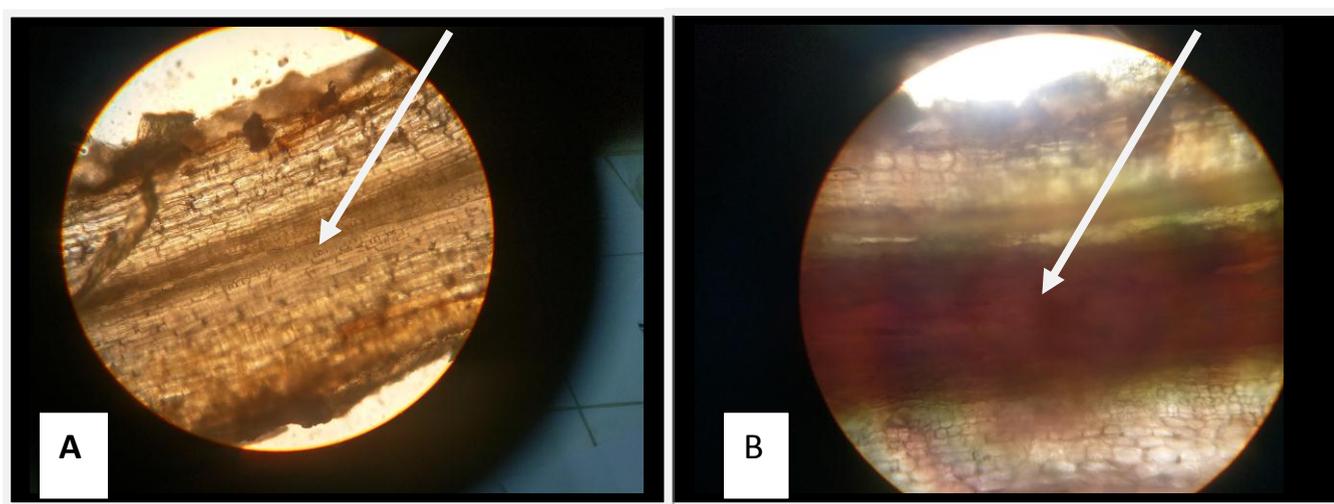


Figure 18. Coupes des racines du génotype 952 sous microscope optique (G:100).

(A)Témoin, (B) inoculée avec la souche R2F42 (brunissement des vaisseaux).

1.2. Taux d'infection

Le taux d'infection des génotypes étudiés était évalué en dénombrant les feuilles porteuses de symptômes de la fusariose vasculaire, par rapport au nombre totale des feuilles. Le taux d'infection des 06 génotypes varie de 28,57% à 95,14%. Sur cette base, nous avons pu sélectionner les génotypes résistants, partiellement résistants et sensibles, ce qui a permis de distinguer le comportement de chaque génotype vis-à-vis à la fusarium vasculaire .

Les résultats illustrés dans le graphe, obtenu par le calcul des moyennes du taux d'infection, nous permet de remarquer des différences dans le comportement des six génotypes. Nous avons pu caractériser et sélectionner les génotypes résistants, partiellement résistants et sensibles.

En interaction avec la souche R2F42, les génotypes **1160**, **2633** et **P648** semblent résistants à cette souche en enregistrant des taux d'infection inférieurs à 50 %. Les génotypes **3029** et **3068** sont considérés comme partiellement résistants et le génotype **952** comme sensible en enregistrant .La valeur de taux d'infection la plus élevée a été enregistrée par le génotype 952 (95%) qui est le plus sensible vis-à-vis de cette souche (Figure 19).

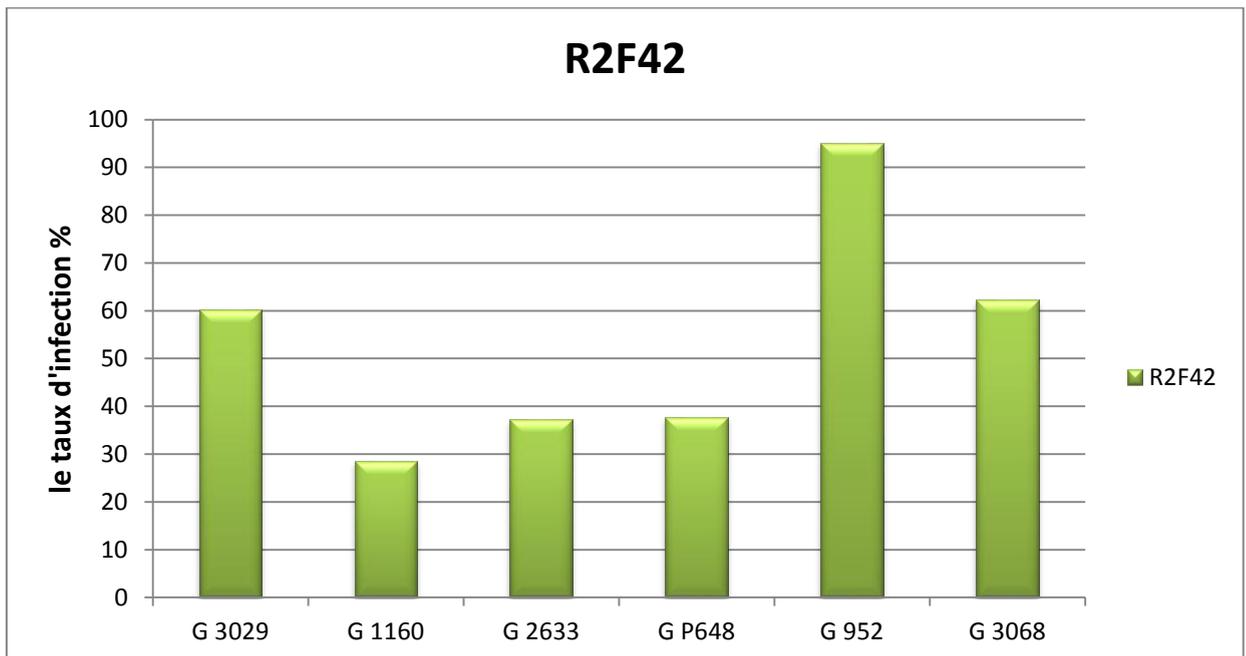


Figure 19. Taux d'infection de tous les génotypes étudiés 30 jours après leur inoculation

La progression de la maladie a été également estimée dans le temps où nous avons noté que l'apparition des symptômes a été brutale et varié d'un génotype à l'autre qu'. Par exemple, le génotype 3029 a exprimé les premiers symptômes dès le 7ème jour d'inoculation avec la souche R2F42, avec une valeur de 23,238%, avec un maximum de 60,28% après le 19 ème jour d'inoculation. Par contre, l'apparition des premiers symptômes chez le génotype

1160 à 10 jours après son inoculation avec la même souche en enregistrant une valeur de 9,59 %, pour atteindre 28,57% après 28 jours d'inoculation (Figure 20).

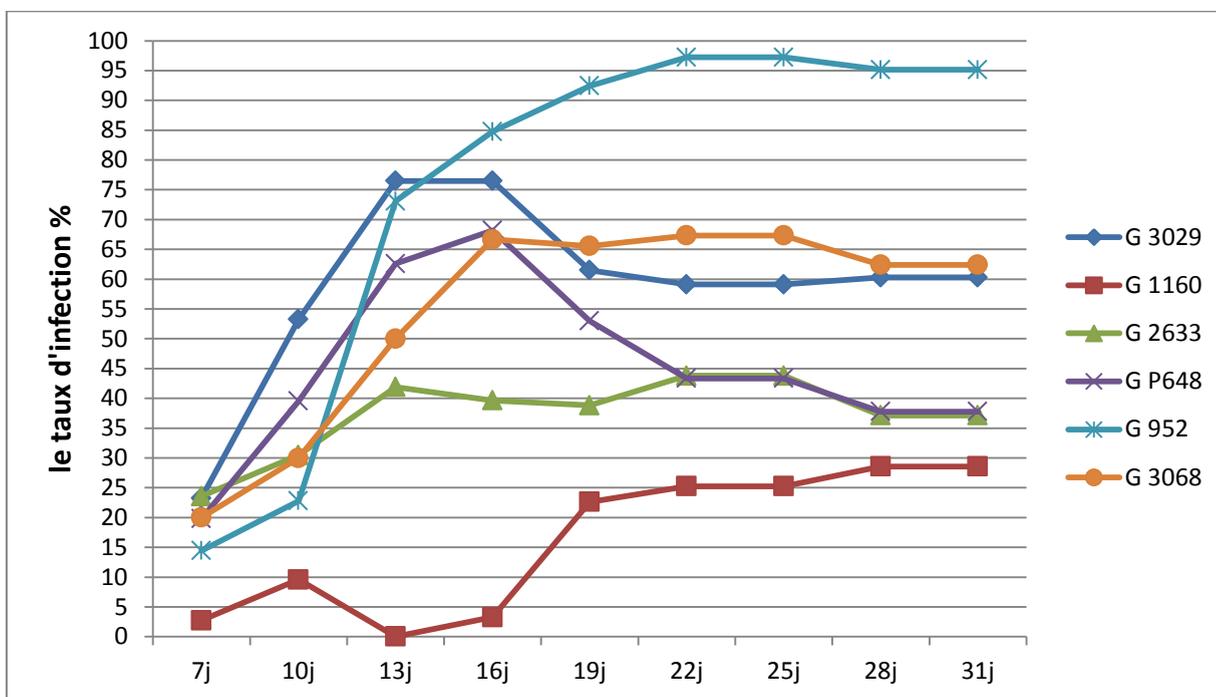


Figure 20. Cinétique des taux d'infections de tous les génotypes

1.3. Courbe des aires de progression de la maladie (AUDPC)

Le calcul de l'AUDPC nous a permis de définir une valeur plus fiable afin de distinguer avec précision les réponses des génotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire.

Les valeurs AUDPC les plus faibles correspondent aux génotypes résistants, tandis que les valeurs les plus importantes correspondent aux génotypes sensibles.

En interaction avec la souche R2F42, les AUDPC varient entre 0,00 et 1836,58. Le génotype 952 est le plus sensible vis-à-vis de cette souche en montrant un AUDPC de 1836,5873. Tous les autres génotypes ont enregistré des AUDPC entre 720 (génotype 3029) et 1066,21212 (génotype 3068). A l'exception

des génotypes p648, 1160 et 2633 qui sont les plus résistants avec des valeurs de : 169,190476, 0,00 et 0,00 successivement (Figure 21).

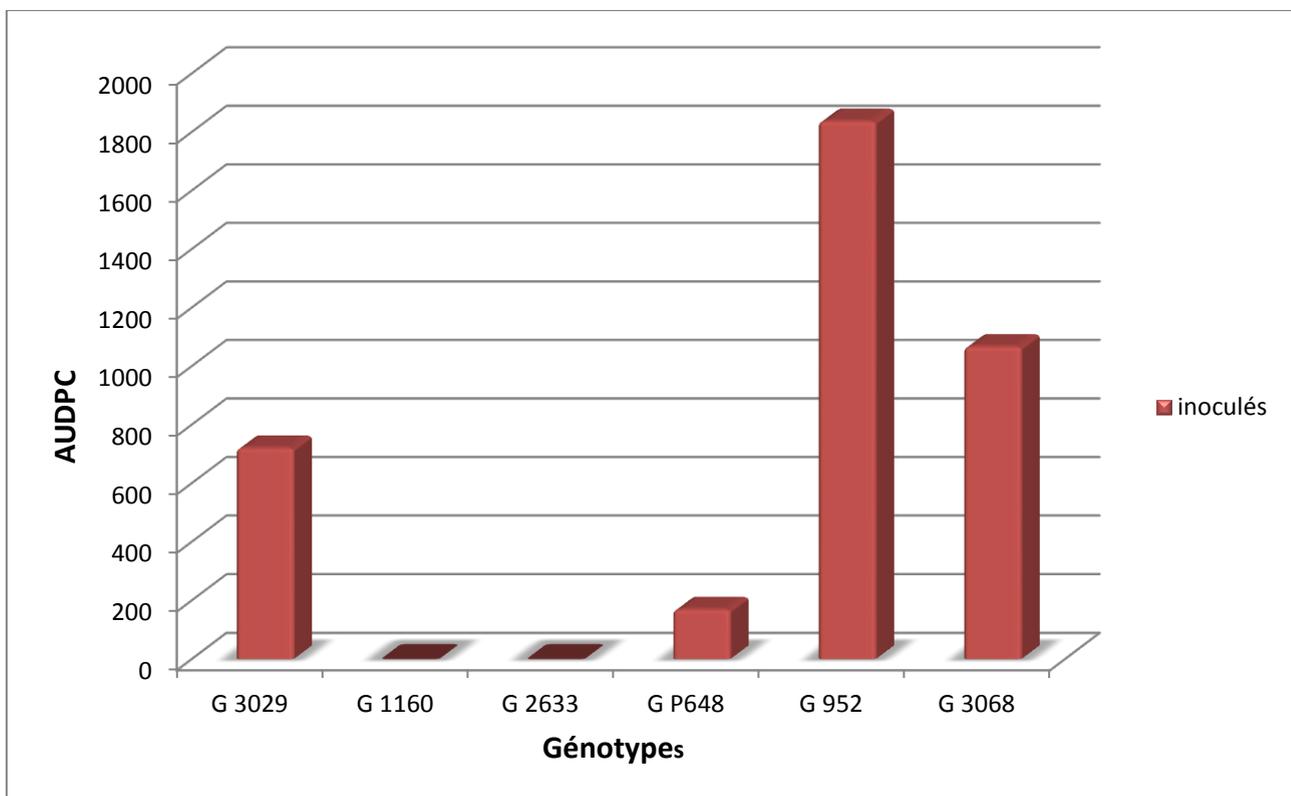


Figure 21. Valeurs d'AUDPC des 06 génotypes du pois inoculés avec la souche R2F42 de Fop.

2. Détection de la présence de Fop

Pour détecter la présence de Fop, nous avons récupéré des plantes inoculés, après 7 jours, en vue de réisoler l'agent pathogène.

Trois jours après l'inculcation des sections, on remarque que les souches obtenues d'un réisolement sont identique aux mêmes critères macroscopiques. Les colonies fongique sont des filaments blanchâtres, émergeant du tissu végétale, donc on peut dire que nous avons la même souche de Fop dans les sections des plantes sensibles (figure 23). Par contre les sections des plantules non inoculées par le pathogène (plants témoins), sont restées intactes. (Figure 22).

Chez le génotype sensible 952, les colonies de Fop se sont développées autour des sections des différentes parties de la plante. En revanche, chez les génotypes résistants 1160, 2633 et 3068, les colonies le Fop ont été développées uniquement autour des sections des racines et des collets (Figure 23)

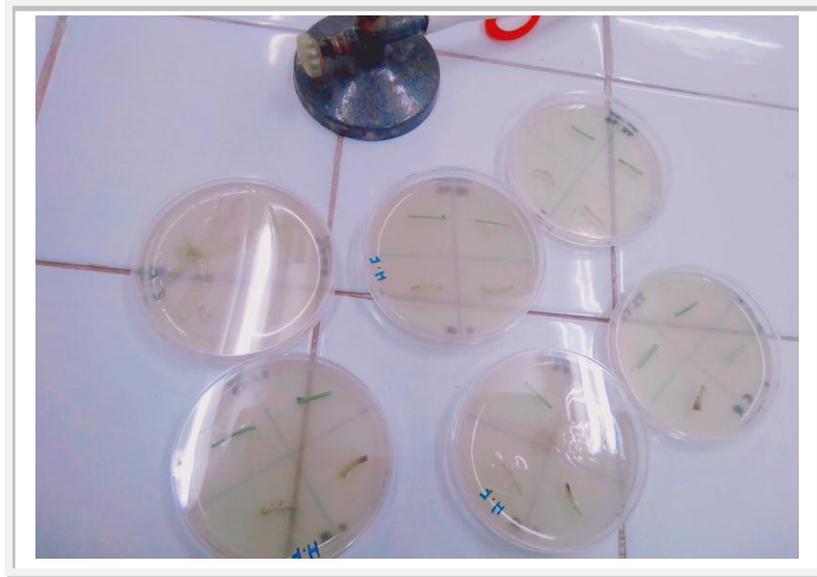


Figure 22. Les parties de ré-isolement à partir des plantes non inoculé (témoins)

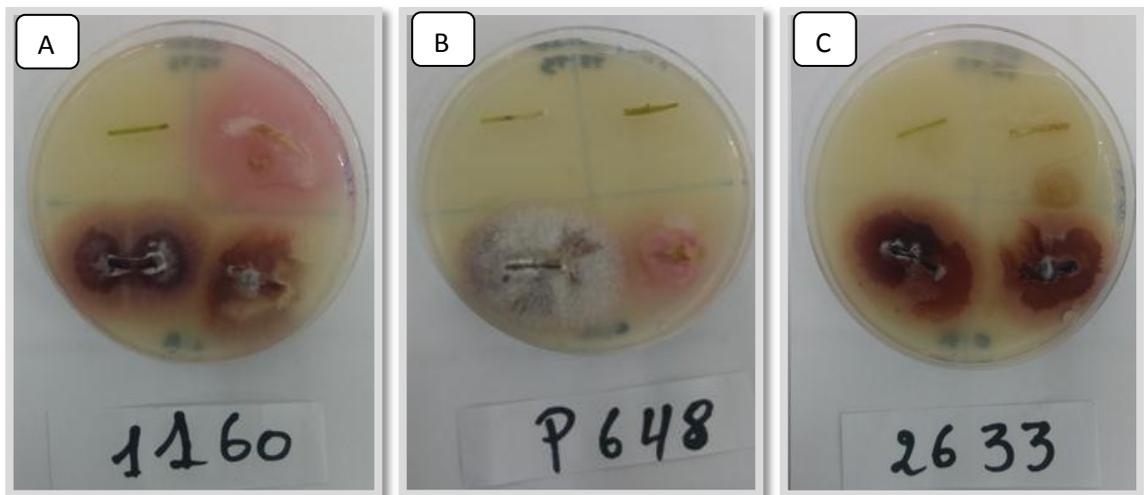


Figure 23. Les réisolement à partir des plantes inoculées avec l'isolat R2F42

(A) (B), (C) génotypes résistants,

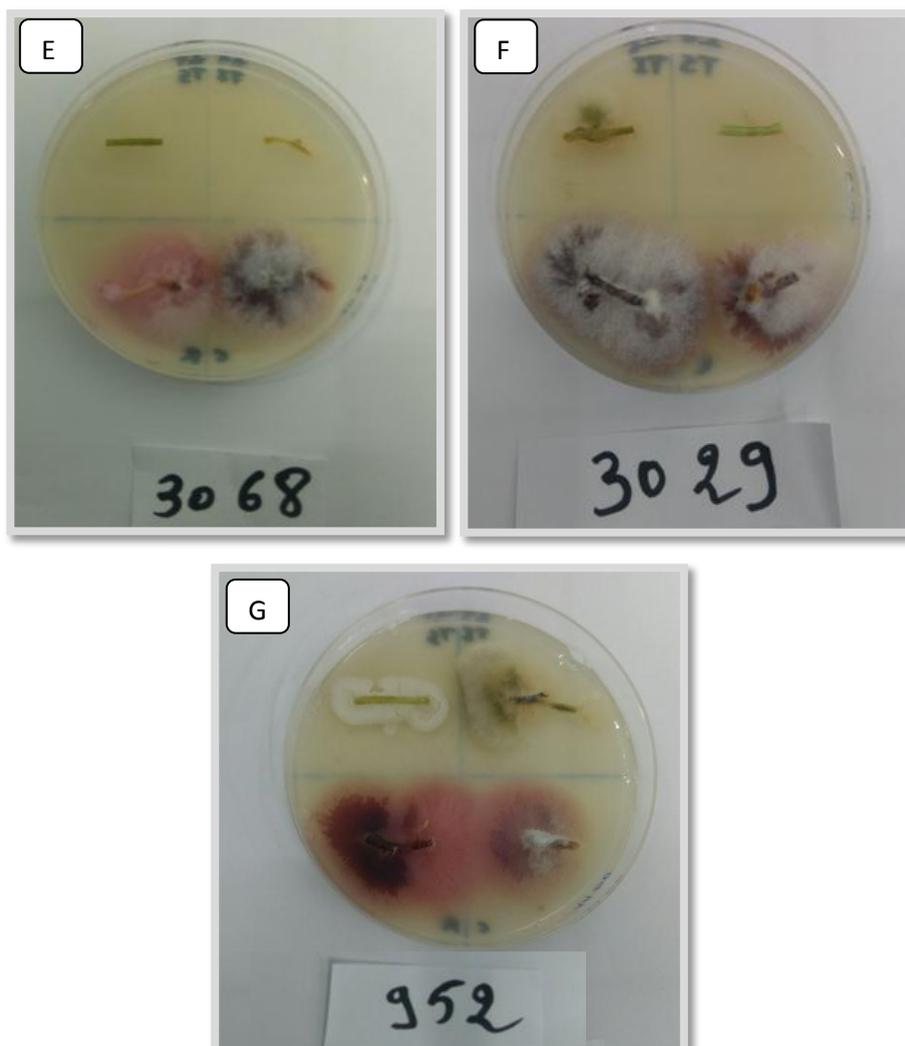


Figure 23. Les réisolement à partir des plantes inoculées avec l'isolat R2F42

(E), (F), génotypes partiellement résistants, (G) génotypes sensible

3. Traçage de la continuité de la sève

Trente jours après l'inoculation, des coupes longitudinales et transversales ont été effectuées sur la racine et le collet des différents génotypes, après immersion des racines de ces plantes dans une solution à 0,1% de naphтол bleu. Pour déterminer la capacité de rétention et du transport d'une solution du traceur colorant au sein des plantes. Cette coloration a été enregistrée chez la plupart des génotypes résistants (1160, 2633, 3068...) inoculés avec la souche R2F42, et

chez les racines des plantes immergées dans l'eau distillée stérile (témoins), dont la circulation de la sève a été normale. Tandis que chez les génotypes sensibles (952) n'ont pas montré cette coloration. (Figure 24).

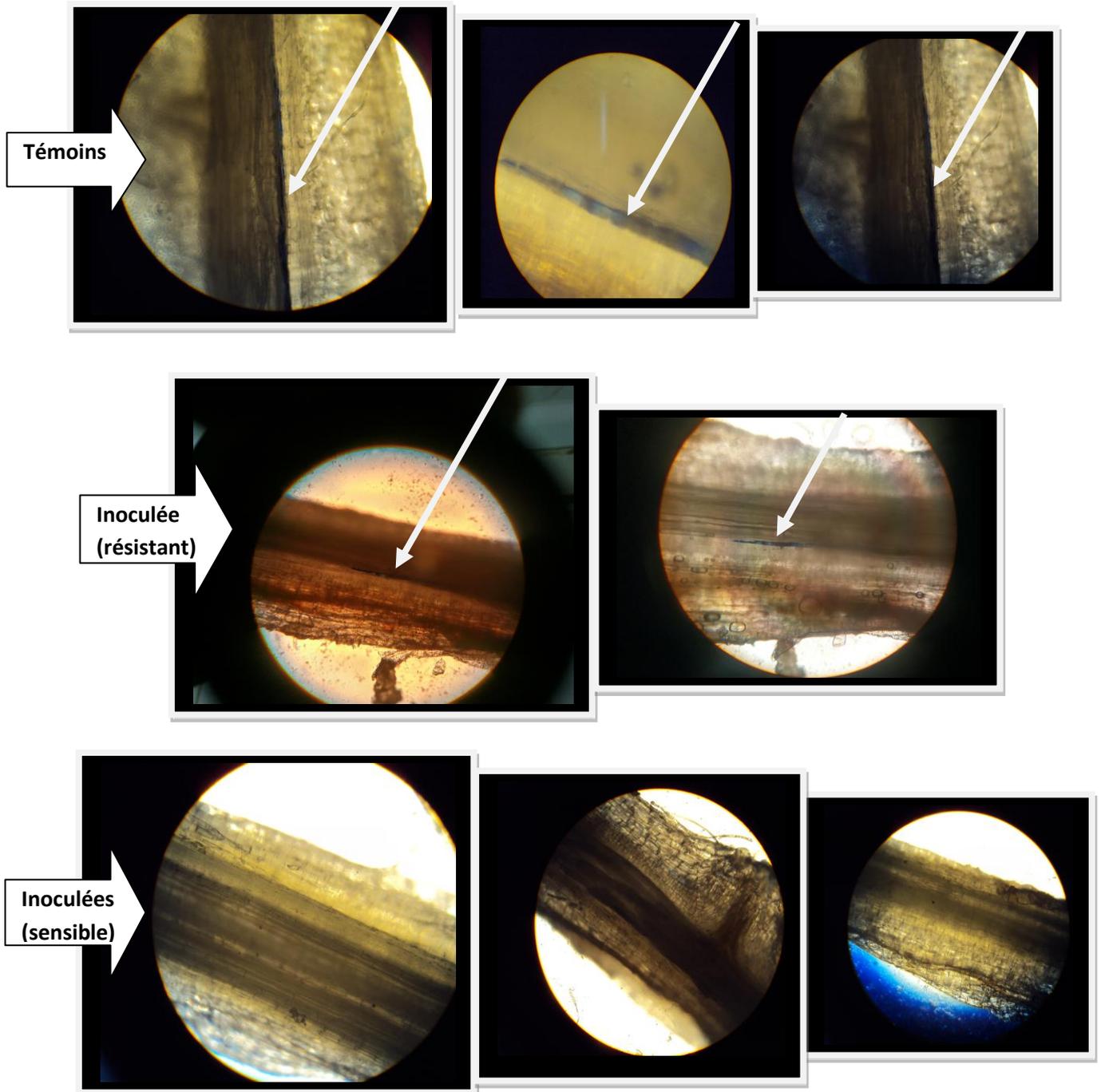


Figure 24. Coupes des racines de quelque génotype (inoculée) sous microscope optique (G:100).

4. Discussion générale

Notre travail avait pour objectif la caractérisation de la résistance d'une collection de 06 géotypes de *Pisum* spp. vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* dans des conditions semi-contrôlées sous serre. Cette souche a pu induire des symptômes typiques de la fusariose vasculaire et les 06 géotypes ont présenté différents niveaux de résistance.

La souche de Fop utilisée ont induit un ensemble de symptômes externes incluant l'enroulement des feuilles, le flétrissement, le jaunissement, les nécroses puis la mort de la plante. Les symptômes de la fusariose vasculaire manifestés sous serre sont similaires à ceux rapportés en plein champ (Trapero-Casas et Jimenez- Diaz, 1985 ; Haware, 1990). Il s'agit soit d'un flétrissement précoce entraînant la mort de la plante avant le stade de la floraison, tel qu'il a été décrit initialement par Padwick (1940), soit d'un jaunissement progressif accompagné d'un brunissement vasculaire et qui correspond au flétrissement tardif décrit par Nene et Reddy (1987). L'association de ces symptômes a été signalée chez des géotypes sensibles du pois en réponse aux quatre races de Fop. Cependant, la race 2 induit un syndrome proche de la fusariose qui se produit plus tard dans la période de végétation, souvent à la floraison et apparaît seulement sur quelques plantes sauf en cas de fortes infestations (Kraft *et al.*, 1998 ; Kraft et Pflieger, 2001). Ces symptômes peuvent être le résultat d'un déficit hydrique dû à l'occlusion des vaisseaux (MacHardy et Beckman, 1983) ou de la combinaison des activités du pathogène, telles que la condensation du mycélium dans les cellules du xylème et/ou la production de toxines (Charchar et Kraft, 1989).

En parallèle aux symptômes externes, l'infection du pois par Fop est généralement associée avec une décoloration des tissus vasculaires qui deviennent rouge-orange ou noirs. Chez les plantes sensibles, cette décoloration vasculaire progresse de la racine vers la tige et elle est généralement plus intense en réponse à la race 2 du champignon (Kraft *et al.*,

1998 ; Kraft et Pflieger, 2001). En accord avec ces observations, le tissu vasculaire de quelle que nos génotypes inoculés par la souche R2F42 a viré vers une couleur rouge foncé et ces génotypes présente les génotypes sensible. Par contre, cette décoloration a été absente chez les génotypes résistants.

La plupart des travaux sur le comportement du pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire considère le taux d'infection et la sévérité des symptômes en tant que paramètres typiques pour évaluer la résistance des génotypes testés (Michielse et Rep, 2009 ; Bani *et al.*, 2012 ; Irzykowska *et al.*, 2012 ; Mekhaldi, 2016 ; Kara, 2017). Ainsi, nous avons utilisé ces paramètres pour caractériser les 06 génotypes étudiés de *Pisum* spp. Ces paramètres nous ont permis d'identifier trois catégories de réactions : résistance, résistance partielle et susceptibilité.

Selon les valeurs du taux d'infection, et en interaction avec la souche R2F42, 3 génotypes sont résistants, 2 génotypes sont partiellement résistants et un seul génotype s'avère sensible.

Restreindre l'évaluation de la maladie à une seule valeur de taux d'infection semble limiter et ne reflète pas les détails de la fusariose vasculaire du pois. Pour cela, nous avons calculé l'AUDPC car ce paramètre évalue la progression de la maladie dans le temps, à travers les différents stades phénologiques de la plante (Teng et James, 2002).

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie utilisées dans ce travail nous ont permis de caractériser les génotypes résistants des autres susceptibles ou partiellement résistants. La résistance ou la susceptibilité d'un génotype donné a été classée par rapport aux types de génotypes. On prend le cas du génotype 952 qui a enregistré une valeur d'AUDPC de 1836,5873, alors que le génotype 1160 a enregistré une valeur de 0,00 avec le même souche R2F42.

Les 06 génotypes du pois sujets de notre étude n'ont pas eu la même réponse suite à leur inoculation avec la souche R2F42 de Fop. Cette variabilité

de réponses envers les différentes souches du même pathogène peut être la conséquence d'une spécificité du biotype pathogène vis-à-vis des différents cultivars de la même espèce hôte. Les relations entre l'agent pathogènes et leurs hôtes végétaux sont déterminées au niveau d'entités génétiques, représentées d'une part par les biotypes (pathotypes ou races) des parasites et d'autre part par les cultivars des plantes. Les 06 génotypes du pois étudiés dans notre travail ont présenté des niveaux variables de résistance envers la souche R2F42 de Fop, en déterminant une résistance autre que verticale. L'étude menée par Bani *et al.*, (2012), a révélé une variabilité des réponses de 73 génotypes de *Pisum* spp. face à la souche R2F42 de Fop, qui ont varié entre résistance et susceptibilité, avec des génotypes à résistance partielle. De telle variabilité de réponses suggère que la résistance de la collection étudiée de *Pisum* spp. à cette souche de Fop

est de nature quantitative. Comme résultats de cette étude, des nouvelles sources de résistance ont été identifiées et confirmées et qui peuvent être utile dans des programmes d'amélioration.

La deuxième partie du travail a été consacrée pour la détermination de l'ampleur de la colonisation du champignon au niveau des différentes parties des génotypes inoculée par R2F42, le ré-isolément de *Fop* a révélé un développement d'un réseau mycélien autour des fragments des plantes inoculées.

Chez les génotypes sensibles 952, les colonies de *Fop* se sont développées autour des fragments des différentes parties de la plante (racine, collet et parties inférieure et supérieure de la tige). En outre, chez les génotypes résistants, les colonies de *Fop* se sont développées uniquement autour des fragments des racines et du collet.

Les résultats montrent que la colonisation fongique du système vasculaire est souvent rapide. Cette colonisation facilite souvent la production de microconidies dans les vaisseaux du xylème. En effet, ces microconidies ont été démontrées pour être transportées vers le haut *via* le flux de la sève jusqu'à ce qu'elles atteignent les différentes partie de la plante (Beckman *et al.*, 1961 ; Beckman *et al.*, 1962 ; Bishop et Cooper, 1983).

D'autre part, et pour déterminer de la continuité de la sève chez les génotypes inoculés, nous avons utilisé un colorant traceur (bleu de naphtol). L'observation microscopique des coupes transversale et longitudinales des tiges et racines des différents génotypes inoculés avec la souche R2F42, nous a permis de constater une différence d'intensité de la coloration et de son prolongement dans les tissus végétaux selon le génotype testé.

Le blocage de la circulation normale de la sève chez les génotypes sensibles peut être dû à l'obstruction du système vasculaire et des cellules du xylème (Tessier *et al.*, 1990). Ainsi, la formation de telle obstruction a été supposée pour être la conséquence d'une réaction défensive retardée survenant dans la tige des plantes sensibles (Tessier *et al.*, 1990). De plus, la production de la gomme par la plante par l'action d'une pectinase fongique a également été suggéré pour être l'origine de ces occlusions vasculaires (Pegg, 1985 ; Beckman, 1987). Les amas mycéliens de *Fop* dans les cellules du xylème sont la cause principale du flétrissement des plantes et de leur mort subséquente suite à un stress hydrique (Pegg, 1985 ; Beckman, 1987 ; Webster et Weber 2007).

Conclusion

La fusariose vasculaire du Pois, causée par *F. oxysporum* f.sp. *pisi* (Fop), est signalée dans tous les pays où le pois est cultivé, et ce depuis déjà des décennies. La maladie est souvent sévère, notamment avec la pratique des rotations courtes avec d'autres cultures, engendrant la conservation du pathogène pour de longues durées. Dans de telles conditions, il en résulte des pertes économiques considérables. Ainsi, les méthodes de lutte classique, particulièrement l'usage des fongicides, ne peuvent être efficaces. En plus, il n'est plus à démontrer les risques liés aux pesticides sur la santé humaine et l'environnement, ajouté à l'opinion publique qui devient catégoriquement hostile aux intrants chimiques en agriculture.

Notre travail avait pour objectif la caractérisation de la résistance/sensibilité d'une collection de six génotypes de pois (*Pisum* spp.) vis-à-vis de la souche R2F42 de Fop, dans des conditions semi contrôlés (sous serre). Les inoculations artificielles ont induit des symptômes typiques de la fusariose vasculaire sur les plants traités (jaunissement, enroulement et dessèchement des feuilles, ainsi que le flétrissement), avec une décoloration du tissu vasculaire et parenchymateux des racines et du collet enregistrée chez la plupart des génotypes inoculés par cette souche.

Le taux d'infection le plus élevé a été enregistré chez le génotype 952 (95,13%), tandis que les valeurs les plus faibles (inférieures à 30%) ont été enregistrées chez le génotype 1160.

Quant à l'AUDPC, qui intègre l'intensité des symptômes et leur progression dans le temps, sa valeur la plus importante (1836,59) a été enregistrée avec le génotype 952 qui est le plus sensible. Les autres génotypes étudiés ont enregistré des valeurs variant de 720 (génotype 3029) à plus de 1066 (génotype 3068). Les génotypes P648, 1160 et 2633 apparaissent comme les plus résistants en enregistrant des valeurs, successivement, de 169,19 pour le premier et nulle pour les deux autres.

La détection de la présence de Fop dans les tissus des plantes inoculées a révélé l'apparition des colonies de Fop autour des sections des différentes parties

de la plantes (racine, collet, tige inferieure et tige supérieure) chez le génotype sensible 952, tandis que chez les génotypes 1160, 2633, P648, 3029 et 3068, l'apparition a été détectée uniquement autour des sections des racines et des collets.

Pour le traçage de la continuité de la sève, l'utilisation du bleu de naphthol nous a permis de déduire une circulation normale de la sève chez les génotypes résistants par rapport au témoin, alors qu'un blocage a été noté chez le génotype sensible 952.

Les génotypes ayant montré un niveau important de résistance peuvent être intégrés dans des programmes de développement et d'amélioration, pour mieux les exploiter comme sources de résistance. Cependant, ça sera avantageux de poursuivre les études sur ces génotypes pour caractériser les mécanismes responsables de leur résistance (ou tolérance) face à ce pathogène afin de favoriser les mécanismes les plus durables. Comme il est souhaitable d'expérimenter leur comportement vis-à-vis d'autres maladies et stress abiotiques, pour une exploitation durable et intégrée.

Références bibliographiques

- Agrios G.N., 2005. Plant pathology 5th ed. Academic Press, San Diego. 922 PP.
- Alabouvette C. et Davet P., 1985. Perspectives de lutte biologique et intégrée contre les maladies d'origine tellurique en culture protégée. *Défense des végétaux*, 243: 27-32.
- Alabouvette C., Olivain C., Migheli Q. and Steinberg C., 2009. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum* (Review) *New Phytologist* 184 : 529–544.
- Alabouvette C., 1986. *Fusarium*-wilt suppressive soils from the chateaufort region : Review of 10 years. *Agronomie*. 6(3) : 237-284.
- Ali S.M., Sharma B., Ambrose M.J., 1994. Current status and future strategy in breeding pea to improve resistance to biotic and abiotic stresses. *Euphytica* 73, 115–26.
- Appel D. et Gordon, T.R., 1996. Relationships among pathogenic and non pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum* based on the partial sequence of the intergenic spacer region of the ribosomal DNA. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 9: 125-138.
- Armstrong G.M. et Armstrong J.K. ,1981b. *Formae speciales* and races of *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. In *Fusarium : Diseases, Biology and Taxonomy* (P.E. Nelson, T.A. Toussoun & R.J. Cook, eds): 391-399, The Pennsylvania State University Press, University Park.
- Armstrong G. M. et Armstrong J. K., 1981 a. Another approach to race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisii* *Phytopathology* 71 : 74-78.
- Armstrong G.M. et Armstrong J.K. ,1974. Races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisii*; causal agents of wilt of peas. *Phytopathology* 64, 849-857.
- Baayen R.P. et Elgersma D.M., 1985. Colonization and histopathology of susceptible and resistant carnation cultivars infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Neth J Plant Pathol* 91, 119-135

- Bani M. (2015). Multidisciplinary approaches including histological, biochemical and molecular tools to study the resistance mechanisms to fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* in pea (*Pisum sativum*). PhD thesis. Department of genetics. University of Cordoba. Spain. 187p.
- Bani M. , Rubiales D. and Rispaïl N., 2012. A detailed evaluation method to identify sources of quantitative resistance to *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi race 2 within a *Pisum* spp. germplasm collection. *Plant Pathology* 61, p. 532–542
- Baugus A., 2000. Maryland pea profile, University of Maryland Cooperative Extension Bulletin 236:26p.
- Beckman CH. et Talboys PW., 1981. Anatomy of resistance. In : *Fungal Wilt Diseases of Plants* (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds) Academic Press, New York, USA, 487-521.
- Bell AA. et Mace ME., 1981. Biochemistry and physiology of resistance. In: *Fungal Wilt Diseases of Plants* (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds), Academic Press, New York, USA, 431-486.
- Benhamou N., Kloepper J.W., Quadt-Hallman, A. and Tuzun, S., 1996. Induction of Defense-Related Ultrastructural Modifications in Pea Root Tissues Inoculated with Endophytic Bacteria. *Plant Physiol.* 112(3):919-929.
- Benoît M., Deffontaines J.-P., Lardon S. 2006. Acteurs et territoires locaux. Vers une géoagronomie de l'aménagement. Collection Savoir-Faire, Inra.
- Bishop CD. et Cooper RM, 1983 a. An ultrastructural study of root invasion in 3 vascular wilt diseases. *Physiological Plant Pathology* 22, 15–27.
- Bishop CD. et Cooper RM., 1983 b. An ultrastructural study of vascular colonization in 3 vascular wilt diseases. 1. Colonization of susceptible cultivars. *Physiological Plant Pathology* 23, 323–43.
- Booth C., 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycol. Inst. Kew, Surrey, 237p. Bosland P. W. et Williams. P. H., 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographic origin. *Can. J. Bot.* 65: 2067-2073.

- Bouhot D., 1981. Some aspect of the pathogenic potential in formae speciales and races of *Fusarium oxysporum* on cucurbitaceae. In: *Fusarium diseases, biology and taxonomy*; Ch. 29,318-326. Ed.Nelson P.E., Tousson T.A. and cook R.G., The Pennsylvania State University Press.
- Boyeldieu, J., 1991. Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris Lavoisier Tec & Doc.
- Brink M., Belay M.G., 2006. Céréales et légumes secs-ressources végétales de l'Afrique tropicales, fondation porota, wageningen, pays-bas,174p.
- Broughton, W.J. et Dilworth, M.J. 1971. Control of leghemoglobin synthesis in snake beans. *Biochemistry Journal*, 125: 1075-1080.
- Buxton E. W., 1960. Effects of Pea Root Exudate on the Antagonism of Some Rhizosphere Micro-organisms towards *Fusarium oxysporum* f. pisi. *J. gen. Microbiol.* 22,678-689.
- Buxton EW., 1957. Some effects of pea root exudates on physiologic races of *Fusarium oxysporum* fsp.pisi (Lindf) Snyder and Hansen. *Trans Br Mycol Soc* 40,145-154
- Carrouee A et Girad M., 1994. Pois protéagineux. Techniques agricoles, Editions Techniques - Techniques Agricoles. Fascicule 2212.
- Charchar M. et Kraft JM., 1989. Response of near-isogenic pea cultivars to infection by *Fusarium oxysporum* f sp pisi races 1 and 5. *Can J Plant Sci* 69,1335-1346.
- Chaux et Foury 1994. La vie microbienne et la production végétale, Pierre Davet, INRA, Paris P167-225.
- Choudhury, R., P., Tanveer .and Dixit, GP. (2006). Identification and detection of genetic relatedness among important varieties of pea (*Pisum sativum* L.), grown in India. *Genetica*.130: 183-191.
- Correll J.C. ,1991. The relationship between formoe speciales, races and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phvtopathology* 81: 1061-1064
- Cousin R., 1997. Peas (*Pisum sativum* L.). *Field Crops Research*. 53 : 111- 130.

- Coussin, R., 1974. Le pois : Annal de l'amélioration des plantes. INRA, Paris.p.10-117.
- Coussin, F., 1996. Evaluation des apports d'un biotest végétal et de la spéciation des éléments traces à la mise au point d'une batterie de tests d'écotoxicologie terrestre
- Danko SJ. et Corden ME.,1984. Effect of ethanol on the accumulation of antifungal compounds and resistance of tomato to *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 74, 1475-1479.
- Davies, D.R., G.J. Berry, M.C. Heath, and T.C.K. Dawkins. 1985. Pea (*Pisum sativum*L.). p. 147-198. In: R.J. Summerfield and EH Roberts, (eds.), Williams Collins Sons and Co. Ltd, London, UK.
- Di PietroA., Madrid MP., Caracuel Z., Delgado-Jarana J. and Roncero MIG., 2003.*Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus.*Molecular Plant Pathology*4, 315–25.
- Donald J., 1985. Compedium of pea deseases. In cooperation with Departement of plant pathology University of Wisconsin – Madison. APS Press, the American Phytopathologies Society. pp. 55.
- Doyle, J.J. and Luckow, M.A.(2003). The rest of the iceberg. Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. *Plant Physiol* 131: 900-910.
- Duc, J.A., 1981. Hand book of legumes of world economic importance. Plenum Press, New York. p. 199-265..
- Elgersma DM., MacHardy WE., Beckman CH., 1972. Growth and distribution of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* in near-isogenic lines of tomato resistant or susceptible to wilt. *Phytopathology* 62 1232-1237.
- Elias K. S. et Scheider R.W., 1991. Vegetative compatibilty of groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici*. *Phytopathology*, 81 : 159 – 162.
- Fabregne C., 1986. Les principales maladies de la tomate à la Réunion (cultures légumières), P45-50.
- FAO (2017). Légumineuses : des graines nutritives pour un avenir durable.
- FAOSTAT (2017). <http://faostat.fao.org>.

- Frederiks, M., et Dembreber, K., 1991. Efficacité du bromure de méthyle et d'un mélange de bromure de méthyle et de chloropicrine sur le *Fusarium oxysporum* f.sp.
- Gepts, P., Beavis, W.D., Brummer, E.C., Shoemaker, R.C., Stalker, H.T., Weeden, N.F. and al . (2011). Content and distribution of protein , sugar and inositol phosphates during the germination and seedling growth of two cultivars of *Vicia faba*,. *J Food Compost Anal* ,24:391-397.
- Gritton, E.T., 1980. Field Pea. Hybridization of Crop Plants, p. 347-356. In: W.R. Fehr and H.H. Hadley (eds.)5 American Society of Agronomy, Inc., and Crop Science Society of America, Inc., Wisconsin, USA.
- Hagedorn D.J.,1991. Handbook of pea diseases. University of Wisconsin. Madison Cooperative Extension Bulletin A 1167: 35.
- Haglund WA. et Kraft JM. ,1970. *Fusarium oxysporum* f.sp.pisi race 5. *Phytopathology* 60, 1861-1862
- Haglund W.A. (1989). A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi, *Plant Disease*, 73 (6), 457 - 458.
- Haglund WA. et Kraft JM .,1979. *Fusarium oxysporum* f.sp. pisi race 6: Occurrence and distribution.*Phytopathology* 69, 818-820.
- Haglund WA., 1984. *Fusarium* wilts. In: *Compendium of Pea Diseases* (DJ Hagedorn, ed), Am Phytopath Soc, Saint-Paul, MN, USA, 22-24.
- Hare WW., Walker JC. and Delwiche EJ., 1949. Inheritance of a gene for near wilt resistance in the garden pea.*J Agric Res* 78, 239-250.
- Haware M.P. et Nene Y.L .,1982. Races of *Fusarium oxysporum* f.sp. ciceris. *Piwir Disease* 66: 809-810.
- Holwach, L.P. 1982. *Dissertation abstracts international* (42) cornell uni. Uthaca, NY, USA.
- Hopquin B., 1994. Lisses, rides, sucrés colorés : tous les pois sont dans la nature. *Unite Informatique*.86, p. 10-11.
- <https://books.google.dz> 22/05/2019.
- Ildis.(2001). . *Legumes of the world*. International Legume database and Information Services., The University of Reading
- Infantino A., Kharrat M., Riccioni L., Coyne C.J., Kevin E., Phee M.C. and Grunwald N. J. ,2006. Screening techniques and sources of

resistance to root diseases in cool season food legumes. *Euphytica*, 147: 201–221.

- ITGC, 2016. Institut Technique des Grandes Culture
- Kaiser., 1981. Control of *Ascochyta* blight of chickpea through clean seed, ICARDA, Aleppo, Syria: 742-122.
- Kay, D., 1979. Food legumes. Tropical Products Institute (TPI). TPI Crop and Product Digest No. 3. p. 26-47. UK.
- Kraft J.M. et Pflieger F.L., 2001. Compendium of Pea Diseases, 2nd ed., APS Press, St. Paul, MN, USA.
- Kraft JM. et Haglund WA. ,1978. A reappraisal of the race classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. pisi. *Phytopathology* 68, 273-275
- Kraft J. M., 1995. *Fusarium* wilt of peas (a review). *Agronomie*, 14: 561–567.
- Kraft JM. and Pflieger F.L. (2001). Compendium of Pea Diseases, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA, 67p.
- Krawczak, M. 1999. Informativity assessment for biallelic single nucleotide polymorphisms. *Electrophoresis*, 20: 1676-1681.
- Larkom J., 1991. *Oriental vegetables John murray*. ISBN.0-7195-4781-4 Well written and very informative.
- Larue,T.A and Pattesson,TG., 1981. Howmuch Nitrogen do legume fix, *Advan.agr.p.*34-15-38.
- Lazrek-Ben-Friha, F. (2008). Analyse de la diversité génétique et symbiotique des populations naturelles tunisiennes de *Medicago truncatula* et recherche de QTL liés au stress salin. Thèse de doctorat. Sciences biologiques. Université de Toulouse : 255p.
- Maatougui M .E ., 1996. Situation de la culture des fèves en Algérie et perspective de relance. Numéro spécial Fève, co-éditée par l'Institut Technique des Grandes Cultures et le réseau maghrébin de recherche sur fève, *Céréaliculture* 29 :6-14.
- MADR. 2014. Annuaire statistique du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- Makasheva, R.K.H., 1985. *The Pea*. 267p. Oxonian Press Pvt. Ltd., New Delhi, India.

- McPhee K.E. et Muehlbauer F.J., 2007. Pea. In Pulses, Sugar and Tuber Crops. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants; Kole, C., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Germany, 2007; chapter 2, volume 3, pp. 33–47.
- McPhee K.E., Tullu A., Kraft J.M. and Muehlbauer F.J. (1999). Resistance to fusarium wilt race 2 in the Pisum core collection. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 124: 28-31.
- McPhee, K. (2003). Dry pea production and breeding, a mini-review. Food Agric.
- Merzoug A., Benfreha F. and Taleb M., 2009. Les principales maladies fongiques du Petit Pois (*Pisum sativum*) et Pois chiche (*Cicer arietinum*) dans le nord-ouest Algérien. Colloque international sur la gestion des risques phytosanitaires 9-11 Novembre 2009, Marrakech, Maroc. In proceedings V1 :115-123.
- Messaïen C.M., Blanchard D., Rouxel F., Lafon R., 1991. Les maladies des plantes maraîchères, INRA éditions, 3e édition, (ISBN 2-7380-0286-2) p. 291-305.
- Messaïen C.M. et Cassini R. ,1968. Recherches sur les fusarioses, IV : la systématique des Fusarium. ann. Épiphyties. P19 :387-454
- Momma N., Momma M., Kobara Y., 2010. Biological soil disinfection using ethanol: effect on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and soil microorganisms. Journal of General Plant Pathology 76, 336–44.
- Mossé J., Huet J.C., Baudet J., 1987. Changements de la composition en acides aminés des graines de pois en fonction de leur taux d'azote. Sci. Aliments, 7:p301-324.
- Navas-Cortes JA., Hau B., Jimenez-Diaz RM., 1998. Effect of sowing date, host cultivar, and race of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* on development of fusarium wilt of chickpea. Phytopathology 88, 1338–46.
- Nelson P. E., Toussoun T.A. and Marasas W. F. O., 1983. *Fusarium species: An illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University press, University Park. 193 pp.

- Nelson P. E., 1981. Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Fungal wilt diseases of plants. (M.E. Mace, A.A. Bell and C.H. Beckman, editors), Academic Press, New York, 51-80.
- Neumann S., Xue A.G., 2002. Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f.sp. pisi. Canadian Journal of Plant Sciences, 83:377–379.
- OEPP/EPPO, 1994. Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes, Norme OEPP PP 2/1(1) Directive sur la bonne pratique phytosanitaire : Principe de bonne pratique phytosanitaire, pois. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 24 :233-244.
- Prat, R., Mosiniak, M et Vornax, V., 2005. Les fruits. Biologie Multimedia- université Pierre Curie- UFR de biologie.
- Rana U., Sharma A., Paul, YS, and Sharma K.V., 2009. Survey for Pea Diseases and Identification of Fungi Associated with Wilt and Root Rot Complex in Himachal Pradesh, J Mycol PI Pathol, Vol. 39, No.3, 416-421p.
- Rodriguez Galvez E, Mendgen K.,1995. The infection process of *Fusarium oxysporum* in cotton root tips. Protoplasma 189,61–72.
- Roger ,1953 .Phytopathologie des pays chauds. 2ème édition, Paul Le chevalier, P1170-2252.
- Rouxel F. , Alabouvette C. et Louvet J., 1979. Recherche sur la résistance d'un sol aux maladies. IV- mis en évidence du rôle des *Fusarium* autochtones dans la résistance d'un sol à la fusariose vasculaire du melon. Ann phytopathol 11, 199-207.
- Saaidi, M., et Rodet J., 1974. Lutte contre le Bayoud : II. Efficacité de deux fongicides sur *Fusarium oxysporum* f.sp. albedinis agent du Bayoud in vitro.
- Sharma A., Rathour R. and Plaha Pet., 2010. Induction of fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. pisi) resistance in garden pea using induced mutagenesis and in vitro selection techniques. Euphytica 173, 345–56.
- Shilpi et Narendra, 2005 : cold salinity and drought stress.

- SHILPI M. et NARENDRA., 2005 - Cold, Salinity and Drought Stresses An Overview,” Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 444, No. 2, , pp. 139-158.
- Skiredji A., 2002. La patate, le navet, le chou, le petit pois, le haricot, filet, fiche technique, institut agronomique et vétérinaire, HASAN 2.Agadir.
- Slinkard, A., Hernandez-Bravo, A.E., Bascur, G., 1994. Biotic and abiotic stresses of cool season food legumes in the western hemisphere,p. 195-203. In: F.J. Muehlbauer and W.J. Kaiser (eds.), Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, the Netherlands.
- Smart, J. 1990. Grain Legumes: Evolution and genetic resources. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 200 p.
- Stromberg EL. et Corden ME., 1980. Scanning electron microscopy of Fusarium oxysporum f sp lycopersici in xylem vessels of wilt - resistant and susceptible tomato plants. Can J Bot 58, 2360-2366
- Tacques, Lanore. 1985. Tables de composition des aliments, Institut scientifique d'hygiène alimentaire.
- Taupin.P ,Turpaud L,Chaillet I,Mathon M P,et Painparay G., 1994 .Première enquête viroses du pois .Perspective agricole 189 .INRA.France 40-42P.
- Vanachter, A., 1991. Désinfection des sols à l'aide des fumigants : cas du Bayoud. Bulletin du Réseau Maghrébin de Recherche, 1 : 14-20.
- Varela, J. Sanchez- Monge, R. Lopez- Torrejon, G. Pascual, C.Y. Martin, Esteban, M. et Salcdo, G. 2004. Vicilin and convicilin are potentiel major allergens from pea, Unidad Bioquímica, Departamento biotecnología, ETS Ingenieros Agronomos, Madrid, and Clin Exp Allergy. Résumé dans NCBI (National center for Biotechnology Information) consulté le 20 October 2008.
- Walker J.C. ,1971. Fusarium wilt of tomato. Monograph 6, American phytopathology Society, Minneapolis, 56 pp.
- Watanabe T., 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 2nd ed. Lewis Publishers, CRC PRESS. Florida: 270 – 276.

- Whalley WM. et Taylor GS. ,1976. Germination of chlamydospores of physiologic races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* in soil adjacent to susceptible and resistant pea cultivars. *Trans Br Mycol Soc* 66, 7-13.
- [www. Terresunivia.fr](http://www.Terresunivia.fr) 12/06/2019.
- Xue A. G., Platford R. G., Warkentin T. D., Kenaschuk E.O., Wolfe I. D. and Tuey, H. J., 1996. Diseases of field pea in Manitoba in 1995. *Can. Plant Dis. Surv.* 76: 118–119.
- Zohary,D and M. Hophf ., 2002. Domestication of plants in the old world: the origin and spread of cultivated plants in west Asia, Europe and the Nile Valley. Third Edition Oxford University Press Inc .New York.

Annexes

Annexe 1

Milieus de culture utilisés

Milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*)

Pomme de terre	200 g
Dextrose	20 g
Agar	15 g
Eau distillée stérile	1 000 ml

Le milieu est par la suite autoclavé pendant 20 min à 120° C.

Milieu PDB (*Potato Dextrose Broth*)

Pomme de terre	200 g
Dextrose	20 g
Eau distillée stérile	1 000 ml

Le milieu est par la suite autoclavé pendant 20 min à 120° C.

Annexes

Annexe 2

Valeurs des taux d'infection de tous les génotypes en interaction avec la souche R2F42 de *Fop*.

Génotypes	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
G 3029	0	48,666	78,666	100	100	100	100	100	100	100
G 1160	0	50,952	64,952	67,809	71,142	90,476	96,6666	96,6666	100	100
G 2633	0	26,904	60,476	81,904	86,309	88,809	97,1428	97,1428	97,1428	97,1428
G P648	0	40,619	59,904	86,285	95,142	97,142	100	100	100	100
G 952	0	14,444	26,944	76,666	88,333	95,555	100	100	100	100
G 3068	0	20	33,333	53,333	70	83,333	93,3333	93,3333	93,3333	93,3333

j : jours après inoculation.

Annexe 3

Valeurs des taux d'infection de tous les génotypes (témoins).

Génotypes	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
G 3029	0	25,428	25,428	23,523	23,523	38,5	40,888	40,8888	39,7142	39,7142
G 1160	0	48,214	55,357	67,857	67,857	67,857	71,4285	71,4285	71,4285	71,4285
G 2633	0	3,3333	30	40	46,666	50	53,3333	53,3333	60	60
G P648	0	20,833	20,357	23,690	26,944	44,166	56,6666	56,6666	62,2222	62,2222
G 952	0	0	4,1666	3,5714	3,5714	3,125	2,77777	2,77777	4,86111	4,86111
G 3068	0	0	3,3333	3,3333	3,3333	17,777	26	26	30,9393	30,9393

j : jours après inoculation.

Annexes

Annexe 4

Valeurs effectives des taux d'infection de tous les génotypes en interaction avec la souche R2F42 de *Fop*.

Génotypes	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j
G 3029	0	23,232	53,238	76,476	76,476	61,5	59,111	59,1111	60,2857	60,2857
G 1160	0	2,7380	9,5952	0,0476	3,2857	22,619	25,238	25,2380	28,5714	28,5714
G 2633	0	23,571	30,476	41,904	39,642	38,809	43,809	43,8095	37,1428	37,1428
G P648	0	19,785	39,547	62,595	68,198	52,976	43,333	43,3333	37,7777	37,7777
G 952	0	14,444	22,777	73,095	84,761	92,430	97,222	97,2222	95,1388	95,1388
G 3068	0	20	30	50	66,666	65,555	67,333	67,3333	62,3939	62,3939

j : jours après inoculation.

Annexe 5

Valeurs d'AUDPC en fonction des taux d'infection de tous génotypes en interaction avec la souche R2F42 de *Fop*.

Génotype	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j	AUDPC
G 3029	0	23,238	53,238	76,476	76,476	61,5	59,1111	59,1111	60,2857	60,2857	1616,833
G 1160	0	2,7380	9,5952	0,0476	3,2857	22,619	25,2380	25,2380	28,5714	28,5714	415,4166
G 2633	0	23,571	30,476	41,904	39,642	38,809	43,8095	43,8095	37,1428	37,1428	1025,952
G P648	0	19,785	39,547	62,595	68,198	52,976	43,3333	43,3333	37,7777	37,7777	1248,297
G 952	0	14,444	22,777	73,095	84,761	92,430	97,2222	97,2222	95,1388	95,1388	1926,765
G 3068	0	20	30	50	66,666	65,555	67,3333	67,3333	62,3939	62,3939	1451,439

j : jours après inoculation.

Annexe 6

Valeurs d'AUDPC en fonction des taux d'infection de tous génotypes (témoins).

Génotype	0j	7j	10j	13j	16j	19j	22j	25j	28j	31j	AUDPC
G 3029	0	25,428	25,428	23,523	23,523	38,5	40,8888	40,8888	39,7142	39,7142	896,8333
G 1160	0	48,214	55,357	67,857	67,857	67,857	71,4285	71,4285	71,4285	71,4285	1806,25
G 2633	0	3,3333	30	40	46,666	50	53,3333	53,3333	60	60	1161,666
G P648	0	20,833	20,357	23,690	26,944	44,166	56,6666	56,6666	62,2222	62,2222	1079,107
G 952	0	0	4,1666	3,5714	3,5714	3,125	2,77777	2,77777	4,86111	4,86111	90,17857
G 3068	0	0	3,3333	3,3333	3,3333	17,777	26	26	30,9393	30,9393	385,2272

j : jours après inoculation.