

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE DE BLIDA 1

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES BIOTECHNOLOGIES**

Thème

**Etude des comportements de génotypes de petit pois améliorés
vis-à-vis de la fusariose vasculaire**

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

Option : Biologie des Interactions Plantes-Microorganismes

Présenté par

KESSOUM Fatima Zohra

Soutenu devant le jury :

BENSAID F.	M.A.A.	U.S.D.B	Présidente
BENOUSSAID N.	M.A.A.	U.S.D.B	Examinatrice
TOUDJI F.	Doctorante	U.S.D.B	Examinatrice
BENCHABANE M.	Professeur	U.S.D.B	Promoteur
MEKHALDI D.	Post-graduant	U.S.D.B	Co-promotrice

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014/2015

Etude du comportement de génotypes de petit pois améliorés vis-à-vis de la fusariose vasculaire

Résumé

Notre travail porte sur l'étude du comportement de 15 génotypes de pois (*Pisum* spp.) vis-à-vis de deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, agent causal de la fusariose vasculaire du pois. L'expérimentation a été menée dans des conditions semi-contrôlées (sous serre). Les 15 génotypes ont été inoculés selon la méthode d'immersion des racines dans des suspensions de spores de deux races virulentes de ce pathogène. Le taux d'infection, le VIS (*Visual Index of Severity*) et l'AUDPC (*Area Under Disease Progress Curve*), sont les paramètres utilisés pour évaluer le développement et la progression de la maladie. Les réponses des 15 génotypes ont été différentielles selon les souches de *Fop* utilisées. Suivant les valeurs du taux d'infection et de VIS, nous avons pu constater que le génotype le plus résistant est Radley en interaction avec les deux souches de *Fop*, suivi par le génotype P665. Les génotypes Messire, P21 et P634 semblent être les plus susceptibles, surtout en interaction avec la souche R2F42. Les 10 autres génotypes ont montré des comportements variant entre résistance, résistance partielle ou susceptibilité.

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

Study of the behavior of improved pea genotypes toward the fusarium wilt

Abstract

Our work aims to studying the behavior of 15 pea genotypes (*Pisum* spp.) toward two strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, causal agent of fusarium wilt of pea. The experimentation was carried out under semi-controlled conditions (under greenhouse). The 15 genotypes were inoculated according to the method of immersion of the roots in suspensions of spores of two virulent races of this pathogen. The rate of infection, the VIS (Visual Index of Severity) and the AUDPC (Area Under the Disease Progress Curve), are the parameters used to evaluate the development and the progression of the disease. The responses of the 15 genotypes were differential according to the strain of *Fop* used. According to the values of the rate of infection and VIS, we could note that the most resistant genotype is Radley in interaction with the two strains of *Fop*, followed by the genotype P665. The genotypes Messire, P21 and P634 seem to be the most susceptible, especially in interaction with the strain R2F42. The 10 other genotypes showed behaviors varying between resistance, partial resistance or susceptibility.

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

دراسة سلوكيات أنماط وراثية محسنة للباذلاء تجاه الذبول الفوزاري

ملخص

يهدف عملنا إلى دراسة سلوك 15 نمط وراثي للباذلاء (*Pisum spp.*) تجاه سلالتين لـ *Fusarium oxysporum f.sp. pisi* العامل المسبب للذبول الفوزاري للباذلاء. أجريت التجربة في بيت بلاستيكي. طعمت الأنماط الوراثية الـ 15 حسب طريقة غمس الجذور في المعلق الفطري لسلالتين ممرضتين. نسبة الإصابة، *AUDPC (Area Under the Disease)* و *VIS (Visual Index of Severity)*، *Progress Curve* هم المقاييس المستعملة لتقييم تطور و تقدم المرض. إستجابات الـ 15 نمط وراثي كانت متباينة حسب سلالة *Fop* المستعملة. وفقا لقيم نسبة الإصابة و *VIS*، استطعنا أن نستنتج أن النمط الوراثي الأكثر مقاومة هو Radley بالتفاعل مع كلتا سلالتي *Fop*، متبوعا بالنمط الوراثي P665. الأنماط الوراثية Messire، P21 و P634 ظهرت الأكثر حساسية، خاصة بالتفاعل مع السلالة R2F42. أظهرت الـ 10 أنماط الوراثية الأخرى سلوكيات متباينة بين مقاومة، مقاومة جزئية و حساسة.

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

تحسين.

REMERCIEMENTS

Je dois, en premier lieu, remercier humblement ALLAH le tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la volonté pour bien mener ce travail.

Au terme de ce travail, J'adresse ma gratitude et je remercie énormément Pr. BENCHABANE M. qui a dirigé ce travail, ça ne sera pas suffisant pour lui exprimer toute ma reconnaissance pour la confiance, la disponibilité et la générosité qu'il m'a accordé pour faire avancer ce travail.

Un merci très particulier à Melle. MEKHALDI Delel, ma co-promotrice, qui a toujours été présente avec moi, et qui a suivi mon travail du début jusqu'à la fin. Merci Delel pour ta modestie, tes précieux conseils et surtout pour ton aide, merci parce que j'ai beaucoup appris avec toi.

Je tiens à remercier Mme. BENSAID F de m'avoir honoré en acceptant d'être présidente de jury. J'exprime mes vifs remerciements à Mme BENOUSSAID N. et Mme TOUDJI F. de m'avoir accordé leurs temps pour examiner et enrichir ce travail.

Mes remerciements vont également au personnel du laboratoire de Mycologie, en particulier à FADIL Djamilia, ingénieur du laboratoire, pour sa disponibilité, ses encouragements durant toute l'expérimentation et surtout pour son soutien moral.

J'exprime également mes remerciements à Mr. BANI M. qui m'a fourni les documents bibliographiques ainsi que pleins d'autres informations en relation avec mon thème de fin d'étude.

Mes remerciements s'adressent en particulier à mon grand frère Mustapha, qui m'a soutenu, encouragé, et aidé tout au long de mes années d'étude (Merci pour tout Mus, et surtout pour le PC).

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proches et amis, qui m'ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.

Fatima Zohra

DEDICACES

Je Dédie ce modeste travail à :

Ma Grand-Mère

Mon Grand-Père

A ma très chère Maman : merci pour ton amour, ton inquiet, tes encouragements et ton soutien durant toute ma vie, je t'aime énormément mamam.

A mon cher Papa, c'est grâce à toi que je suis devenu ce que je suis, merci Papa et je t'aime également.

A mes chers frères : Hamza, Bilel, Ayoub et Mustapha, et à mes très chères sœurs, surtout à ma petite Aya.

Merci d'avoir partagé avec moi les plus beaux moments de ma vie, je vous aime tous.

A mes deux beaux-frères : Sid-Ali et Mohamed.

A toute la famille Kessoum et Fellahi.

A mes très chères copines, avec qui j'ai passé de très beaux moments de ma vie : Nihed, Meriem, Linda, Rachida, Samira, Hanan, Loubna et Asma.

A mes chers collègues avec qui j'ai partagé le bon et le mauvais durant toute l'année : Hadjer, Aicha, Kawthar et Zehra.

A tous mes amis de spécialité Biologie des Interactions Plantes microorganismes de la promomotion 2014-2015.

Fatima Zohra

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

Partie I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. GENERALITES SUR LA CULTURE DU PETIT POIS	3
1.1. Historique et origine de <i>Pisum</i> spp.....	3
1.2. Taxonomie	4
1.3. Description botanique	4
1.4. Ecologie et croissance	6
1.5. Principaux types de cultures et intérêt agro-alimentaire.....	6
1.6. Importance	7
1.7. Sélection et amélioration.....	8
1.8. Facteurs limitant la production	10
1.8.1. Les stress abiotiques	10
1.8.2. Les stress biotiques	11
1.8.2.1. Les parasites	11
1.8.2.2. Les maladies bactériennes et virales	11
1.8.2.3. Les maladies fongiques	12
2. LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU PETIT POIS.....	13
2.1. Historique de la maladie.....	13
2.2. Agent causal	14
2.2.1. Généralités sur <i>Fusarium oxysporum</i>	14
2.2.2. Caractéristiques morphologiques.....	15
2.2.3. Taxonomie	16
2.2.4. Mécanismes parasitaires	17
2.2.4.1. Les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire	17

2.2.4.2. Production de toxines.....	17
2.3. Processus d'infection.	18
2.4. Epidémiologie	19
2.5. Symptômes	20
2.6. Contrôle de la maladie	21
2.6.1. Lutte culturale.	21
2.6.2. Lutte chimique	21
2.6.3. Lutte biologique	22
2.6.4. Lutte génétique	22

PARTIE II. MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL BIOLOGIQUE	23
1.1. Génotypes de petit pois	23
1.2. Souches de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lisi</i>	24
2. INTERACTION GENOTYPES-SOUCHES PATHOGENES	24
2.1. Préparation de l'inoculum.....	24
2.2. Pré-germination des graines	25
2.3. Inoculation.....	26
3. DISPOSITIF EXPERIMENTAL.....	27
4. PARAMETRES ETUDIES	27
4.1. Taux de germination	27
4.2. Evaluation de la maladie	28
4.2.1. Symptômes externes	28
4.2.1.1. Description des symptômes.....	28
4.2.1.2. Taux d'infection.....	28
4.2.1.3. Sévérité de la maladie (VIS)	28
4.2.1.4. Courbe des aires de propagation de la maladie (AUDPC)	30
4.2.2. Symptômes internes	30

PARTIE III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. TAUX DE GERMINATION	31
2. EVALUATION DE LA MALADIE.....	31
2.1. Description symptomatologique	31
2.1.1. Symptômes externes	31
2.1.1.1. Partie aérienne	31
2.1.1.2. Partie racinaire.....	33
2.1.2. Symptômes internes	34
2.2. Taux d'infection	35
2.3. Indice visuel de la sévérité (VIS)	37
2.4. AUDPC	38
3. DISCUSSION GENERALE.....	40

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

LISTE DES ABREVEATIONS

AUDPC	<i>Area Under the Disease Progress Curve</i>
cm	Centimètre
CWDEs	<i>Cell Wall Degrading Enzymes</i>
f. sp.	Forme spéciale
FAO	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
Fop	<i>Fusarium oxysporum f.sp. pisi</i>
G	Grossissement
m	Mètre
Mb	Million paire de base
min	Minute
ml	Millilitre
rpm	Rotation par minute
ssp.	Sous espèce
VIS	<i>Visual Index of Severity</i>
°C	Degré Celsius

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Tableau 1. Géotypes de petit pois utilisés	23
Tableau 2. Les différents traitements du dispositif expérimental	27
Figure 1. Structure d'une plante du pois	5
Figure 2. Différents types morphologiques de feuilles du pois	5
Figure 3. Caractéristiques morphologiques de <i>Fusarium oxysporum</i>	16
Figure 4. Cycle infectieux de <i>Fusarium oxysporum</i>	18
Figure 5. Symptômes de la fusariose vasculaire de petit pois	20
Figure 6. Cultures des deux souches utilisées de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisii</i>	24
Figure 7. Graines germées de pois	25
Figure 8. Transfert des graines germées dans la perlite stérile	26
Figure 9. Procédure d'inoculation des plantes	26
Figure 10. Echelle de l'évaluation des symptômes de la fusariose vasculaire	29
Figure 11. Taux de germination des 15 géotypes étudiés	31
Figure 12. Symptômes de la fusariose vasculaire dus aux deux souches de <i>Fop</i> (R1 et R2F42) sur quelques géotypes étudiés 30 jours après l'inoculation.	32
Figure 13. Aspect des racines de quelques géotypes étudiés 30 jours après l'inoculation avec les deux souches de <i>Fop</i> (R1 et R2F42)	34
Figure 14. Symptômes internes dus aux deux souches de <i>Fop</i> (R1 et R2F42) 30 jours après l'inoculation (G : x8).	35
Figure 15. Taux d'infection des 15 géotypes étudiés 30 jours après l'inoculation avec les deux souches de <i>Fop</i> (R1 et R2F42)	36
Figure 16. Progression de la maladie chez quelques géotypes étudiés	37

Figure 17. Valeur VIS des 15 géotypes étudiés 30 jours après l'inoculation avec les deux souches de <i>Fop</i> (R1 et R2F42)	37
Figure 18. Valeur AUDPC des 15 géotypes étudiés inoculés avec les deux souches de <i>Fop</i> (R1 et R2F42)	39

INTRODUCTION

Les légumineuses alimentaires sont considérées parmi les cultures importantes dans le monde et dans la plupart des pays du bassin méditerranéen. Elles offrent un apport en protéines végétales pour l'alimentation humaine et animale et constituent un excellent précédent cultural dans les systèmes de production céréalière.

Le pois (*Pisum sativum* L.) couramment appelés «petits pois», est considéré comme la deuxième légumineuse la plus cultivées dans le monde (FAOSTAT, 2013). Ceci est principalement attribué à sa consommation alimentaire croissante, en plus de son adaptation à la fois aux régions chaudes de la Méditerranée et aux régions tempérées. Cette plante est considérée parmi les plus anciennes cultures domestiquées dans le monde (Zohary et Hopf, 2000). Bien qu'elle se pratique comme une culture homogène (Weiss et Zohary, 2011), néanmoins une certaine hétérogénéité a été signalée chez certaines variétés traditionnelles et chez des cultivars et des génotypes anciens (Smýkal *et al.*, 2008a).

Selon les statistiques de la FAO de l'an 2013, le rendement moyen du pois était estimé à 1, 72 tonnes/ha. Les principaux pays producteurs sont le Canada (35%), la Russie (12%), et la Chine (13%). En Algérie, la culture du pois frais s'étendait sur 32 641 hectares, avec une production de 127 680 tonnes (FAOSTAT, 2011).

Les rendements de la culture du pois sont généralement réduits par les contraintes biotiques et abiotiques, parmi lesquelles les maladies fongiques constituent un problème important affectant la production et la croissance de cette culture (Rubiales *et al.*, 2012).

La fusariose vasculaire, causée par *F. oxysporum* f. sp. *pisi*, est l'une des maladies importantes du pois, qui a été rapportée dans tous les pays où le pois est cultivé (Kraft et Pflieger, 2001). Ce pathogène tellurique peut survivre sous

forme de chlamydospores à parois épaisses, conservant sa viabilité dans le sol, pendant plus de 10 ans (Kraft, 1994). Cette trachéomyose cause un ensemble de symptômes incluant l'éclaircissement des nervures, l'enroulement des feuilles, le flétrissement, le jaunissement, les nécroses puis la mort de la plante (MacHardy et Beckman, 1983).

Le contrôle chimique de *F. oxysporum* s'avère inefficace, ainsi la lutte se fonde sur la gestion intégrée de différentes méthodes et moyens. Parmi ces méthodes, l'utilisation de cultivars résistants reste parmi les procédures, privilégiées pour faire face à cette trachéomyose (Ciancio et Mukerji, 2008).

Devant cette situation, et dans le but d'améliorer la résistance de cette culture aux maladies, des expérimentations et travaux scientifiques recommandent l'adoption des systèmes de productions optimisés, selon les besoins et les exigences de la culture (Ambrose, 2008). En plus, des travaux scientifiques, de sélection et d'amélioration, ont montré les possibilités d'exploitation des variations des rendements et du comportement chez plusieurs espèces et de populations dans leur adaptation aux stress biotiques et abiotiques (Redden *et al.*, 2005 ; McPhee, 2007).

Le centre de recherche de Cordoue (IAS, CSIC - Espagne), a lancé depuis plusieurs années des projets de recherche sur le pois dans le monde et particulièrement dans le bassin méditerranéen. Ces travaux concernent l'obtention de nouvelles populations et variétés plus adaptées aux contraintes biotiques et abiotiques. En s'inscrivant dans ce programme, à travers une collaboration avec notre laboratoire, l'objectif de notre travail expérimental est d'étudier le comportement d'une collection de 15 génotypes de *Pisum* spp. vis-à-vis de deux souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi*, agent causal de la fusariose vasculaire du pois. L'expérimentation a été menée sous serre dans des conditions semi-contrôlées.

PARTIE I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. GENERALITES SUR LA CULTURE DU PETIT POIS

1.1. Historique et origine de *Pisum* spp.

Le pois (*Pisum* spp.) est une légumineuse importante à graines de saison fraîche, elle a été largement cultivée comme une source de protéines pour l'alimentation animale et humaine pendant des siècles et a une importance économique dans le monde entier (Zheng *et al.*, 1997).

En commun avec d'autres légumineuses à graines, le pois joue un rôle essentiel dans la rotation des cultures et il peut être utilisé comme fourrage ou engrais vert. En plus de son intérêt alimentaire et de ses variations génétiques et morphologiques observées, le petit pois a été l'un des premiers matériaux de recherche génétiques et physiologiques (Nemecek *et al.*, 2008)

Les pois ont été dénommés par les Grecs « *pisos* », par les Romains « *pisum* », et c'est après leurs apparitions en Angleterre qu'ils se sont appelés « *peason* », et ceci s'est par la suite raccourci au "pois" connu aujourd'hui (Marx, 1977).

Le pois est l'une des récoltes domestiquées les plus anciennes du monde. L'évidence archéologique date l'existence du pois qui remonte à 8000 ans avant Jésus Christ au Proche Orient (Baldev, 1988). En Europe, sa présence date depuis l'Age de Bronze et de Pierre et en Inde depuis 200 avant Jésus Christ (De Candolle, 1882). Domestiqués il y a environ 10 000 ans, les pois et d'autres légumineuses à graines, ont accompagné des céréales et ont formé les composants diététiques importants des anciennes civilisations méditerranéennes et de Moyen-Orient (Zohary et Hopf, 2000).

1.2. Taxonomie

Pisum fait partie de la famille des *Fabaceae*, de la sous-famille des *Papilionaceae* et de la tribu des *Vicieae*. Ce genre comprend trois principales espèces : *P. abyssinicum*, *P. fulvum* et *P. sativum*. Cette dernière est divisée en sous-espèces, telles que *Pisum sativum* ssp. *sativum*, *P.s.* ssp. *elatius*, *P.s.* ssp. *humile*, *P.s.* ssp. *arvense*, *P.s.* ssp. *transcaucasicum* et *P.s.* ssp. *Hortense* (Smartt et Hymowitz, 1985).

Pisum sativum ssp. *arvense* inclut le pois fourrager caractérisé par des fleurs colorées et des graines pigmentées. L'espèce *P. abyssinicum* cultivée en Ethiopie et au Yémen, et présente aussi à l'état sauvage en Ethiopie, pouvait avoir évolué d'une façon indépendante avec des contributions du matériel génétique de *P. fulvum* et de *P.s.* ssp. *elatius*. Tous les taxons de *Pisum* sont diploïdes ($2n=14$) et la majorité sont inter-croisables et peuvent produire des hybrides viables (Redden *et al.*, 2005).

1.3. Description botanique

Le pois est une plante grimpante, herbacée, annuelle et autogame ; son système racinaire est de type pivotant pouvant atteindre une profondeur d'un mètre dans des sols légers, mais il peut se trouver très ramifié, surtout dans la couche superficielle du sol. La tige est peu ramifiée, de longueur variant de 50 cm à 1,5 m, voire jusqu'à deux mètres et 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) (Figure 1).

Les feuilles alternes, sont composées d'une à quatre paires de folioles sessiles, opposées et terminées par une vrille simple ou ramifiée (Figure 2). Elles possèdent à leur base deux grandes stipules arrondies et crénelées à la base, souvent plus grandes que les folioles, et peuvent atteindre 10 cm de long. Certaines variétés ont des stipules allongées caractéristiques. Les deux premières feuilles primordiales sont réduites à des écailles (Geves, 1995).

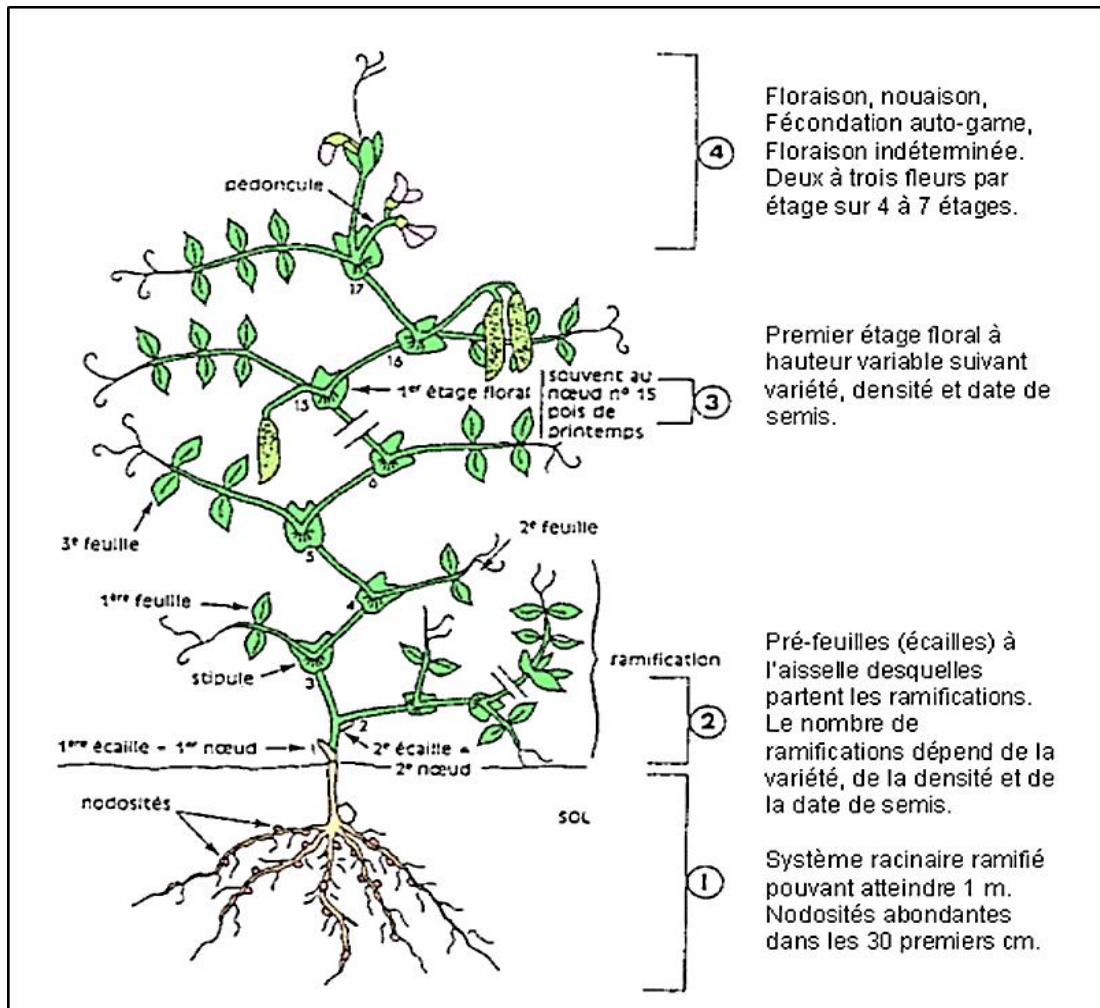


Figure 1. Structure d'une plante du pois (Boyeldieu, 1991).

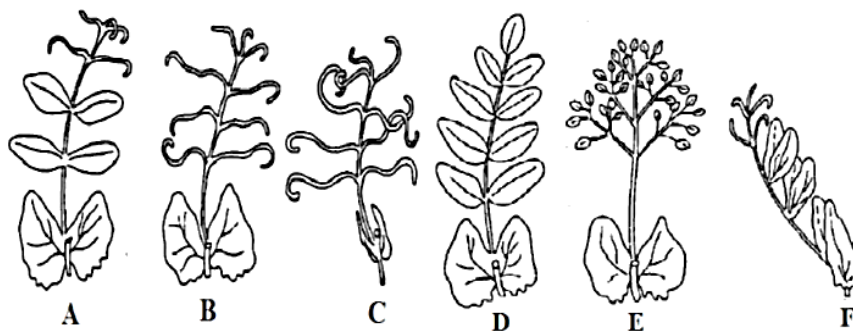


Figure 2. Différents types morphologiques de feuilles du pois (Cousin, 1997).

(A) feuille normale, (B) semi-aphylle, (C) sans feuille ou aphyllé, (D) type Acacia, (E) recombinaison de B et D, (F) feuille mince à stipules dressées.

Le pois est cléistogame et doit être considéré en tant qu'espèce strictement auto-fertile. Toutes les variétés cultivées de pois sont des lignées pures. Afin d'obtenir des variétés hybrides, il serait nécessaire de trouver des mutants avec des fleurs ouvertes, une source mâle-stérile et un porteur efficace de pollen. La production de graines artificielles pourrait également être obtenue après la micropropagation des hybrides. En raison de la complexité de ces techniques et de la rentabilité qui doit être prouvée encore, il semble probable que les variétés lignées pures continueront à être employées (Cousin, 1997).

1.4. Ecologie et croissance

La culture du pois a besoin d'un climat relativement frais. Les températures moyennes doivent être comprises entre 7 et 24°C. Le pois est cultivé dans les régions où les précipitations ne dépassent pas 400 mm, mais la pluviométrie idéale se situe entre 800 et 1000 mm par an. Le pois est légèrement sensible à la photopériode mais les jours longs favorisent sa floraison. Il 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).

Le cycle végétatif du pois est d'environ 140 jours pour les variétés de printemps, pouvant descendre à 90 jours pour les variétés ultra-précoces et remonte jusque 240 jours pour les variétés d'hiver (Cieslarova *et al.*, 2011).

1.5. Principaux types de cultures et intérêt agro-alimentaire

Il a été recensé plus de 1000 variétés de pois dans le monde entier (Cousin, 1997). Les légumineuses contribuent environ à un tiers de la prise directe des protéines de l'humanité, tout en servant de source importante de fourrage pour les animaux et d'huiles comestibles et industrielles. Les pois possèdent plusieurs usages finaux dont les feuilles, les gousses vertes, la graine non mûre (verte) et la graine mûre sèche peuvent être utilisées comme nourriture humaine ou alimentation animale (Benoît *et al.*, 2006 ; Brink et Belay, 2006) :

- Pour la nourriture humaine, le pois peut être consommé à l'état frais (85% d'eau) dont les graines sont récoltées au stade avant maturité (les petits pois verts de maraîchage classés comme légume frais), comme il

peut être consommé à l'état sec (15% d'eau) dont les graines sont récoltées à maturité au stade sec et utilisé comme un légume sec. Les jeunes pousses feuillées sont aussi consommées en légume, particulièrement en Asie.

- Pour l'alimentation animale, la plante entière fournit un fourrage aux ruminants, soit en sec, soit en vert, frais ou ensilé. 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.

Les graines de pois sont riches en protéine (23-25%), en amidon (50%), en sucres solubles (5%), en fibre, en minéraux et en vitamines (Bastianelli *et al.*, 1998).

Le pois, comme d'autres légumineuses, accumule également des substances naturelles (métabolites secondaires) comme les isoflavonoïdes qui sont considérés bénéfiques à la santé humaine grâce à leur pouvoir anticancéreux et d'autres activités promotrices de la santé (Dixon et Sumner, 2003).

1.6. Importance

Le pois est la deuxième culture importante de légumineuses dans le monde entier avec un rendement moyen de 1.72 tonnes/ha. Les pois secs sont cultivés commercialement dans presque 100 pays, mais la production se concentre au Canada (35%), la Russie (12%), et en Chine (13%). Conjointement, ces trois pays produisent plus de la moitié des pois secs du monde (FAOSTAT, 2013).

En Afrique du nord, l'Algérie est classée en troisième position après le Maroc et la Tunisie (FAOSTAT, 2011). Les espèces de légumineuses alimentaires les plus cultivées en Algérie sont la lentille (*Lens culinaris* L.) (800 tonnes), le pois chiche (*Cicer arietinum* L.) (25 000 tonnes), la fève (*Vicia fabae* L.) (20 000 tonnes), le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) (600 tonnes) et le pois (*Pisum sativum* L.). Les rendements moyens balancent entre 1,6 et 5,9 q/ha. En 2011, la culture du petit pois frais s'étendait sur 32 641 hectares avec une production de 127 680 tonnes (FAOSTAT, 2011).

En 1850, la pépinière centrale du gouvernement d'Alger contenait un ensemble de variétés de pois cultivés « *Pisum sativum* L. », qui sont: Chiche ou garbanços, Vert Normand, Michaux, de Hollande, Hâtif, De Rueil, Vert, De Marly, Doigt de Dame, De Clamart, Ridé de Knight, Nain et Mange-tout ou goulou (Anonyme, 2006).

Au début du siècle, en grandes cultures, seules les variétés naines à végétation ramassée étaient intéressantes et parmi elles, pour des raisons commerciales, il ne fallait retenir que celles dont le grain reste vert après maturation. Ce sont les pois à grains verts et ronds comme le nain vert de Hollande, l'express de Hollande et le gros vert à gros grain (Anonyme, 2006).

L'aire de culture de petit pois comprend les régions de (Anonyme, 2006) :

- Tlemcen (Plaines de Henaya et Remchi) et Mascara (Plaine de Ghriss) où la production est souvent commercialisée en vert.
- Mitidja pour l'approvisionnement des unités de l'agro-industrie.
- Skikda et Annaba.

1.7. Sélection et amélioration

Il y a une longue histoire d'amélioration mutationnelle de pois où des agents mutagènes chimiques ou radioactifs sont utilisés sur les cultivars commerciaux pour induire des mutations aléatoires le long du génome pour induire de nouveaux caractères pouvant être utiles dans l'amélioration telle que l'épaisseur de tige ou la floraison simultanée (Blixt *et al.*, 1991).

Le pois était l'organisme modèle original utilisé par Mendel en découverte des lois fondamentales de l'hérédité (1866), lui faisant la base de la génétique végétale moderne (Smýkal *et al.*, 2012). La culture facile, l'habitude reproductrice d'auto-pollinisation et la richesse en variation génétique ont fait du pois un sujet facile pour la recherche et l'amélioration génétiques (Mcphee, 2007). L'amélioration génétique de pois a commencé par la domestication et a continué à travers l'histoire. Depuis lors, les sélectionneurs ont découvert et ont présenté de nouvelles lignées pour adapter les plantes indéterminées, grandes, minces, abondantes ou grimpantes avec de petites graines colorées à des

plantes à récolte précoce et déterminée avec de grandes graines sans tannins (Rubiales *et al.*, 2012).

Les objectifs de l'amélioration du pois varient selon la région de production et l'utilisation finale. Les premiers objectifs communs à toutes les régions et types des produits incluent l'augmentation du rendement, la résistance aux maladies, et la qualité supérieure pour l'utilisation finale désirée et l'adaptation agronomique aux conditions de la production locale (Redden *et al.*, 2005; McPhee, 2007).

L'amélioration classique a apporté des progrès significatifs de la production végétale et de la qualité des graines. La méthode d'amélioration la plus largement pratiquée est le système d'amélioration de races pures à travers la ségrégation transgressive à partir des croisements, de sélection massale et du système de descendant d'une seule graine. En outre, le backcross est utilisé généralement pour introduire un seul caractère désiré (Ambrose, 2008).

Beaucoup de maladies communes du pois peuvent être contrôlées par des gènes simples tels que *er1*, *er2* et *Er3* conférant la résistance à l'oïdium. L'amélioration de plantes a été extrêmement réussie en combinant plusieurs de ces gènes dans les génotypes végétaux à améliorer (McPhee, 2007 ; Rubiales *et al.*, 2012).

La résistance génétique partielle associée avec les mécanismes de la résistance quantitative ont été décrits pour plusieurs agents phytopathogènes aériens associés avec les feuilles et des mauvaises herbes, telles que *Mycosphaerella pinodes* (Fondevilla *et al.*, 2008), *Uromyces pisi* (Barilli *et al.*, 2010), *Phoma medicaginis* var. *pinodella*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*, *Pseudomonas syringae* pv. *Pisi* (Bevan *et al.*, 1995) et *Orobanche crenata* (Fondevilla *et al.*, 2010).

Plusieurs programmes d'amélioration ont visé la caractérisation des QTLs (*Quantitative Trait Locus*) responsables à la résistance aux champignons phytopathogènes et aux mauvaises herbes dans des génotypes sauvages et cultivés de pois. Cependant, l'hybridation intraspécifique et interspécifique permet l'exploitation des gènes d'intérêt des espèces sauvages et non

améliorées au profit des espèces cultivées. Tous les génotypes sauvages connus de *Pisum* sont facilement croisés avec les génotypes cultivés (Redden et al., 2005). *P. fulvum* est la seule espèce sauvage distincte qui a été une source utile de résistance aux maladies et aux insectes (Redden et al., 2005; Fondevilla et al., 2007).

La sélection assistée avec les marqueurs moléculaires (MAS: *Marker Assisted Selection*) a été largement utilisée dans les programmes d'amélioration. Cette approche a été initiée au début des années 80. Ces techniques sont devenues applicables, notamment avec la facilité acquise dans leur manipulation ainsi que leurs coûts financiers raisonnables (Ambrose, 2008 ; Rubiales et al., 2015).

1.8. Facteurs limitant la production

Les rendements potentiels de la majorité des productions agricoles sont généralement réduits à cause des contraintes environnementales en plus des contraintes biotiques (Rubiales et al., 2012).

1.8.1. Les stress abiotiques

Le froid, la sécheresse et les déficits nutritionnels sont les stress environnementaux les plus importants pouvant affecter la production de pois. La plupart des cultivars de pois sont très susceptibles au froid et particulièrement les lignées caractérisées par des entre-nœuds longs, d'une grande surface foliaire et de graines ridées (Cousin, 1997).

La sécheresse et le deuxième stress abiotique le plus important du pois. L'aridité et les températures élevées apparaissent ensemble dans plusieurs régions de production de légumineuses dont les deux types de stress peuvent interagir pour réduire les rendements (Rubiales et al., 2012). De plus, la sécheresse peut arrêter la fixation de l'azote et peut diminuer la production de biomasse (Cousin, 1997).

En outre, le stress nutritionnel le plus important est la salinité. Des niveaux critiques du sel ont été établis et des procédures de dépistage ont été élaborées pour identifier les déterminants génétiques au sel chez le pois. La

fixation de l'azote symbiotique est notamment sensible à la salinité élevée (Saxena, 1993).

1.8.2. Les stress biotiques

1.8.2.1. Les parasites

Les insectes, les pucerons, les thrips et le charançon sont les principaux parasites qui peuvent endommager le pois cultivé ainsi que ses graines (Redden *et al.*, 2005). Selon Clément *et al.*, (2002), le parasite le plus dommageable du pois fourrager est le charançon du pois (*Bruchus pisorum*). Les larves de ce bruche réduisent le rendement et la qualité de la semence en s'alimentant sur les graines en développement. L'incorporation de la résistance au charançon de pois à partir des espèces relatives sauvages de *P. fulvum* dans le pois a semblé encourageante (Clément *et al.*, 2002).

Orobanche crenata, espèce parasite non chlorophyllienne des racines d'angiospermes qui dépend totalement de son hôte pour son approvisionnement en éléments nutritifs, constitue une contrainte importante pour la production de pois d'hiver dans les pays asiatiques et méditerranéens (Rubiales *et al.*, 2009a).

Le pois est également affecté par un certain nombre de nématodes tels que *Pratylenchus* spp., *Meloidogyne* spp. et *Heterodera goettingiana*, auquel peu de résistance est disponible (Rubiales *et al.*, 2012).

1.8.2.2. Les maladies bactériennes et virales

Deux bactéries phytopathogènes très étroitement liées sont associées aux pois. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (la brûlure bactérienne) qui cause des pertes économique significatives particulièrement pendant le printemps et l'été. La deuxième est *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* qui provoque la maladie des taches brunes (Cousin, 1997).

Les maladies virales sont importantes dans la plupart des régions du monde où les pois sont cultivés (Redden *et al.*, 2005). Il y a plus de 50 virus connus pouvant infecter le pois (Kraft et Pflieger, 2001). Le plus important parmi eux est le virus de la mosaïque du pois (PSbMV : *Pea Seedborne Mosaic Virus*) qui a été disséminé dans le monde entier par les graines infectées (Khetarpal *et al.*, 1990 ; Cousin, 1997). La maladie s'est également transmise par les pucerons (Kraft et Pflieger, 2001).

Le pois est également affecté par d'autres virus moins importants, tels que le virus de l'enroulement des feuilles du pois (PLRV : *Potato Leaf Roll Virus*), le virus de la mosaïque et d'énation de pois (PEMV : *Pea Enation Mosaic Virus*) appelé également le virus 1, la mosaïque du pois provoquée par le virus 2 du haricot (BV2: *Bean Virus 2*), le virus de la mosaïque commune de pois (PCMV : *Pea Commun Mosaic Virus*) et le virus de brunissement précoce de pois (Cousin, 1997).

1.8.2.3. Les maladies fongiques

La variation du rendement du pois est souvent associée à des attaques fongiques. Les maladies importantes de cette récolte incluent des maladies fongiques foliaires et racinaires.

La croissance du pois est sujette à diverses maladies fongiques foliaires. L'antracnose du pois fourrager est un complexe de trois espèces fongiques : *Ascochyta pisi*, *Mycosphaerella pinodes*, la forme parfaite d'*A. pinodes*, et *Phoma medicaginis var. pinodella*. Ces espèces sont répandues partout où les pois sont cultivés et sont en particulier un problème dans des conditions douces et humides (Redden *et al.*, 2005).

L'oïdium de pois causé par *Erysiphe pisi*, est une maladie foliaire très répandue dans le monde (Rubiales *et al.*, 2009b). La maladie peut causer des dégâts graves si elle se produit tôt dans la saison, avant la floraison. Elle est plus importante dans les régions subtropicales et dans les régions tempérées (Kraft et Pflieger, 2001). La résistance à l'oïdium est exprimée par un gène récessif (*er1*) (Tiwari, 1997 ; Fondevilla *et al.*, 2006).

La rouille du pois est causée par le champignon *Uromyces viciae-fabae* ou *U. pisi*. *Uromyces viciae-fabae* qui est l'agent principal dans les régions tropicales et subtropicales, telles que l'Inde et la Chine (Kushwaha *et al.*, 2006).

Plusieurs autres maladies fongiques peuvent affecter la partie aérienne du pois : la pourriture blanche à *Sclerotinia*, la pourriture grise à *Botrytis*, la septoriose et l'alternariose (Laflamme, 1998 ; Redden *et al.*, 2005).

Les maladies telluriques sont considérées comme un facteur principal limitant l'augmentation et la stabilisation des rendements du pois (Kraft, 1994). Parmi ces maladies, la pourriture racinaire causée par *Fusarium solani* f. sp. *pisii* et la fusariose vasculaire causée par *F. oxysporum* f. sp. *pisii*, qui sont les parasites les plus importants.

La maladie de la fusariose vasculaire provoquée par l'agent pathogène tellurique *F. oxysporum* f. sp. *pisii* (*Fop*) a été rapporté dans tous les pays où les pois sont cultivés et peut être particulièrement grave où des rotations courtes des cultures sont pratiquées (Kraft et Pleger, 2001).

2. LA FUSARIOSE VASCULAIRE DU PETIT POIS

2.1. Historique de la maladie

La fusariose vasculaire du pois a été décrite la première fois et distinguée de la pourriture racinaire par Jones et Linford (1925) qui l'ont appelée « la maladie du flétrissement méconnu ». À ce moment, la maladie a été signalée dans 50 parcelles à Wisconsin aux Etats-Unis, où elle a causé des pertes économiques plus importantes que celles rapportées pour la pourriture racinaire. L'agent causal a été appelé *F. othoceras* var. *pisii* (Linford, 1928).

Le pathogène a été dénommé plus tard race 1 de *F. oxysporum* f. sp. *pisii* en 1933 (Goth et Webb, 1981). En 1935, Snyder a décrit une nouvelle race de *F. oxysporum* qui était capable de causer le flétrissement chez des variétés résistantes à la race 1, et qui a été dénommé la race 2. Cette nouvelle race apparaît plus tard dans la période de végétation, souvent seulement en plein développement des gousses (Haglund, 1984).

Les races 3 et 4 ont été décrites aux Pays Bas et au Canada, respectivement (Kraft, 1994). Cependant, il semble probablement que ces races 3 et 4 sont des formes dérivées plus virulentes de la race 2. En 1970, la race 5 a été décrite au nord-ouest de Washington (Etats Unis) (Haglund et Kraft, 1970), où tous les cultivars commerciaux connus résistants aux races 1 et 2, étaient susceptibles. En 1979, une nouvelle race de *F. oxysporum* f. sp. *pisi* a été décrite à l'ouest de Washington, qui était pathogène sur des cultivars et des lignées améliorées résistants aux races 1, 2 et 5, et a été dénommée la race 6 (Haglund and Kraft, 1979). Donc quatre races de *F. oxysporum* f. sp. *pisi* ont été identifiées, les races 1 et 2 qui se produisent dans le monde entier, alors que les races 5 et 6 sont seulement importantes à l'ouest de Washington (Infantino *et al.*, 2006).

2.2. Agent causal

2.2.1. Généralités sur *Fusarium oxysporum*

Le genre *Fusarium* a été découvert par Link en 1809 pour des champignons ayant des conidies sous forme de canot ou de banane (Fourie *et al.*, 2011). En 2013, la base de données *Fusarium*-ID a énuméré 76 espèces distinctes de *Fusarium* basées sur le séquençage du gène facteur 1 alpha (EF-1 α) de la traduction et de l'élongation (Chakrabarti, 2013).

Fusarium est considéré comme l'un des genres les plus adaptables et les plus maniables des *Eumycota*. Une de ses espèces économiquement plus importantes est *Fusarium oxysporum* qui est composée de souches pathogènes et non pathogènes (Gordon et Martyn, 1997).

Fusarium oxysporum est un champignon d'origine tellurique cosmopolite, et qui présente une très grande diversité génétique et écologique. Cette espèce inclut plus d'une centaine de formes spéciales et races qui sont chacune spécifique à une plante hôte, souvent des espèces végétales d'intérêt horticole, maraîcher ou agronomique. *F. oxysporum* inclut également des populations non pathogènes pour lesquelles aucune plante hôte n'a été identifiée à ce jour (Barik *et al.*, 2010 ; Arroyo *et al.*, 2003).

Les espèces phytopathogènes de *F. oxysporum* causent des maladies importantes sur les cultures, en induisant spécialement le flétrissement vasculaire (Tello et Lacasa, 1990). Cette maladie attaque plusieurs plantes pérennes et annuelles, aussi bien dans les zones tempérées que dans les zones tropicales causant leur jaunissement et leur flétrissement (Di-Pietro *et al.*, 2003).

Le haut niveau de spécificité des souches pathogènes chez *F. oxysporum* a conduit au développement des formes spéciales ou *formae specialis* (f. sp.) conçues pour permettre une bonne différenciation de ces souches morphologiquement similaires (Cunnington *et al.*, 2009). Les souches qui ont une gamme d'hôtes identiques sont assignées dans un groupe intraspécifique, nommé *formae speciales* (Agrios, 2005).

Chaque formes spéciales peut être divisée en races physiologiques et chaque race physiologique montre un modèle caractéristique de virulence sur des variétés différentielles dans la même espèce de plante hôte (Agrios, 2005; Armstrong et Armstrong, 1981).

2.2.2. Caractéristiques morphologiques

Fusarium oxysporum est une espèce anamorphe caractérisée par une série de critères morphologiques comprenant la forme des macroconidies, la structure des microconidiophores et la formation et la disposition des chlamydospores. La taille du génome de ce champignon a été estimée entre 18,1 et 51,5 Mb, avec un nombre de chromosomes variant de 7 à 14 incluant les plasmides mitochondriaux linéaires (Roncero *et al.*, 2003). La taxonomie morphologique des espèces du genre *Fusarium* est basée principalement sur la structure et l'abondance des formes de reproduction asexuée (chlamydospores, phialides, microconidies et macroconidies) et sur des caractéristiques culturelles (texture de colonie, couleur et arôme de la culture) (Fourie *et al.*, 2011).

Fusarium oxysporum est caractérisé par des microconidies non-cloisonnées formées dans des monophialides courts, des macroconidies à 3 cloisons formées à partir des monophialides sur des conidiophores embranchés dans

des sporodochia, et des chlamydo-spores à paroi lisse ou rugueuse formées séparément ou en paires (Figure 3) (Fourie *et al.*, 2011).

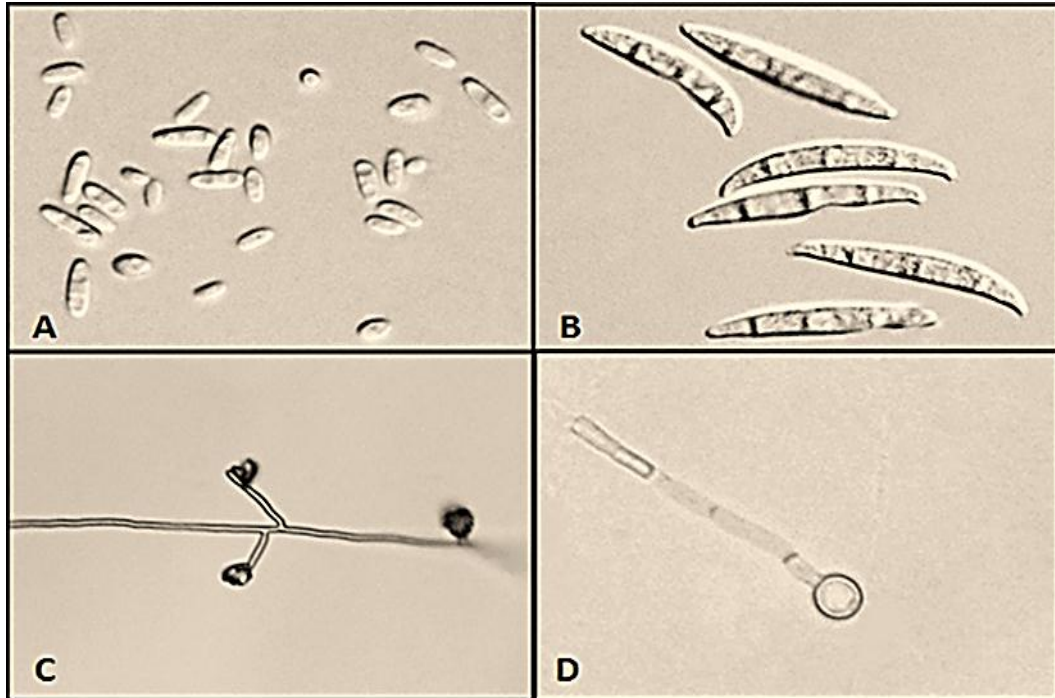


Figure 3. Caractéristiques morphologiques de *Fusarium oxysporum* (Fourie *et al.*, 2011).

(A) Microconidies; (B) macroconidies; (C) microconidies germées sur des monophialides; et (D) chlamydo-spore.

2.2.3. Taxonomie

Fusarium oxysporum se distingue des autres espèces de *Fusarium* par la production abondante de microconidies, rassemblées en fausse tête à partir de monophialides courtes. Seule la reproduction asexuée est connue chez cette espèce ce qui la place dans le groupe des Deutéromycètes (Jimenez-Gasco *et al.*, 2004). En fait, *F. oxysporum* est un 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).

2.2.4. Mécanismes parasitaires

2.2.4.1. Les enzymes de dégradation de la paroi cellulaire

Quand ils envahissent les plantes, les champignons phytopathogènes doivent traverser des barrières physiques telles que la paroi cellulaire de la plante, essentiellement composée de polysaccharides et de pectine. Chez *F. oxysporum*, l'absence de structures spécialisées, telles que les appressoriums a toujours été un facteur important liant la pénétration par des enzymes de dégradation de la paroi végétale (CWDEs : *Cell Wall Degrading Enzymes*). Plusieurs enzymes, telles que les exo- et les endo-polygalacturonases, l'endo-xylanase et la pectate-lyase ont été purifiées, caractérisées et clonées chez des isolats phytopathogènes de *F. oxysporum* (Chakrabarti, 2013).

2.2.4.2. Production de toxines

Fusarium spp. sont connus depuis longtemps pour produire des métabolites secondaires toxiques pour les plantes (les phytotoxines). L'acide fusarique, un composé caractérisé par une toxicité modérée pour les plantes, a été l'un des premiers métabolites fongiques impliqués dans la pathogénèse (Bacon *et al.*, 1996).

L'acide fusarique est une toxine non spécifique produite par plusieurs espèces de *Fusarium* (Abouzeid *et al.*, 2004). A de fortes concentrations, il induit plusieurs réactions physiologiques dans la cellule végétale, telles que la perturbation de la croissance cellulaire, de l'activité mitochondriale et de la perméabilité de la membrane plasmique. A de faibles concentrations, il peut déclencher les réactions de défense de la plante et la mort cellulaire programmée (Jiao *et al.*, 2013). Outre que l'acide fusarique, les isolats de *F. oxysporum* peuvent produire d'autres toxines telles que la beauvericine, l'enniantine B, la bikaverine, la moniliformine, la fumonisine et les trichothécènes qui peuvent aussi contribuer à leur pathogénicité (Irzykowska *et al.*, 2012).

2.3. Processus d'infection

Fusarium oxysporum peut survivre dans le sol pendant des périodes prolongées sous forme de chlamydozoospores et il est difficile à éliminer une fois que le sol est infesté (Agrios, 2004).

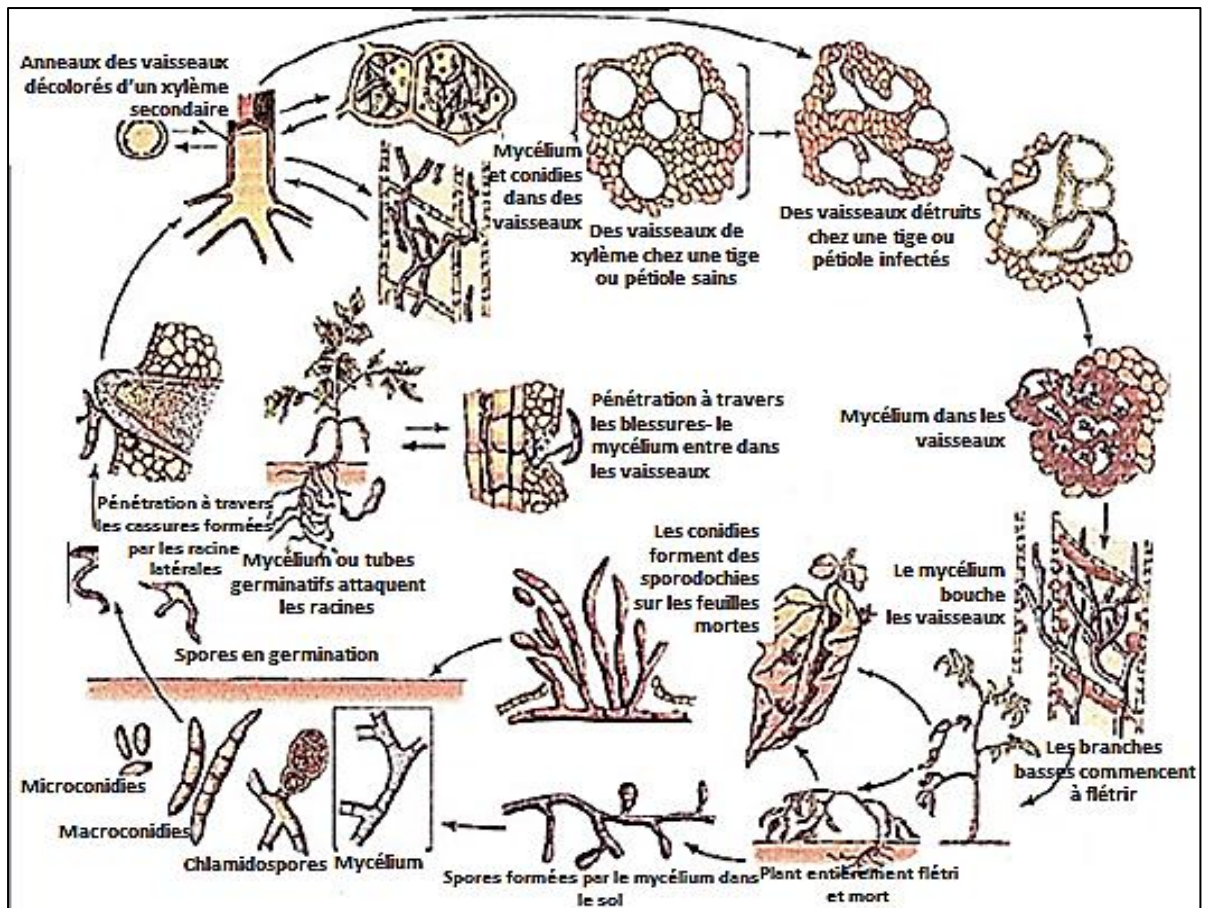


Figure 4. Cycle infectieux de *Fusarium oxysporum* (Agrios, 2005).

Les chlamydozoospores dormantes de *F. oxysporum* présentes dans le sol germent sous des conditions favorables et infectent les plantes à travers leurs racines (Chakrabarti, 2013). Après la germination, un thalle va être formé à partir duquel des conidies se forment dans 6 à 7 heures, et des chlamydozoospores dans 2 à 3 jours si les conditions sont favorables (Beckman et Roberts, 1995). Initialement, l'hyphe s'attache sur la surface de la racine et se développe le long des jonctions des cellules épidermiques pour former un réseau dense mélangé avec les poils absorbants de la racine. Après la colonisation extérieure, le champignon pénètre directement par les cellules

épidermiques. Bien que la pénétration se produit principalement aux extrémités des racines, des pénétrations à des positions aléatoires, le long des poils absorbants, aussi bien que dans les zones méristématiques des racines primaires et latérales ont été rapportées. Cependant, aucune structure spécialisée de pénétration n'a été observée (Chakrabarti, 2013).

Après pénétration, le champignon continue à se développer entre et dans les cellules à travers le tissu de cortex jusqu'à ce qu'il atteigne les vaisseaux de xylème. L'entrée dans les vaisseaux de xylème se produit à travers des creux, et le champignon se modifie à une phase vasculaire distincte où il demeure confiné dans les vaisseaux du xylème. A ce stade, le champignon prolifère dans le xylème, s'infiltrer par la production de microconidies qui migrent vers le haut avec le flux de la sève (Chakrabarti, 2013).

Les symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire apparaissent à cause du fort stress hydrique provoqué par la prolifération fongique, combinée avec des réactions de défense de l'hôte. Aux stades avancés de l'infection, quand la plante est morte, le champignon passe du mode biotrophe au mode nécrotrophe, en envahissant le parenchyme de l'hôte et en sporulant d'une façon abondante (production des grandes quantités de conidies et de chlamydospores) (Chakrabarti, 2013).

Le pathogène survit sur les débris des plantes infectées dans le sol sous forme de mycélium et sous toutes ses formes de spores, mais le plus souvent sous forme de chlamydospores dans les régions tempérées plus fraîches (Agrios, 1997).

2.4. Epidémiologie

Fusarium oxysporum f. sp. *pisi* peut survivre dans le sol pendant plus de 10 ans en absence de son hôte sous forme de chlamydospores à paroi épaisse. La survie est liée à l'association du champignon avec les racines des plantes non-hôtes. Le champignon est également capable d'infecter les graines. De plus, *F. oxysporum* peut être transporté d'un champ à un autre par les outils agricoles, les débris végétaux, et il peut également être dispersé par le vent ou par les eaux d'irrigation (Kraft et Pflieger, 2001).

Une fois introduit dans un nouveau champ, le champignon a besoin d'abord d'augmenter son nombre dans le milieu. Une période de latence de quelques années se produit avant que le champignon atteigne la quantité suffisante d'inoculum pour causer la maladie (Kraft et Pflieger, 2001).

Une température du sol de 21 à 25° C est généralement plus favorable pour que *Fop* puisse causer la maladie, bien que la race 5 peut infecter les plantes hôtes à des basses températures (Hagedorn, 1984; Kraft et Pflieger, 2001).

2.5. Symptômes

Les symptômes dus aux races 1, 5 et 6 provoquent l'enroulement des feuilles et des stipules vers le bas, l'épaississement de l'entre-nœud basal, le jaunissement et les nécroses des feuilles et des tiges deviennent plus fragiles. Bien que le système racinaire apparaisse normal, le tissu vasculaire de la racine et de la tige peut devenir jaune à orange. Cette décoloration vasculaire s'étend souvent à la tige supérieure (Figure 5.B). Durant le développement de la maladie, le jaunissement se progresse des feuilles inférieures vers l'apex de la tige (Figure 5.A). La fusariose se développe rapidement entraînant la mort des plantes (Bani, 2015).

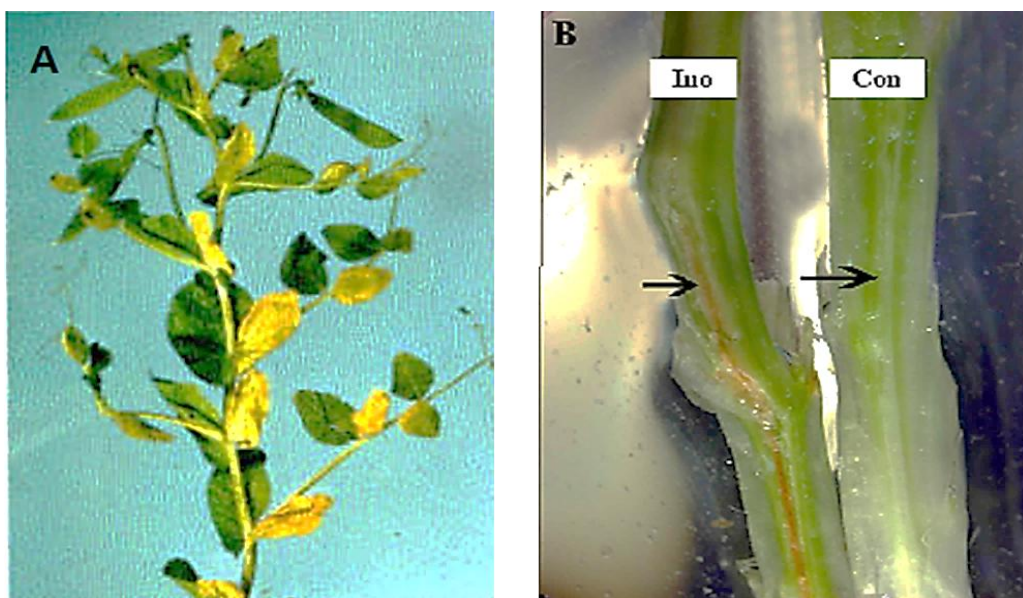


Figure 5. Symptômes de la fusariose vasculaire de petit pois (Hagedorn, 1991 ; Bani, 2015).

(A) jaunissement unilatéral des feuilles, (B) Coloration des tissus vasculaires.

Les symptômes de la race 2 sur les plantes individuelles sont semblables aux symptômes d'autres races de *Fop*. Cependant, les symptômes de plein champ consistent seulement à des plantes présentant des symptômes occasionnels sauf si le niveau d'inoculum est extrêmement élevé.

Les symptômes de la race 2 se produisent habituellement plus tard en pleine croissance, souvent à la floraison. La décoloration vasculaire causée par la race 2 est généralement plus intense que les autres races allant de l'orange au rouge foncé (Kraft et Pflieger, 2001).

2.6. Contrôle de la maladie

Le contrôle des agents phytopathogènes est principalement basé sur trois stratégies : les pratiques culturales, l'application des produits agrochimiques et l'utilisation de variétés résistantes (Guimaraes *et al.*, 2007).

2.6.1. Lutte culturale

La rotation des cultures est la meilleure pratique culturale qui peut contribuer à la réduction des dégâts causés par les phytopathogènes fongiques. Cependant, la rotation des cultures n'a qu'un effet mineur dans la résolution des problèmes de pois causés par la fusariose vasculaire, non seulement parce que les chlamydospores de *Fop* survivent très longtemps dans le sol, mais aussi parce que l'inoculum peut se multiplier sur les racines des hôtes porteurs asymptomatiques (Keiko et Nagisa, 2005).

2.6.2. Lutte chimique

La fumigation du sol avec un fongicide à large spectre est une méthode de lutte potentiel qui fournit un bon contrôle préventif, bien que la recolonisation du sol par *Fop* se déroule très rapidement (Keiko et Nagisa, 2005). En outre, la fumigation des sols est coûteuse pour l'application aux champs et en raison de l'impact négatif des produits chimiques sur les organismes non cibles et le potentiel de risque pour l'environnement et la santé, la gamme et le taux de

fongicides utilisée a été progressivement limitée et certains d'entre eux ont été éliminées, tels que le bromure de méthyle (Duniway, 2002).

2.6.3. Lutte biologique

Durant ces dernières années, le contrôle biologique de la fusariose a donné des résultats encourageants. Le biocontrôle consiste à utiliser des champignons antagonistes tels que les souches non pathogènes de *F. oxysporum*, *Trichoderma* et *Gliocladium*, et des bactéries telles que *Pseudomonas fluorescens* et *Burkholderia cepacia* (Benchabane *et al.*, 2000 ; Pal et McSpadden-Gardener, 2006 ; Toua *et al.*, 2013).

Bien que promettant, aucun de ces microorganismes n'a été utilisé pour contrôler la fusariose en pratique jusqu'à présent (Bani, 2015).

2.6.4. Lutte génétique

L'utilisation des variétés résistantes du pois a été considérée comme la seule mesure pratique et économique pour contrôler la maladie en plein champ. La résistance aux quatre races de *Fop* est contrôlée par des gènes dominants et héréditaires. La résistance à la race 1 est contrôlée par un seul gène dominant (*Fw*) qui est intégré dans la plupart des variétés cultivées (Grajal-Martin et Muehlbauer, 2002).

La résistance horizontale a été identifiée, mais elle reste incomplète. Donc, quand le potentiel de la maladie est élevé, les cultivars meurent ou se mûrissent précocement que les plantes indemnes de maladie, ce qui cause une perte de rendement et de la qualité de congélation ou la mise en conserve des graines de pois (Hagedorn, 1984 ; Kraft et Pflieger, 2001).

PARTIE II. MATERIEL ET METHODES

1. MATERIEL BIOLOGIQUE

1.1. Génotypes de petit pois

Une collection de 15 génotypes de *Pisum* spp. a été utilisée, composée de génotypes sauvages et de variétés fourragères. Les génotypes appartiennent aux deux espèces *P. fulvum* et *P. sativum* dont cette dernière renferme plusieurs sous-espèces à savoir *sativum*, *arvense*, *elatius* et *jormadi*. Les semences de 14 génotypes ont été issues de l'Institut de l'Agriculture Durable de Cordoue, Espagne (*Institut of Sustainable Agriculture, Cordoba, Spain*). Alors que les semences du génotype Séfrou, cultivé localement, ont été fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures de Sétif (ITGC, Sétif) (Tableau 1).

Tableau1 : Génotypes de petit pois utilisés.

Génotypes	Espèce correspondante	Utilisation	Pays d'origine
Radley	<i>P. sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	Protéagineux	Indéterminé
Polar	<i>P. sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	Protéagineux	Indéterminé
Messire	<i>P. sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	Protéagineux	Indéterminé
1123	<i>P. sativum</i> ssp. <i>sativum</i>	Sauvage	Inde
P21	<i>P. sativum</i> ssp. <i>elatius</i>	Sauvage	Soudan
P42	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	Sauvage	Afganistan
P614	<i>P. sativum</i> ssp. <i>elatius</i>	Sauvage	Syrie
P627	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	Sauvage	Syrie
P633	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	Sauvage	Syrie
P634	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	Sauvage	Syrie
P650	<i>P. sativum</i> ssp. <i>jormadi</i>	Sauvage	Syrie
P656	<i>P. fulvum</i>	Sauvage	Syrie
P665	<i>P. sativum</i> ssp. <i>syriacum</i>	Sauvage	Syrie
P669	<i>P. fulvum</i>	Sauvage	Syrie
Séfrou	<i>P. sativum</i> ssp. <i>arvense</i>	Fourrager	Maroc

1.2. Souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*

Deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi* ont été utilisées : R1 et R2F42 (Figure 6). La souche R1 appartient à la race 1 du champignon tandis que la souche R2F42 appartient à la race 2. Ces souches ont été gracieusement fournies par l'Institut de l'Agriculture Durable de Cordoue (*Institut of Sustainable Agriculture, Cordoba, Spain*).

Afin de les régénérer, les souches ont été ensemencées sur le milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) et incubées à 28 °C pendant quatre à cinq jours (Di Pietro et Roncero, 1998).

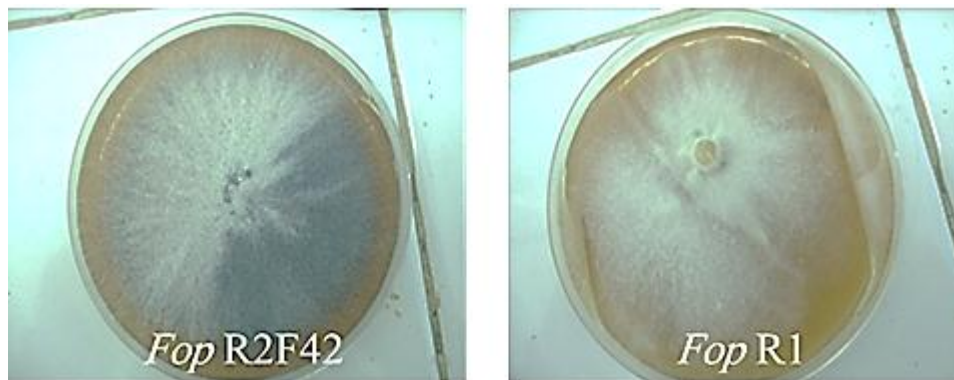


Figure 6. Cultures des deux souches utilisées de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lisi*.

2. INTERACTION GENOTYPES-SOUCHES PATHOGENES

2.1. Préparation de l'inoculum

Les suspensions fongiques ont été préparées en prélevant des disques mycéliens à partir des cultures de *Fop* âgées de 4 à 5 jours. Les disques ont été mis dans des flacons contenant 200 ml du milieu liquide PDB (*Potato Dextrose Broth*) à raison de 5 à 6 disques par flacon et incubés sous agitation continue (170 rpm) (Di Pietro et Roncero, 1998)

Après 5 jours, les spores ont été récupérées par filtration de la suspension à travers les mailles de 2 compresses stériles. A l'aide d'une cellule de Malassez, la concentration des filtrats a été mesurée puis ajustée à 5×10^6 spores/ml (Haglund, 1989).

2.2. Pré-germination des graines

Les graines de pois ont été superficiellement désinfectées pendant 20 min dans une solution d'hypochlorite de sodium (20%) puis rincées deux fois avec de l'eau distillée stérile. Cinquante graines de chaque génotype sont par la suite enveloppées dans un papier filtre stérilisé et humecté et placées dans des boîtes de Pétri. Pour stratifier les graines, les boîtes ont été couvertes avec du papier aluminium et mises à 4 °C pendant 4 jours. Après stratification, les boîtes ont été incubées à 25 °C jusqu'à la germination des graines (Figure 7).

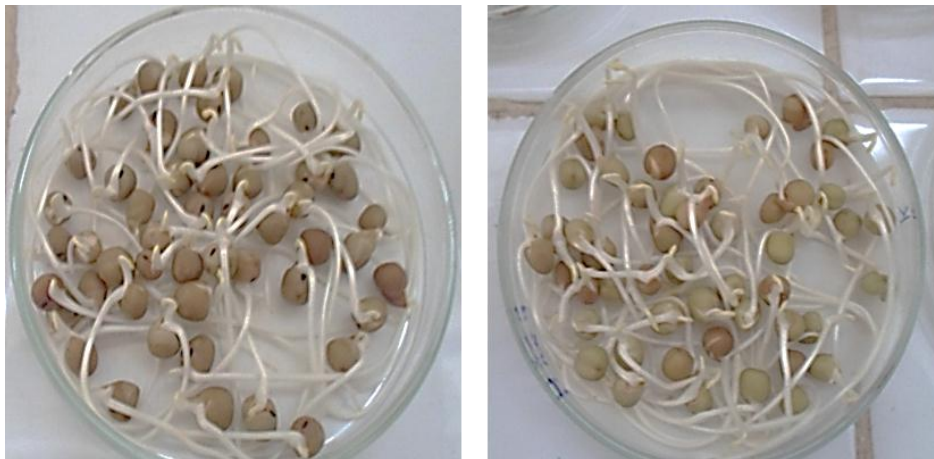


Figure 7. Graines germées de pois.

Une fois germées, les plantules ont été transférées dans des pots de 250 ml de volume contenant de la perlite stérile et maintenues sous serre. Les plantules sont irriguées avec de l'eau courante selon le besoin.



Figure 8. Transfert des graines germées dans la perlite stérile.

2.3. Inoculation

Pour procéder à l'inoculation des plantes avec les souches de *Fop*, nous avons utilisé la technique d'immersion des racines (Haglund, 1989).

Au stade 2 à 3 nœuds, les plantes ont été dépotées et les racines ont été délicatement lavées sous l'eau du robinet pour enlever la perlite adhérente. Un tiers du système racinaire a été coupé avant l'immersion du reste de la racine dans la suspension de spores, pendant 5 min à la température ambiante (Figure 9).

Après l'inoculation, les plantes de pois ont été re-transplantées dans leurs pots et incubées sous serre jusqu'à la fin de l'expérimentation.

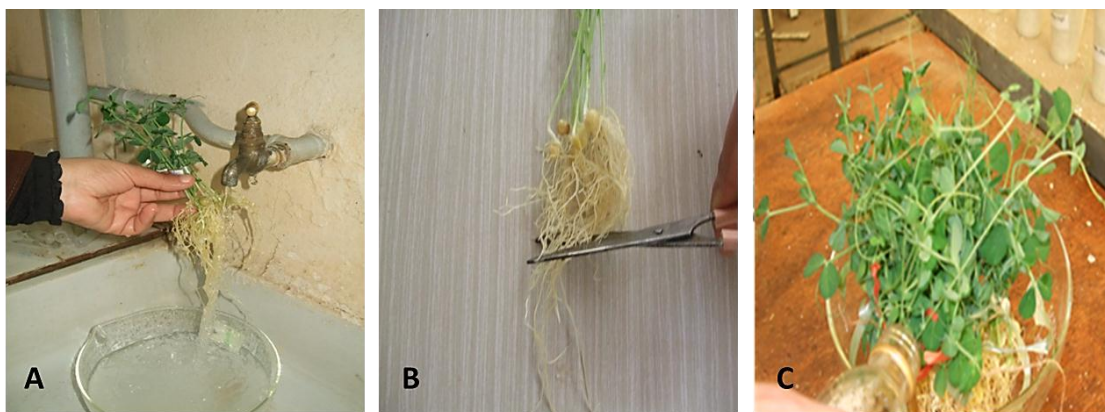


Figure 9. Procédure d'inoculation des plantes.

(A) Lavage, (B) coupure et (C) immersion des racines dans la suspension fongique.

3. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Notre expérimentation s'est basée sur l'étude de l'interaction de 15 génotypes de pois avec deux souches pathogènes de *Fop*. Les témoins sont présentés par des plantules dont les racines ont été immergées dans l'eau distillée stérile.

- Le facteur « génotype » est composé de 15 niveaux (les 15 génotypes de pois) ;
- Le facteur « inoculum » comprend 3 niveaux (les deux souches R1 et R2F42 de *Fop* plus l'eau distillée stérile).

Le nombre total des traitements était 45 (Tableau 2) dont chaque traitement a été répété 6 fois. Donc, nous avons obtenu un total de 270 plantes (unités expérimentales). Les traitements ont été randomisés dans 2 blocs aléatoires complets à raison de 3 répétitions par chaque bloc.

Tableau 2 : Les différents traitements du dispositif expérimental.

Inoculum Génotypes	<i>Fop</i> R1	<i>Fop</i> R2F42	EDS
Radley	T1	T16	T31
Polar	T2	T17	T32
Messire	T3	T18	T33
1123	T4	T19	T34
P21	T5	T20	T35
P42	T6	T21	T36
P614	T7	T22	T37
P627	T8	T23	T38
P633	T9	T24	T39
P634	T10	T25	T40
P650	T11	T26	T41
P656	T12	T27	T42
P665	T13	T28	T43
P669	T14	T29	T44
Séfrou	T15	T30	T45

4. PARAMETRES ETUDIÉS

4.1. Taux de germination

Le taux de germination a été calculé en dénombrant les graines germées de chaque génotype par rapport au nombre total des graines.

4.2. Evaluation de la maladie

4.2.1. Symptômes externes

4.2.1.1. Description des symptômes

Les symptômes caractéristiques de la fusariose vasculaire apparaissent comme un résultat d'un stress hydrique qui se traduit par un flétrissement et un jaunissement des feuilles suivis d'un dessèchement puis la mort de la plante (Di Pietro *et al.*, 2003).

Les premiers symptômes de la maladie commencent à apparaître 10 à 15 jours après l'inoculation. Ainsi, les plantules inoculées ont été suivies chaque 3 jours à partir du 7^{ème} jour jusqu'au 30^{ème} jour après l'inoculation.

4.2.1.2. Taux d'infection

Le taux d'infection, présenté par la proportion de feuilles symptomatiques par rapport au nombre total de feuilles, a été également calculé pour chaque plante.

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

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

4.2.1.3. Sévérité de la maladie (VIS)

La progression de la maladie a été estimée au cours de toute l'expérimentation. L'évaluation de chaque feuille de chaque traitement a été effectuée selon une échelle visuelle de 5 niveaux, afin de calculer l'indice de la sévérité VIS (*Visual Index of Severity*) (Figure 10) dont (Bani *et al.*, 2012) :

- Niveau 1 : feuille verte saine ;
- Niveau 2 : initiation d'un jaunissement et d'un flétrissement ou d'un enroulement de la feuille ;
- Niveau 3 : jaunissement ou flétrissement de plus de 50% de la feuille ;
- Niveau 4 : jaunissement ou flétrissement complet de la feuille ;
- Niveau 5 : feuille morte.

L'indice final pour chaque plante est représenté par la moyenne des valeurs VIS de toutes les feuilles.

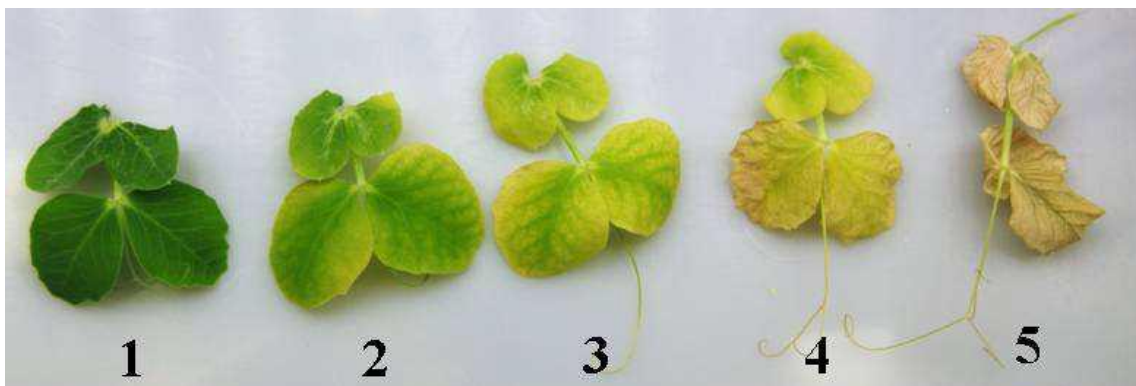


Figure 10. Echelle de l'évaluation des symptômes de la fusariose vasculaire (Bani et al., 2012).

$$\text{VIS} = \frac{\text{Somme de toutes les valeurs VIS des feuilles de la même plante}}{\text{Nombre total des feuilles}}$$

VIS : *Visual Index of Severity* (indice visuel de la sévérité).

Les génotypes qui présentent des valeurs de VIS entre 0 et 3 sont considérés comme résistants, tandis que les génotypes qui présentent des valeurs entre 3 et 4 sont classés comme partiellement résistants et les valeurs dépassant le niveau 4 sont considérés comme susceptibles (Neumann et Xue, 2003).

4.2.1.4. Courbe des aires de propagation de la maladie (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*). L'AUDPC a été calculée par l'équation :

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

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 $i+1$.

L'AUDPC intègre l'intensité des symptômes et leur progression dans le temps.

4.2.2. Symptômes internes

Une coloration rougeâtre des tissus de la tige et du collet de la plante a été précédemment décrite pour être associée aux infections par *Fusarium oxysporum* (Kraft et Pflieger, 2001). Afin d'observer ces symptômes internes, nous avons examiné des coupes des plantes inoculées par les deux souches sous une loupe binoculaire (G : $\times 8$). Pour cela, les plantes inoculées ont été dépotées 30 jours après l'inoculation puis lavées sous l'eau du robinet. La tige et la partie supérieure du système racinaire ont été longitudinalement coupées, à l'aide d'un scalpel, et observées sous une loupe binoculaire.

PARTIE III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. TAUX DE GERMINATION

Après avoir estimé le taux de germination des graines des différents génotypes étudiés, nous avons remarqué que la plupart des génotypes ont présentés un taux de germinations important variant entre 80% et 100%. Le génotype P 665 a présenté un taux de germination très faible (34%) (Figure 11).

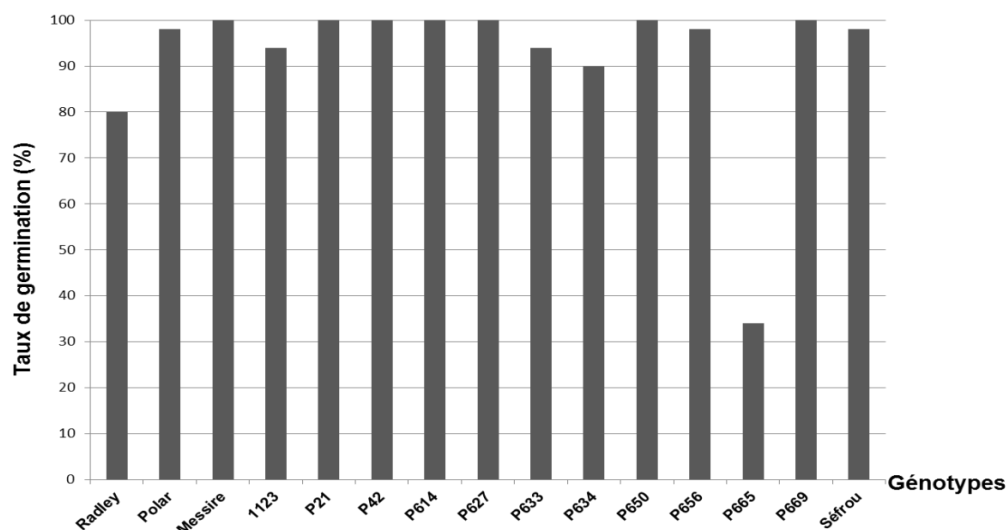


Figure 11. Taux de germination des 15 génotypes étudiés.

2. EVALUATION DE LA MALADIE

2.1. Description symptomatologique

2.1.1. Symptômes externes

2.1.1.1. Partie aérienne

Les premiers symptômes de la fusariose vasculaire sont apparus sur certains génotypes 7 à 10 jours après l'inoculation. Les symptômes de la maladie apparaissent sur les premières feuilles et atteignent progressivement les jeunes feuilles jusqu'au dessèchement et la mort de la plante entière (Figure 12).

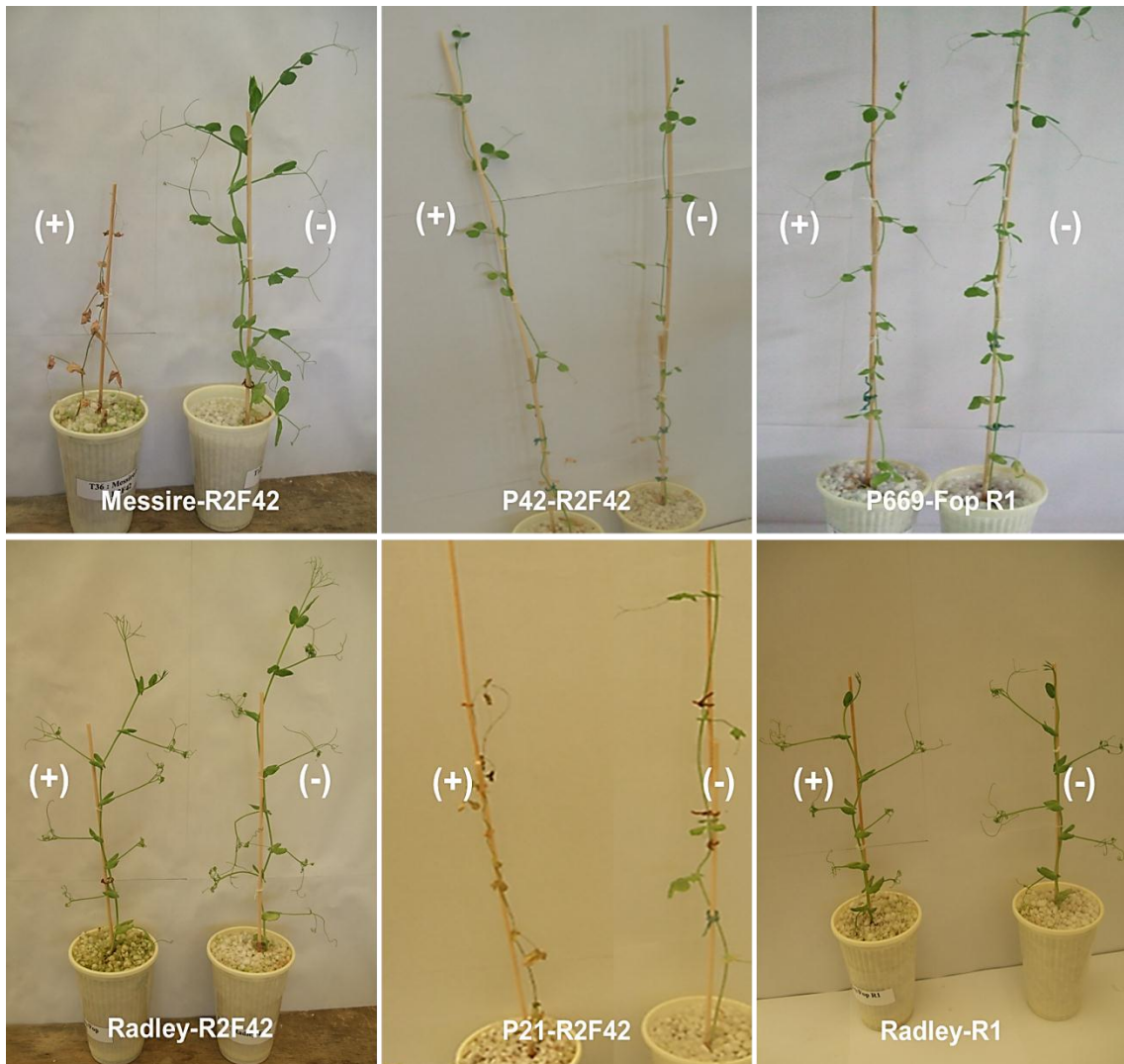


Figure 12. Symptômes de la fusariose vasculaire dus aux deux souches de *Fop* (R1 et R2F42) sur quelques génotypes étudiés 30 jours après l'inoculation.

(+) Plante inoculée, (-) plante non inoculée (témoin).

Au niveau des feuilles, l'initiation des symptômes débute aux extrémités du limbe qui deviennent vert jaunâtre et/ou se courbent vers le bas. Le jaunissement progresse à travers la feuille en s'associant avec une nécrose jusqu'à ce que la feuille entière flétrie et se dessèche (Figure 12).

Les deux souches de *Fop* provoquent les mêmes symptômes sur les génotypes étudiés. Il a été constaté que la souche R2F42 est plus virulente que la souche R1, en causant des symptômes plus intenses sur les génotypes affectés (Messire, P21, P42, P634, P669, et Séfrou)

Nous avons constaté une variabilité dans les réponses des génotypes étudiés, variant de la susceptibilité élevée à la résistance complète. Généralement, les symptômes de flétrissement progressent beaucoup plus rapidement dans les génotypes susceptibles (Messire et P21) que dans les génotypes résistants (Radley, Polar et P665) ou partiellement résistants (P627 et P633).

En comparant les symptômes observés sur les génotypes étudiés avec les témoins négatifs correspondants (traités par l'eau distillée stérile), nous avons distingué que les génotypes: Radley, Polar, P614, P656 et P669 ont présenté quelques symptômes sur les feuilles basales en interaction avec les deux souches R2F42 R1. En se basant sur la symptomatologie, ces génotypes apparaissent sains, donc on peut dire que ces génotypes ont résisté à ces deux souches.

Les génotypes Messire, P21 et P634, inoculés par la souche R2F42, ont montré des symptômes plus graves dont la plante entière se dessèche et meurt. Donc, ces génotypes sont considérés comme sensibles à cette souche de *Fop*. D'autre part, les mêmes génotypes inoculés par la souche R1 n'ont présenté que quelques symptômes sur les feuilles basales, donc ils sont considérés comme génotypes résistants à cette souche de *Fop*.

2.1.1.2. Partie racinaire

Les racines de certains génotypes (Messire, 1123 et P634) inoculés avec la souche R2F42 ont montré une coloration rouge foncée. Les génotypes qui sont avérés scuseptibles ou partiellement résistants, ont montré une décoloration plus intense part rapport aux génotypes résistants et par rapport au témoin. Par contre, les racines des plantes inoculées avec la souche R1 n'ont pas montré cette décoloration (Figure 13).



Figure 13. Aspect des racines de quelques génotypes étudiés 30 jours après l'inoculation avec les deux souches de *Fop* (R1 et R2F42).

(+) Plante inoculée, (-) plante non inoculée (témoin).

2.1.2. Symptômes internes

Des coupes longitudinales fraîches sur la racine et le collet des différents génotypes ont été réalisées. L'observation de ces coupes, sous loupe binoculaire (G : $\times 8$), nous a montré une coloration rouge foncée du système vasculaire et/ou du tissu parenchymateux des génotypes susceptibles (Messire, P21 et P634) inoculés avec la souche R2F42. Par contre, les plantes inoculées avec la souche R1 n'ont pas montré cette décoloration (Figure 14).

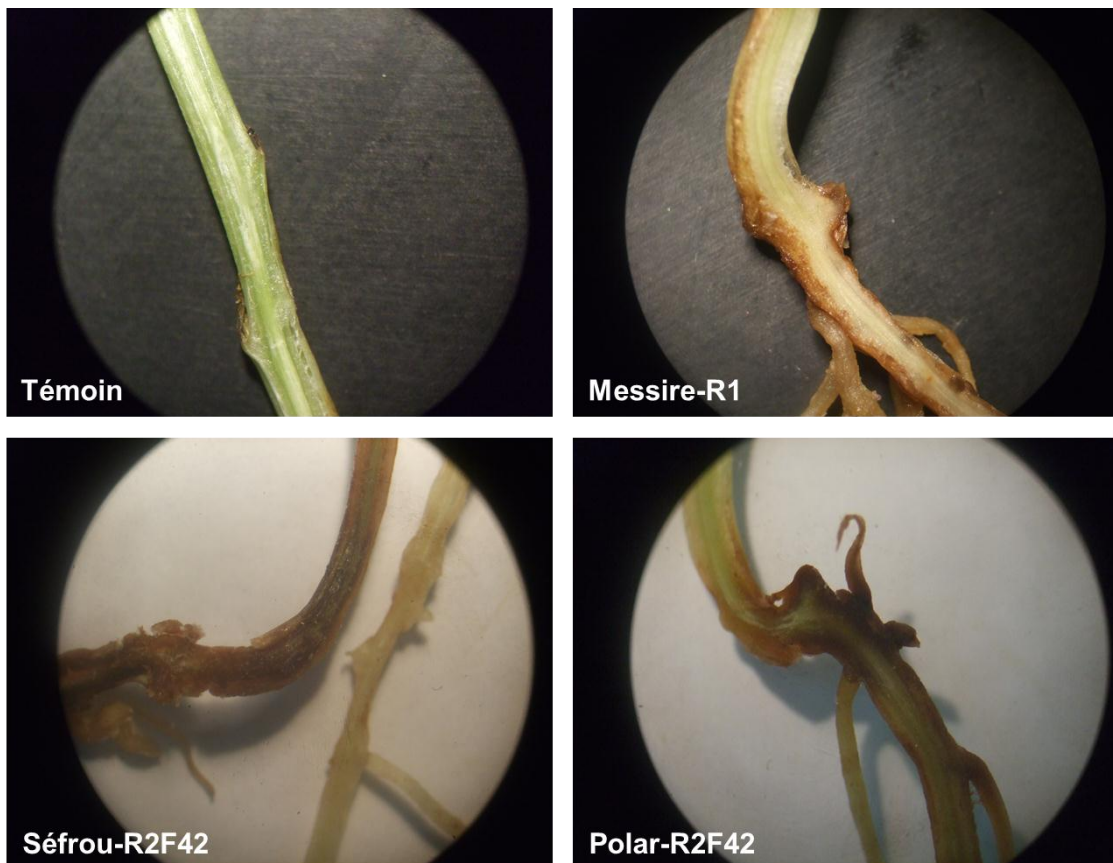


Figure 14. Symptômes internes dus aux deux souches de *Fop* (R1 et R2F42) 30 jours après l'inoculation (G : x8).

2.2. Taux d'infection

Le taux d'infection des génotypes étudiés était estimé en dénombrant le nombre de feuilles porteuses de symptômes de la fusariose vasculaire, sur le nombre de feuilles totales. Le taux d'infection des 15 génotypes varie de 30 à 100%. Sur cette base, nous avons pu sélectionner les génotypes résistants, partiellement résistants et sensibles. D'après le calcul du taux d'infection, nous avons pu classer les génotypes étudiés selon leur réponse aux deux souches de *Fop*, et nous pouvons dire que les deux génotypes Radley et P665 sont résistants aux deux souches de *Fop* en enregistrant des taux d'infection inférieurs à 50 %. Le génotype Polar est résistant aussi à la souche R1 mais il est partiellement résistant à la souche R2F42 (Figure 15).

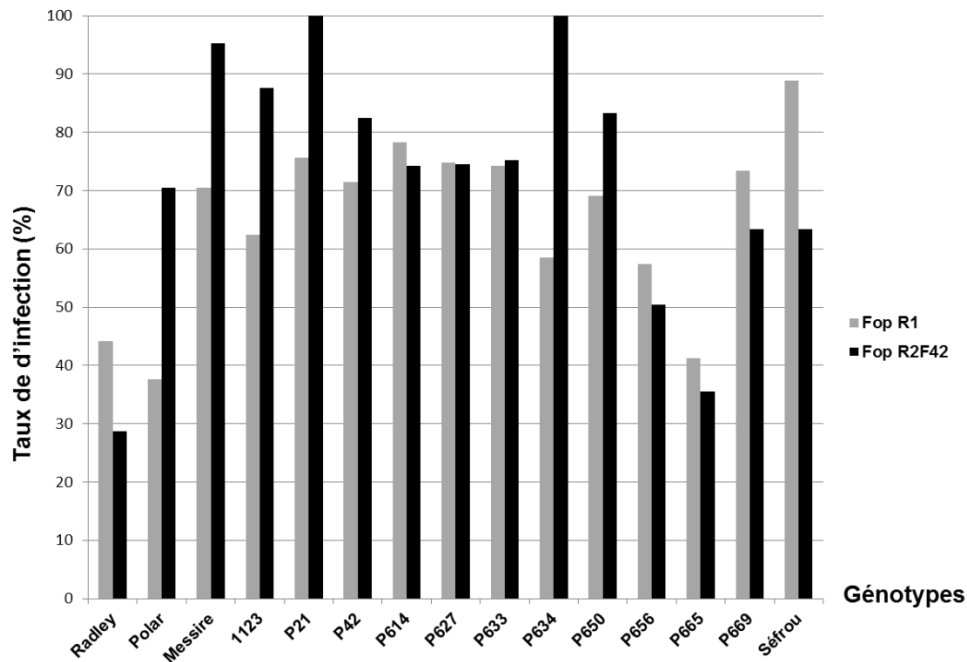


Figure 15. Taux d'infection des 15 génotypes étudiés 30 jours après l'inoculation avec les deux souches de *Fop* (R1 et R2F42).

La résistance partielle a été signalée chez les génotypes : Messire, 1123, P634, P650 et P656 en interaction avec la souche R1. Ces mêmes génotypes ont montré des réponses variables en interaction avec la souche R2F42, où Messire, 1123, p634 et P650 semble susceptible, et le génotype Radley a été résistant (Figure 15).

Les génotypes P21, P42, P614, P627 et P633 sont susceptibles aux deux souches. Les deux génotypes P669 et Séfrou ont répondu de la même façon c'est-à-dire qu'ils ont été sensibles à la souche R1 et partiellement résistants à la souche R2F42 (Figure 15).

La progression de la maladie a été également estimée dans le temps où nous avons observé que l'évolution des symptômes était plus rapide chez les génotypes inoculés avec la souche R2F42 par rapport à ceux inoculés avec la souche R1. Par exemple, l'apparition des premiers symptômes sur le génotype Polar a commencé 13 jours après l'inoculation avec la souche R1, alors qu'elle a commencé dès le 7^{ème} jour après l'inoculation avec la souche R2F42 (Figure 16).

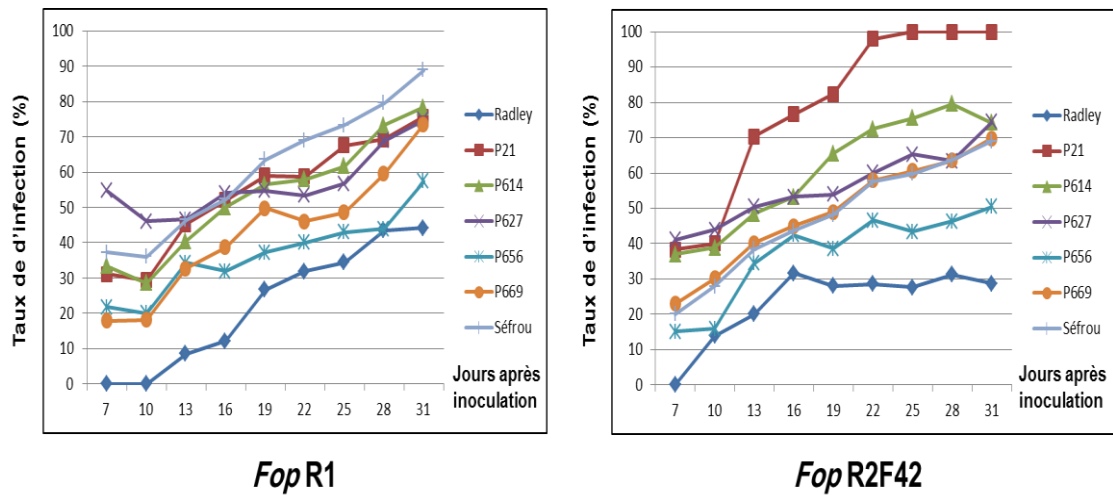


Figure 16. Progression de la maladie chez quelques génotypes étudiés.

2.3. Indice visuel de la sévérité (VIS)

Afin de mieux distinguer les génotypes résistants des génotypes partiellement résistants ou sensibles, nous avons procédé à un autre paramètre d'évaluation qui est le VIS ou (Indice visuel de la sévérité), selon une échelle de 5 niveaux. Cet indice nous a permis de constater que les génotypes Radley, Polar, P614, P656 et P669 sont résistants aux deux souches appliquées en enregistrant des valeurs de VIS inférieures à 3 (Figure 17).

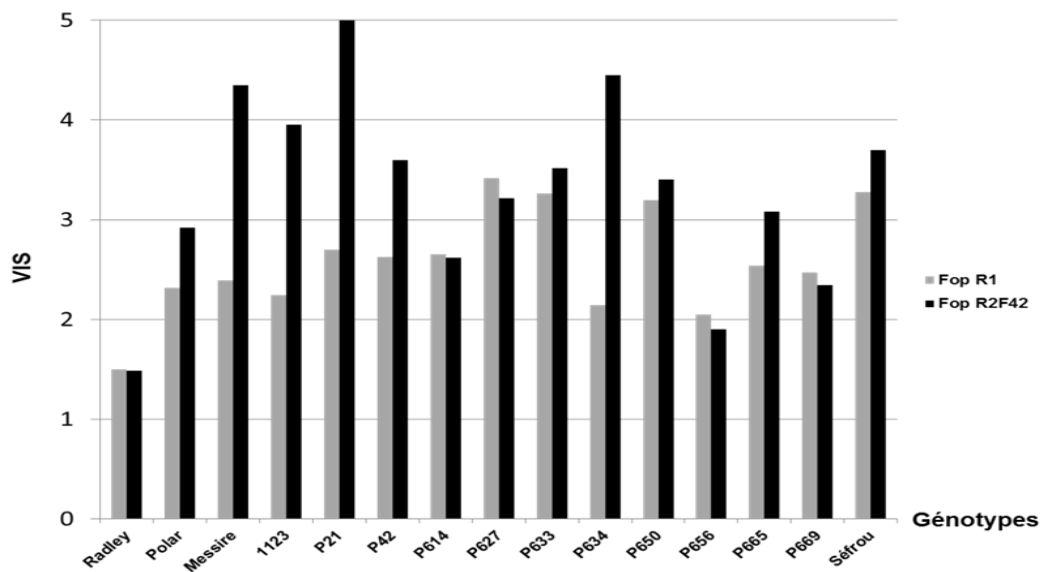


Figure 17. Valeur VIS des 15 génotypes étudiés 30 jours après l'inoculation avec les deux souches de *Fop* (R1 et R2F42).

Les génotypes 1123, P42 et P665 sont résistants à la souche R1 ($VIS \leq 3$) et partiellement résistants à la souche R2F42 ($3 < VIS < 4$). Des valeurs de VIS supérieures à 4 ont été enregistrées chez Messire, P21 et P634 ce qui les classe comme sensibles à la souche R2F42. Les génotypes P627, P633, P650 et Séfrou sont considérés comme partiellement résistants à la souche R1 vue qu'ils ont présenté des valeurs de VIS comprises entre 3 et 4 (Figure 17).

2.4. AUDPC

Afin d'obtenir une valeur plus objective pour distinguer entre les réponses de génotypes aux deux souches de *Fop*, nous avons calculé l'AUDPC. Cette méthode d'évaluation a eu l'avantage de suivre la progression de la maladie dans le temps.

Les réactions des différents génotypes face aux deux souches de *Fop* est différentielle. Nous avons observé qu'ils ne répondent pas de la même façon face aux deux souches pathogènes. Les valeurs de l'AUDPC enregistrées varient entre 49,05 (le génotype Polar en interaction avec la souche R1) et 3224,60 (le génotype P21 en interaction avec la souche R2F42) (Figure 18).

Les valeurs d'AUDPC les moins importantes correspondent aux génotypes résistants. Il s'agit de deux génotypes Radley et P665 en interaction avec les deux souches de *Fop*. Tandis que les valeurs les plus importantes correspondent aux génotypes les plus sensibles (Messire, 1123 et P21 en interaction avec la souche R2F42) (Figure 18).

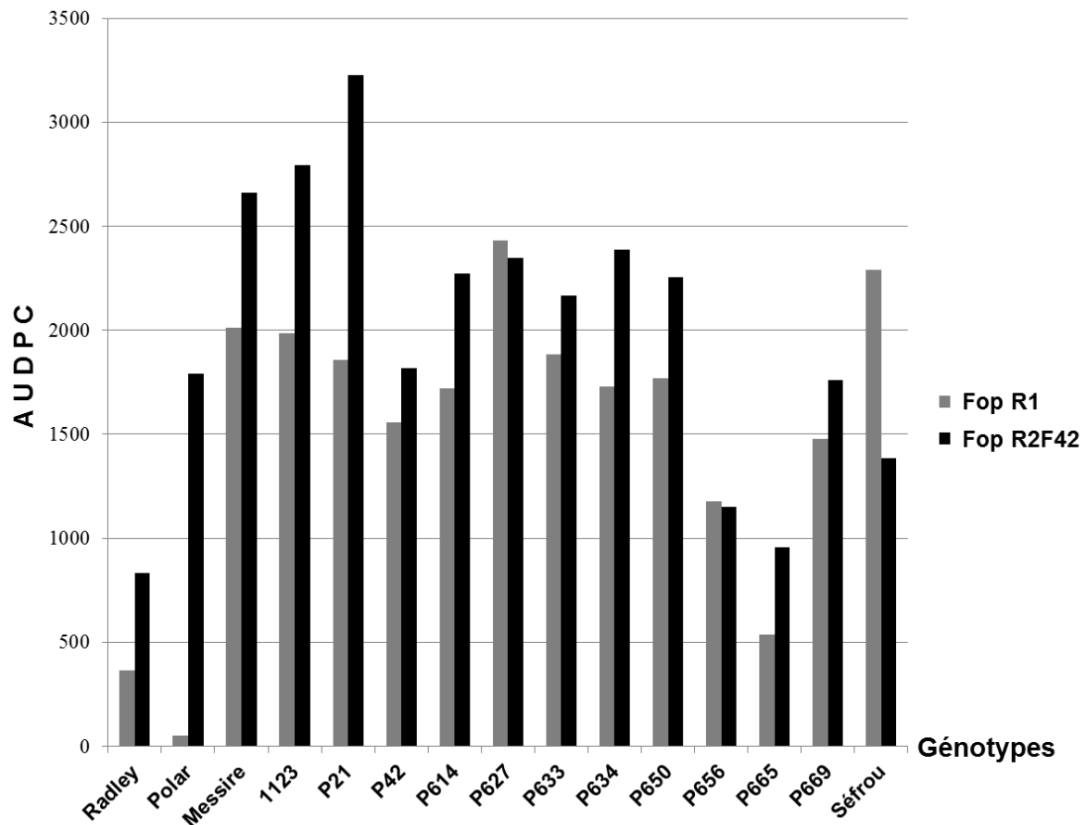


Figure 18. Valeur AUDPC des 15 génotypes étudiés inoculés avec les deux souches de *Fop* (R1 et R2F42).

En comparant les résultats du calcul de VIS et d'AUDPC, nous avons constaté que l'évaluation du comportement des génotypes étudiés varie selon le paramètre. Le VIS a évalué le comportement des 15 génotypes étudiés en prenant en considération la moindre divergence symptomatologique des feuilles. L'AUDPC est calculé avec les taux d'infection sans tenant en compte le niveau de sévérité. Donc, les résultats de calcul du VIS semblent plus exacts et plus distinctifs pour évaluer le comportement des génotypes vis-à-vis de la fusariose vasculaire. Cette dernière qui est exprimée par le flétrissement et le jaunissement des plantes infectées et qui ne sont qu'un résultat secondaire du blocage de la circulation de la sève par le champignon.

3. DISCUSSION GENERALE

Notre travail avait pour objectif d'étudier le comportement d'une collection de 15 génotypes de *Pisum* spp., vis-à-vis de deux souches pathogènes de *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* dans des conditions d'infection semi-contrôlées. Ces deux souches ont pu induire des symptômes typiques de la fusariose vasculaire et les 15 génotypes ont présenté différents comportements.

Les graines jouent un rôle très important dans le cycle de vie des plantes supérieures, où leur formation représente le début d'une nouvelle génération. La germination de la graine est l'ensemble des événements qui commencent par l'étape cruciale d'absorption de l'eau par la graine et se terminent par l'élongation de l'axe embryonnaire et l'émergence de la radicule à travers les structures qui entourent l'embryon (Mihoub *et al.*, 2005). La germination optimale des graines est une condition préalable pour une levée réussie des plantules et pour la vigueur de la plante (Wang *et al.*, 2012).

Les graines exigent beaucoup d'énergie durant la germination afin d'activer la machinerie métabolique. Ni les glucides polymères ni les protéines ou les huiles sont en mesure de répondre à cette exigence (Bewley et Black, 1994). Les oligosaccharides peuvent être donc une source essentielle de carbone. Dans notre travail, les graines des 15 génotypes étudiés ont présenté des taux de germination très importants, allant de 80 % jusqu'à 100 %. Le génotype P665, correspondant à l'espèce sauvage *P. sativum* ssp. *syriacum*, a présenté le taux de germination le plus faible (34 %) par rapport aux autres génotypes. Cette faible faculté germinative peut être expliquée par la composition de la graine car les graines des plantes sont entièrement dépendantes de leurs réserves pour le métabolisme et pour la croissance. Elles contiennent plusieurs composés de stockage, parmi lesquels les glucides qui occupent une importance particulière. Les carbohydrates des semences, tels que l'amidon ou les galactomannanes et les sucres solubles, sont les composés majeurs de la plupart des semences (Bewley et Black, 1994).

rapidement métabolisable pour les événements précoces de la germination (Downie et Bewley, 2000).

La fusariose vasculaire cause un ensemble de symptômes externes incluant l'éclaircissement des nervures, l'enroulement des feuilles, le flétrissement, le jaunissement, les nécroses puis la mort de la plante (MacHardy et Beckman, 1983). 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).

L'association de ces symptômes a été signalée chez des génotypes sensibles de pois en réponse aux quatre souches de *Fop*. Cependant, les symptômes causés par la race 2 de *Fop*, 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).

En parallèle aux symptômes externes, l'infection du pois par *Fop* est généralement associée avec une décoloration des tissus vasculaires qui devient rouge-orange ou noir. 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 la plupart des génotypes inoculés par la souche R2F42 a viré vers une couleur rouge foncée. Par contre, cette décoloration a été absente chez les génotypes inoculés par la souche R1. Un noircissement des cellules corticales et épidermiques a été également observé au niveau du collet de certains génotypes, tels que Messire, 1123 et P634.

Dans notre étude, et sous des conditions de forte concentration d'inoculum (5×10^6 spore/ml), dans un environnement semi-contrôlé, la souche R2F42 utilisée a été très virulente en causant des symptômes similaires à ceux induits par la souche R1. Les symptômes typiques ont été observés sur les génotypes susceptibles et les génotypes partiellement résistants.

Pour qu'elles soient virulentes, les souches pathogènes de *F. oxysporum* possèdent différents mécanismes parasitaires. La sécrétion des CWDEs (les

endo-polygalacturonases, l'endo-xylanase et la pectate-lyase) et la production de toxines non spécifiques, telles que l'acide fusarique, sont des mécanismes permettant au pathogène d'envahir et de coloniser la plante hôte (Bacon *et al.*, 1996 ; Chakrabarti, 2013). En plus de ces mécanismes, la détoxification enzymatique des phytoalexines, les voies de signalisation par les protéines kinases (MAPK : *mitogen-activated protein kinases*) et les protéines G, le fonctionnement des peroxysomes, les facteurs multiples de transcription et récemment les protéines effectrices sont des mécanismes qui sont impliqués dans le processus d'infection des plantes par *F. oxysporum* (Di Pietro *et al.*, 2003 ; Michielse et Rep, 2009).

La plupart des travaux sur la résistance du pois à la fusariose vasculaire, prennent en considération le taux d'infection et la sévérité des symptômes en tant que paramètres distinctifs (Neumann et Xue, 2003 ; Lebeda *et al.*, 2010 ; Bani *et al.*, 2011) . Ainsi, nous avons utilisé ces paramètres pour différencier les différents génotypes de *Pisum* spp. dont ils nous ont permis d'identifier trois catégories de réactions : résistance, résistance partielle et susceptibilité.

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie (taux d'infection, VIS et AUDPC) ont révélé une variabilité des réponses des 15 génotypes vis-à-vis des deux souches de *Fop*. Cette variabilité correspond à la résistance complète, à la résistance partielle et à la susceptibilité totale.

Pour évaluer la résistance vis-à-vis de la fusariose vasculaire chez les légumineuses, le paramètre le plus commun est le taux d'infection. Les génotypes présentant une valeur de taux d'infection inférieure à 50% sont considérés comme résistants. Cette méthode d'évaluation a été largement utilisée pour évaluer la fusariose vasculaire chez le pois (McPhee *et al.*, 1999), le pois chiche (Pande *et al.*, 2006; Ahmad *et al.*, 2010) et la lentille (Bayaa *et al.*, 1997; Stoilova et Chavdarov, 2006).

Le taux d'infection seul apparaît insuffisant pour distinguer les génotypes résistants, partiellement résistants et susceptibles (Infantino, 2006). Afin de décrire correctement la réaction des 15 génotypes étudiés en interaction avec les deux souches de *Fop*, nous avons complété le calcul des taux d'infections par une évaluation de la sévérité des symptômes (VIS). Un tel indice de

sévérité a été adopté dans plusieurs études pour évaluer la résistance du pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire (Charchar et Kraft, 1989 ; Neumann et Xue, 2003 ; Bani *et al.*, 2011). En général, les génotypes qui présentent des valeurs d'indice de sévérité entre 0 et 3 sont considérés comme résistants, tandis que ceux présentant des valeurs proches de 5 sont classés comme susceptibles (Charchar et Kraft, 1989; Neumann et Xue, 2003).

L'utilisation de l'échelle de sévérité des symptômes apporte une meilleure quantification de la maladie, car elle considère les symptômes de la maladie au niveau de la feuille et donne une meilleure idée de la proportion affectée de la plante.

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

Les différentes méthodes d'évaluation de la maladie utilisées dans ce travail, nous ont permis de distinguer les génotypes résistants des autres susceptibles ou partiellement résistants. La résistance ou la susceptibilité d'un génotype donné a été relative par rapport aux souches de *Fop* inoculées. C'est le cas par exemple du génotype Polar qui a enregistré une valeur de 49,05 avec la souche R1 et a été considéré comme résistant, alors qu'il a été partiellement résistant avec la souche R2F42 en présentant une valeur de 1791,64. Cette variabilité de réponses envers les différentes souches du même pathogène peut être la conséquence d'une spécificité du biotype pathogène vis-à-vis les différents cultivars de la même espèce hôte.

Les relations entre les agents 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. Une des manifestations les plus connues de la spécificité parasitaire est la résistance dite verticale : la variété concernée résiste totalement à certaines souches du parasite mais est sensible à d'autres, manifestant ainsi une interaction différentielle. Tout biotype du parasite qui est

capable de surmonter un facteur de résistance verticale est dit virulent à l'égard du cultivar correspondant (Lepoivre, 2003).

Aux stades pré-vasculaires et vasculaires de l'infection, les plantes répondent à l'invasion fongique par l'activation des mécanismes de défense qui incluent la production du dépôt de callose, l'accumulation des composés phénoliques et la formation de tyloses (excroissances des cellules parenchymateuses du xylème) (Beckman, 2000).

Le premier moyen de défense de la plante contre de nombreux pathogènes est présentée par le réseau de macromolécules de la paroi cellulaire de l'hôte. Si cette barrière est surmontée, la cellule tente de limiter la propagation de l'infection par plusieurs moyens. La réponse la plus commune est la formation d'appositions de la paroi cellulaire qui a été montrée pour être rapidement induite après le début de la pénétration du champignon, parfois après quelques heures seulement. Ces appositions, appelées papilles, comprennent une matrice de callose incorporée avec la cellulose, la subérine, le calcium et le silicium (Vidhyasekaran, 2008).

Les barrières structurelles naturelles, telles que l'endoderme des racines ou celles créés par la production et l'accumulation des gels et de tyloses vasculaires par les cellules adjacentes du parenchyme et leur accumulation dans les vaisseaux du xylème, peuvent bloquer la progression des hyphes du champignon (Beckman, 1987; Agrios, 2005).

La réponse hypersensible produite par la mort des cellules parenchymateuses des tissus vasculaires infectés par le champignon a également été observée sur des racines de plantes infectées par *F. oxysporum* (Beckman *et al.*, 1989). Dans un premier stade d'hydrolyse de la paroi cellulaire, des mécanismes physiques sont impliqués, en utilisant la lignine et des composés phénoliques de la paroi pour restreindre l'action des CWDEs du pathogène sur la paroi cellulaire de l'hôte. Un deuxième mécanisme chimique se produit à un stade ultérieur pour éviter la production de CWDEs par l'agent pathogène. Cette inhibition est liée à la participation des phénols estérifiés dans la paroi cellulaire (El Modafar et El Boustani, 2002; Vidhyasekaran, 2008).

La production de composés antifongiques est également une stratégie de base de défense chez la plante (Dixon, 2001). Elle comprend la production et l'accumulation de composés antimicrobiens, appelés phytoanticipines et phytoalexines, dans le site d'infection (Mert-Türk, 2002). Des peptides antimicrobiens et des espèces réactives d'oxygène peuvent être aussi produits lors d'une infection parasitaire (Lamb et Dixon, 1997 ; Garcia-Olmedo *et al.*, 1998).

A ce jour, seul le gène dominant de la résistance à *Fop* a été utilisé dans le développement de cultivars commerciaux. Cependant, les programmes d'amélioration basés uniquement sur quelques gènes dominants présentent un risque de rupture de la résistance. Cette rupture de résistance initialement efficace est le souci des améliorateurs qui les oblige à chercher sans cesse de nouvelles sources de résistance au sein des géotypes du pois, y compris les ascendants du pois sauvage (Bani, 2015).

CONCLUSION

La fusariose vasculaire du pois, causée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, a été signalée dans tous les pays où le pois est cultivé. La maladie est souvent sévère là où on pratique de courtes rotations avec d'autres cultures. Dans ces conditions, quand le pathogène développe des quantités suffisantes d'inoculum et en présence d'un cultivar sensible, il en résulte des pertes économiques considérables. En raison des possibilités réduites du contrôle chimique de cette maladie, en plus de la pollution et des risques sanitaires, l'utilisation de cultivars résistants aux différentes races du pathogène, semble être la mesure la plus appropriée.

Notre expérimentation a porté sur l'étude du comportement de 15 génotypes de pois vis-à-vis de la fusariose vasculaire dans des conditions semi-contrôlées. Les deux souches appliquées de *Fop* (R1 et R2F42) ont induit des symptômes typiques de la maladie. Les différents génotypes étudiés ont répondu d'une façon différentielle suivant la souche appliquée de *Fop*.

Selon les valeurs du taux d'infection et de sévérité, le génotype Radley était le plus résistant face aux deux souches de *Fop*, en enregistrant des taux d'infection ne dépassant pas 40%. Les niveaux de sévérité enregistrés (VIS) ne dépassent pas 1,5. Ces deux paramètres d'évaluation de la maladie (taux d'infection et VIS) sont plus élevés chez les deux génotypes susceptibles Messire et P21, respectivement, de 95, 24% à 100% et de 4,35 à 5. La plupart des génotypes étudiés ont été partiellement résistants en interaction avec les souches de *Fop*. C'est le cas par exemple des deux génotypes P627 et P633 qui ont enregistré des taux d'infection inférieurs à 76% avec des valeurs en VIS inférieures à 3,52.

Les génotypes ayant montré des niveaux importants de résistance, peuvent être intégrés dans des programmes de croisement et d'amélioration, pour mieux les exploiter comme sources de résistance. Les différents mécanismes impliqués dans la résistance chez ces génotypes peuvent être d'avantage étudiés.

Pour la poursuite de ce travail, il sera intéressant d'étudier le comportement de ces mêmes génotypes dans des conditions d'infection naturelles et non contrôlées, afin d'évaluer leurs réelles potentialités de résistance à la fusariose vasculaire et à d'autres contraintes biotiques ou abiotiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abouzeid, M.A., Boari, A., Zonno, M.C., Vurro, M., Evidente, A., 2004.** Toxicity profiles of potential biocontrol agents of *Orobanche ramosa*. Weed Science 52, 326-332.
- **Agrios G.N., 1997.** Plant Pathology. 4th ed. Academic Press. 635 p.
- **Agrios G.N., 2004.** Plant pathology, 5th ed. Elsevier, Burlington, MA.
- **Agrios G.N., 2005.** Plant pathology, 5th edition. Department of plant pathology. University of Florida; Elsevier Academic Press. pp. 948.
- **Ahmad, M.A., Iqbal, C.M., Ayub, N., Ahmad, Y. and Akram, A., 2010.** Identification of resistant sources in chickpea against Fusarium wilt. Pak. J. Bot., 42: 417-426.
- **Ambrose, M., 2008.** Garden pea. In: Prohens J., Nuez, F. (eds) Vegetables II: Fabaceae, Liliaceae, Umbelliferae, and Solanaceae. Springer, New York, pp. 3-26.
- **Anonyme., 2006.** Deuxième rapport national sur l'état des ressources phytogénétiques. INRA Algérie.
- **Armstrong G. M. and Armstrong J. K., 1981.** Formae specialis and races in *Fusarium oxysporum* causing wilt diseases. Pages 391-399 In: Fusarium Diseases. Biology and Taxonomy. Nelson P. E., Tousson T. A. and Cook R. J. eds Pennsylvania State University Park., 457pp.
- **Arroyo-Garcia R., Cenis J.L., Tello J., Martinez-Zapater JM. and Cifuentes D., 2003.** Genetic relationships among seven specialized forms and AFLPs. Spanish Journal of Agricultural Research., 3:55-63.
- **Bacon C.W., Porter J.K., Norred W.P. and Leslie J.F., 1996.** Production of fusaric acid by *Fusarium* species. Applied and Environmental Microbiology. 62: 4039-43.
- **Baldev, B., 1988.** Origin, distribution, taxonomy, and morphology. In B. Baldev, S. Ramanujam, & H. K. Jain (Eds.), Pulse crops (pp. 3–51). New Delhi, India: Oxford & IBH Publishing Co.

- **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 Rispail 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, 532 - 542.
- **Barik B. P., Tayung K., Jagadev P. N. and Dutta S. K., 2010.** Phylogenetic Placement of an Endophytic Fungus *Fusarium oxysporum* Isolated from *Acorus calamus* Rhizomes with Antimicrobial Activity. *E.J.B.S.*, 2 (1).
- **Barilli, E., Zatovic, S., Rubiales, D., Torres, A.M., 2010.** Mapping of quantitative trait loci controlling partial resistance against rust incited by *Uromyces pisi* (Pers.) Wint. in a *Pisum fulvum* L. intraspecific cross. *Euphytica* 175, 151-159.
- **Bastianelli, D., Grosjean, F., Peyronnet, C., Duparque, M., & Régnier, J. M., 1998.** Feeding value of pea (*Pisum sativum* L.) 1. Chemical composition of different categories of pea. *Animal Science*, 67(3), 609–619.
- **Bayaa, B., Erskine, W. and Singh, M., 1997.** Screening lentil for resistance to Fusarium wilt: methodology and sources of resistance. *Euphytica*, 98: 69-74.
- **Beckman C.H. and Roberts E.M., 1995.** On the nature and genetic basis for resistance and tolerance of fungal wilt diseases. *Advances in Botanical Research*. 21: 35-77.
- **Beckman C.H., 2000.** Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 57:101-110.
- **Beckman, C.H., 1987.** *The Nature of Wilt Diseases of Plants.* Am. Phytopath. Soc., Saint-Paul, Minnesota, USA, 175p.
- **Beckman, C.H., Verdier, P.A. and Mueller, W.C., 1989.** A system of defense in depth provided by vascular parenchyma cells of tomato in response to vascular infection with *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, race 1. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 34: 227-239.

- **Benchabane M, Bakour R, Toua D, Boutekrabt A., 2000.** Mise en évidence de l'effet antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de la fusariose vasculaire de la tomate. Bulletin OEPPL/EPPO, 30, 243-246.
- **Benoît M., Deffontaines J.-P., Lardon S. 2006.** Acteurs et territoires locaux. Vers une géoagronomie de l'aménagement. Collection Savoir-Faire, Inra.
- **Bevan, J.R., Taylor, J.D., Crute, I.R., Hunter, P.J., Vivian, A., 1995.** Genetics of specific resistance in pea (*Pisum sativum*) cultivars to seven races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*. Plant Pathology 44, 98-108.
- **Bewley J.D. and Black M., 1994.** Seeds: physiology of development and germination. New York: Plenum Press.
- **Blixt, S., Folkesson, D., Gottschalk, G., 1991.** Use of mutations for chromosome mapping and breeding in *Pisum*. In: Tsuchiya, T., Gupta, P.K., (eds) Chromosome engineering in plants: genetics, breeding, evolution. Elsevier Science, Amsterdam, pp. 33-52.
- **Booth C., 1971.** The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England., 237 p.
- **Boyeldieu, J., 1991.** Produire des grains oléagineux et protéagineux. Paris, Lavoisier Tec&Doc.
- **Brink M. et Belay G., 2006.** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1. Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Pays-Bas. p 171- 177.
- **Chakrabarti A., 2013.** *Fusarium oxysporum*: A "Moving" View of Pathogenicity. Chapter 7, In: Horwitz B.A. et al. Genomics of soil- and plant associated fungi. Soil Biology 36. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- **Charchar, M. and Kraft, J.M., 1989.** Response of near-isogenic pea cultivars to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* Races 1 and 5. Canadian Journal of Plant Science, 69: 1335-1346.
- **Ciancio, A. and Mukerji, K.G., 2008.** Integrated Management of Diseases Caused by Fungi, Phytoplasma and Bacteria, Springer, Vol. 5, 443P.
- **Cieslarová J, Smýkal P, Dockalová Z, Hanáček P, Procházka S, Hýbl M, Griga M., 2011.** Molecular evidence of genetic diversity changes in pea (*Pisum sativum* L.) germplasm after long-term maintenance. Genetic Resources and Crop Evolution. 58: 439–451.

- **Clement,S.L., Hardie, D.C., Elberson, L.R., 2002.**Variation among accessions of *Pisum fulvum* for resistance to pea weevil.Crop Science 42,2167-2173.
- **Cousin R., 1997.** Peas (*Pisum sativum* L.). Field Crops Research. 53:111-130.
- **Cunnington J., Lindbeck K., Rodney H. and Jones., 2009.** Diagnostic methods for Fusarium wilt of chickpea (*Fusarium oxysporum*f. sp. *ciceris*) Padil. Plant Biosecurity Toolbox page 1-22.
- **De Candolle, A., 1882.**Origin of cultivated plants. Whitefish, MT: Kesinger Publishing LCC. 2006.
- **Di Pietro A. and Roncero M.I.G., 1998.** Cloning, expression, and role in pathogenicity of *pg1* encoding the major extracellular endopolygalacturonase of the vascular wilt pathogen *Fusarium oxysporum*. Molecular Plant-Microbe Interactions. 11: 91-8.
- **Di Pietro A., Madrid M.P., Caracuel Z., Delgado-Jarana J. and Roncero M.I., 2003.** *Fusarium oxysporum*: exploring the molecular arsenal of a vascular wilt fungus. Mol. Plant Pathol. 4:315-325.
- **Dixon R. A., and Sumner L. W., 2003.** Legume natural products: Understanding and manipulating complex pathways for human and animal health. *Plant Physiology*, 131(3), 878–885.
- **Dixon, R.A., 2001.** Natural products and plant disease resistance. *Nature*, 411: 843-847.
- **Downie B. and Bewley J.D., 2000.** RFO utilization in dormant and germinating white spruce seeds. *Physiol Plant*. 110: 1 - 12.
- **Duniway, J.M., 2002.** Status of chemical alternatives to methyl bromide for pre-plant fumigation of soil. *Phytopathology*, 92: 1337-1343.
- **El Modafar, C., El Boustani, E., 2002.** Contribution des polyphénols aux mécanismes de défense biologique des plantes. In: Regnault-Roger, C., Philogène, B.,Vincent, C. (eds) Biopesticides d'origine végétale. Lavoisier Tech and Doc.,pp.169-185.
- **FAOSTAT., 2013.** <http://faostat.fao.org>.
- **FAOSTAT-Agriculture., 2011.** Food and agricultural commodities production. Food and agriculture organization. Rome.

- **Fondevilla, S., Carver, T.L.W., Moreno, M.T., Rubiales, D., 2006.** Macroscopic and histological characterisation of genes *er1* and *er2* for powdery mildew resistance in pea. *Eur. J. Plant Pathol.*, 115: 309-321.
- **Fondevilla, S., Fernández-Aparicio, M., Satovic, Z., Emeran, A.A., Torres, A.M., Moreno, M.T., Rubiales, D., 2010.** Identification of quantitative trait loci for specific mechanisms of resistance to *Orobanche crenata* Forsk. in pea (*Pisum sativum* L.). *Molecular Breeding* 25, 259-272.
- **Fondevilla, S., Satovic, Z., Rubiales, D., Moreno, M.T., Torres, A.M., 2008.** Mapping of quantitative trait loci for resistance to *Mycosphaerella pinodes* in *Pisum sativum* subsp. *syriacum*. *Molecular Breeding* 21, 439-454.
- **Fondevilla, S., Carver, T.L.W., Moreno, M.T., Rubiales, D., 2007.** Identification and characterisation of sources of resistance to *Erysiphe pisi* Syd. in *Pisum* spp. *Plant Breeding* 126: 113-119.
- **Fourie G., Steenkamp E.T., Ploetz R.C., Gordon T.R. and Viljoen A., 2011.** Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum* formae specialis *cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution.* 11: 533-542.
- **Garcia-Olmedo, F., Molina, A., Alamillo, J.M. and Rodriguez-Palenzuela, P., 1998.** Plant defense peptides. *Biopolymers (Peptide Science)* 47: 479-491.
- **Geves., 1995.** Description et classification des variétés de pois. manuel avec mise à jour à échéance régulière. Geves.guyancourt. 556 p.
- **Gordon T.R. and Martyn R.D., 1997.** The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Ann. Rev. Phytopathol.* 35: 111-128.
- **Goth R.W. and Webb R.E., 1981.** Sources and genetics of host resistance in vegetable crops. In: *Fungal Wilt Diseases of Plants* (ME Mace, AA Bell, CH Beckman, eds) Academic Press. New York, USA. 377-411.
- **Grajal-Martin, M.J., Muehlbauer, F.J., 2002.** Genomic location of the *Fw* gene for resistance to fusarium wilt race 1 in peas. *Journal of Heredity* 93, 291-293.
- **Guimaraes, E.P., Ruane, J., Scherf, B.D., Sonnino, A. and Dargie, J.D., 2007.** Marker-Assisted Selection, Current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. *FAO, Rome, 494p.*

- **Hagedorn D.J., 1984.** Compendium of pea diseases. American Phytopathological Society, Saint-Paul, Minnesota, USA. 57p.
- **Hagedorn D.J., 1991. Handbook of pea diseases. Madison, Wisconsin, USA. 25p.** D.J., 1991. Handbook of pea diseases. Madison, Wisconsin, USA. 25p.
- **Haglund W.A. ,1989.** A rapid method for inoculating pea seedlings with *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Plant Disease. 73: 457-8.
- **Haglund W.A. and Kraft J.M., 1979.** *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 6: Occurrence and distribution. Phytopathology. 69: 818-820.
- **Haglund W.A., 1984.** Fusarium wilts. In: Compendium of Pea Diseases (DJ Hagedorn, ed). Am. Phytopath. Soc., Saint-Paul, MN, USA. 22-24.
- **Haglund W.A. and Kraft J.M., 1970.** *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* race 5. Phytopathology. 60: 1861-1862.
- **Infantino, A., Kharrat, M., Riccioni, L., Coyne, C.J., McPhee, K.E. and Grunwald, N.J., 2006.** Screening Techniques and Sources of Resistance to Root Diseases in Cool Season Food Legumes. Euphytica, 147: 201-221.
- **Irzykowska, L., Bocianowski, J., Waskiewicz, A., Weber, Z., Karolewski, Z., Golinski, P., Kostecki, M., Irzykowski, W., 2012.** Genetic variation of *Fusarium oxysporum* isolates forming fumonisin B-1 and moniliformin. Journal of Applied Genetics 53, 237-247.
- **Jiao, J., Zhou, B., Zhu, X., Gao, Z., Liang, Y., 2013.** Fusaric acid induction of programmed cell death modulated through nitric oxide signalling in tobacco suspension cells. Planta 238, 727-737.
- **Jimenez-Gasco M. D. M., Milgroom M.G. and Jimenez-Diaz R. M., 2004.** Stepwise evolution of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequences. Phytopathology., 94:228-235.
- **Jones F.R. and Linford M.B., 1925.** Pea Disease Survey in Wisconsin. Wisc. Agric. Exp. Sta. Res. Bull. WI, USA. 64, 3 p.
- **Keiko, Y. and Nagisa, M., 2005.** Control of Fusarium Wilt of Pea and Occurrence conditions. Research Bulletin of the Aichi-ken Agricultural Research Center, 37:105-110.

- **Khetarpal, R.K., Maury, Y., Cousin, R., Burghofer, A. and Varma, A., 1990.** Studies on resistance of pea to pea seed borne mosaic virus pathotypes. *Ann. Appl. Biol.*, 116: 297-304.
- **Kraft J.M., 1994.** Fusarium wilt of peas (a review). *Agronomie*. 14: 561-567.
- **Kraft, J.M., Larsen, R.C. and Inglis, D.A., 1998.** Diseases of pea. In: Allen, D.J. and Lenné J.M. (Eds). *The Pathology of Food and Pasture Legumes*. CAB International, Wallingford, UK. pp.325-370.
- **Kraft, JM. and Pfleger, F.L., 2001.** *Compendium of Pea Diseases*, APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 67p.
- **Kushwaha, C., Chand, R., Srivastava, C., 2006.** Role of aeciospores in outbreaks of pea (*Pisum sativum*) rust (*Uromyces fabae*). *Eur. J. Plant Pathol.* 115: 323-330.
- **Laflamme, P., 1998.** Diseases of field pea (*Pisum sativum* L.) in the Peace River region of Alberta. Master of pest management, University of Alberta, Canada. 127p.
- **Lamb, C., Dixon, R.A., 1997.** The oxidative burst in plant disease resistance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48: 251-275.
- **Lebeda, A., Švábová, L. and Dostálová, R., 2010.** Screening of peas for resistance to Fusarium wilt and root rot (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*) In: *Mass Screening Techniques for Selecting Crops Resistant to Diseases*. FAO/IAEA, Vienna. pp.189-196.
- **Lepoivre P., 2003.** Les mécanismes de résistance et la spécificité parasitaire. In : *Phytopathologie*. 1ère édition. De Boeck et Larcier. Bruxelles, Belgique. p. 161-191.
- **Linford M.B., 1928.** A Fusarium Wilt of Peas in Wisconsin. *Wisc. Agric. Exp. Sta. Res. Bull. WI, USA*. 85, 43 p.
- **Marx GA., 1977.** Classification, genetics and breeding. In: J.F. Sutcliffe & J.S. Pate (eds.), *The Physiology of the Garden Pea* Academic Press. London. pp. 2 1-43.
- **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.E., 2007.** Pea. In: Chittaranjan, K.(ed) Genome mapping and molecular breeding in plants, Volume 3,Pulses, Sugar and Tuber Crops Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, pp. 33-45.
- **Mert-Turk, F., 2002.** Phytoalexins: Defence or just a response to stress? Journal of Cell and Molecular Biology, 1: 1-6.
- **Messiaen, C. M. & Cassini, R., 1968.** Systématique des *Fusarium*. Annales de Phytopathologie 3: 386-454.
- **Michielse C.B. and Rep M., 2009.** Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. Mol. Plant Pathol. 10:311-324.
- **Mihoub A, Chaoui A. et El Ferjani E., 2005.** Changements biochimiques induits par le cadmium et le cuivre au cours de la germination des graines de petit pois (*Pisum sativum* L.). C. R. Biologies. 328 : 33-41.
- **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., 193pp.
- **Neumann, S. and Xue, A.G., 2003.** Reactions of field pea cultivars to four races of *Fusarium oxysporum* f. sp *pisi*. Can. J. Plant Sci., 83: 377: 379.
- **Pal, K.K., McSpadden-Gardener, B., 2006.** Biological control of plant pathogens.The plant health instructor. Biological Control, 25p.
- **Pande, S., Krishna-Kishore, G., Upadhyaya, H.D. and Narayana, R.J., 2006.** Identification of Sources of Multiple Disease Resistance in Mini-core Collection of Chickpea. Plant Disease, 90: 1214-1218.
- **Redden, B., Leonforte, T., Ford, R., Croser, J. and S., 2005.** Pea (*Pisum sativum* L.) In: Singh, R.J. and Jauhar, P.P. (Eds.) Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement "Grain Legumes". CRC Press, Boca Raton, pp. 58-98.
- **Roncero M. .G. , Hera C., Ruiz-Rubio M., Maceira F.I.G., Madrid M.P., et al., 2003.** *Fusarium* as a model for studying virulence in soilborne plant pathogens. Physiological and Molecular Plant Pathology.62: 87-98.
- **Rubiales D, Fernandez-Aparicio, M., Perez-de-Luque, A., Prats, E.,Castillejo, M.A.,Sillero, J., Rispaill, N. and Fondevilla, S., 2009a.** Breeding approaches for crenate broomrape (*Orobanche crenata* Forsk.) management in pea (*Pisum sativum* L.).Pest Manag. Sci., 65: 553-559.

- **Rubiales, D., Ambrose, M.J., Domoney, C., Burstin, J., 2012.** Pea (*Pisum sativum* L.).In: Perez de la Vega, M., Cubero, J.I., Torres, A.M. (eds) Genetics, genomics and breeding of cool season grain legumes. CRC Press, Boca Raton FL y Science Publishers, Enfield, NH, pp. 1-49.
- **Rubiales, D., Fernandez-Aparicio, M, Moral, A., Barilli, E., Sillero, J.F. and Fondevilla, S. (2009b).** Disease Resistance in Pea (*Pisum sativum* L.) Types for Autumn Sowings in Mediterranean Environments. Czech J. Genet.Plant Breed., 45: 135–142.
- **Rubiales, D., Fondevilla, S., Chen, W., Gentzbittel, L., Higgins, T.J.V., Castillejo, M.A.,Singh, K.B., Rispaill, N., 2015.** Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistance. Critical Reviews in Plant Sciences 34, 195-236.
- *sativum* L.).In: Perez de la Vega, M., Cubero, J.I., Torres, A.M. (eds) Genetics,
- **Saxena, N.P., 1993.** Selection for drought and salinity tolerance in cool season food legumes. In: Singh, K.B., Saxena, M.C.(eds) Breeding for stress tolerance in cool season food legumes. ICARDA/John Wiley and Sons, Chichester, UK, pp. 245-270.
- **Smartt, J., Hymowitz, T., 1985.** Domestication and Evolution of Grain Legumes.Grain Legume Crops. In: Summer field, R.J., Roberts, E.H. (Eds.), pp. 37–72.
- **Smýkal, P., Aubert, G., Burstin, J., Coyne, C.J., Ellis, N.T.H., Flavell, A.J., Ford, R.R.,Hýbl, M., Macas, J., Neumann, P., McPhee, K.E., Redden, R.J., Rubiales, D.,Weller, J.L., Warkentin, T.D., 2012.** Pea (*Pisum sativum* L.) in the genomic era. Agronomy 2, 74-115.
- **Smýkal, P., Hýbl, M., Corander, J., Jarkovský, J., Flavell, A.J., Griga, M., 2008a.** Genetic diversity and population structure of pea (*Pisum sativum* L.) varieties derived from combined retrotransposon, microsatellite and morphological marker analysis. Theor. Appl. Genet. 117, 413 – 424.
- **Smýkal, P., Kenicer, G., Flavell, A.J., Corander, J., Kosterin, O., Redden, R.J., Ford, R., Coyne, C.J., Maxted, N., Ambrose, M.J., Ellis, N.T.H., 2011.** Phylogeny phylogeography and genetic diversity of the genus *Pisum*.Plant Genet. Resour. 9: 4–18.

- **Snyder W.C., 1933.** A new vascular Fusarium wilt disease of peas. *Science*. 77: 327.
- **Stoilova, T. and Chavdarov, P., 2006.** Evaluation of lentil germplasm for disease resistance to Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lentis*). *Journal of Central European Agriculture*, 7: 121-125.
- **Tello J. C. and Lacas A., 1990.** *Fusarium oxysporum* en los cultivos intensivos del litoral mediterraneo de Espana. Fases parasitica (Fusariosis vasculares del tomate y del clavel) y no parasitaria. *BolSan Vegno.*, 19-190 pp.
- **Teng, P.S. and James, W.C., 2002.** Disease and yield loss assessment. In: Waller, J.M., Lenné, J.M. and Waller, S.J. (eds) *Plant pathologist's pocketbook* 3rd ed. CAB International, Wallingford, UK. pp. 25-38.
- **Tiwari, K.R., Penner, G.A., Warkentin, T.D., 1997.** Inheritance of powdery mildew resistance in pea. *Can. J. Plant. Sci.*, 77: 307-310.
- **Toua D., Benchabane M., Bensaid F. and Bakour R., 2013.** Evaluation of *Pseudomonas fluorescens* for the biocontrol of fusarium wilt in tomato and flax. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7(48): 5449-5458.
- **Vidhyasekaran P., 2008.** *Fungal Pathogenesis in Plants and Crops: Molecular Biology and Host Defense mechanisms*. CRC Press, Boca Raton, 536p.
- **Wang W.Q., Moller I.M. and Song S.Q., 2012.** Proteomic analysis of embryonic axis of *Pisum sativum* seeds during germination and identification of proteins associated with loss of desiccation tolerance. *Journal of Proteomics*. (77): 68-86.
- **Weiss, E. and Zohary, D., 2011.** The Neolithic southwest Asian founder crops. *Curr. Anthropol*. 52, S237 – S254.
- **Zheng Z. J., Wang S. and Zong X. X., 1997.** *Food Legume Crops in China*. Beijing: China Agriculture Press, pp 88-127.
- **Zohary, D. and Hopf, M., 2000.** *Domestication of Plants in the Old World*, third ed. Oxford University Press, New York, NY p. 316.

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.

ANNEXE 2

Taux de germination des graines de 15 géotypes étudiés

Géotypes	Nombre de graines germées	Nombre totale de graine	Taux de germination (%)
Radley	40	50	80
Polar	49	50	98
Messire	50	50	100
1123	47	50	94
P21	50	50	100
P42	50	50	100
P614	50	50	100
P627	50	50	100
P633	47	50	94
P634	45	50	90
P650	50	50	100
P656	49	50	98
P665	17	50	34
P669	50	50	100
Séfrou	49	50	98

ANNEXE 3

Valeurs AUDPC en fonction des taux d'infection des 15 géotypes en interaction avec la souche R1 de *Fop*

	0 j	7 j	10 j	13 j	16 j	19 j	22 j	25 j	28 j	31 j	AUDPC	AUDPC du témoin	AUDPC Réel
Radley	0,00	0,00	0,00	8,57	12,21	26,67	31,94	34,44	43,56	44,23	841,01	477,74	363,27
Polar	0,00	3,50	5,00	10,79	14,11	22,83	26,97	29,72	35,78	37,62	917,46	868,41	49,06
Messire	0,00	20,00	38,61	46,19	53,10	59,23	63,39	66,17	68,95	70,44	3166,35	1154,12	2012,23
1123	0,00	32,22	29,76	41,17	51,19	57,14	60,75	56,94	63,43	62,42	2952,49	965,34	1987,15
P21	0,00	31,11	29,37	45,24	52,08	59,03	58,80	67,59	69,31	75,69	3067,42	1211,99	1855,44
P42	0,00	21,43	23,21	38,66	46,76	53,75	65,00	68,18	75,53	71,46	2738,12	1181,00	1557,12
P614	0,00	33,33	28,57	40,48	50,00	56,48	57,96	61,67	73,33	78,33	2970,27	1251,36	1718,91
P627	0,00	54,67	46,00	46,57	54,00	54,76	53,33	56,67	68,89	74,76	3559,14	1125,92	2433,22
P633	0,00	32,22	33,33	46,43	50,00	50,00	63,43	65,97	71,11	74,26	3118,04	1234,62	1883,41
P634	0,00	30,00	30,56	34,92	38,89	44,25	52,98	52,31	51,85	58,52	2596,93	868,41	1728,52
P650	0,00	21,67	25,56	36,11	47,62	52,08	62,27	61,34	66,58	69,12	2681,80	914,51	1767,28
P656	0,00	21,75	20,04	34,33	31,94	37,22	40,00	43,03	43,91	57,45	2084,93	906,64	1178,29
P665	0,00	0,00	5,56	14,29	19,05	16,67	16,67	20,83	24,54	41,20	824,44	285,92	538,52
P669	0,00	17,86	18,15	32,77	38,66	49,77	46,06	48,64	59,55	73,48	2236,05	759,61	1476,43
Séfrou	0,00	37,22	36,11	46,43	52,35	63,53	69,03	73,33	79,58	88,83	3424,99	1132,89	2292,10

j : jours après inoculation.

ANNEXE 4

Valeurs AUDPC en fonction des taux d'infection des 15 géotypes en interaction avec la souche R2F42 de *Fop*

	0 j	7 j	10 j	13 j	16 j	19 j	22 j	25 j	28 j	31 j	AUDPC	AUDPC du témoin	AUDPC Réel
Radley	0,00	0,00	13,89	20,00	31,67	28,08	28,57	27,58	31,22	28,75	1311,88	477,74	834,13
Polar	0,00	0,00	33,33	42,70	43,89	57,62	54,94	58,93	64,29	70,50	2660,05	868,41	1791,64
Messire	0,00	33,33	48,33	41,67	55,56	73,02	81,35	89,68	95,24	95,24	3817,39	1154,12	2663,27
1123	0,00	27,33	40,00	50,57	68,10	80,12	74,56	83,61	85,83	87,56	3757,42	965,34	2792,07
P21	0,00	38,33	40,00	70,32	76,67	82,38	97,92	100,00	100,00	100,00	4436,59	1211,99	3224,61
P42	0,00	10,32	29,37	47,88	50,23	59,72	70,19	71,08	80,51	82,49	2996,53	1181,00	1815,53
P614	0,00	36,98	38,81	48,39	53,31	65,54	72,45	75,51	79,54	74,20	3525,28	1251,36	2273,91
P627	0,00	41,11	43,89	50,48	53,25	53,97	60,09	65,31	63,46	74,49	3472,71	1125,92	2346,79
P633	0,00	28,61	45,00	45,95	52,86	57,32	69,78	66,90	69,25	75,26	3401,45	1234,62	2166,83
P634	0,00	32,22	34,44	39,68	47,62	51,19	73,55	84,72	92,36	100,00	3253,68	868,41	2385,27
P650	0,00	21,11	31,67	50,40	55,65	60,42	65,61	66,65	73,75	83,27	3168,98	914,51	2254,47
P656	0,00	15,08	15,87	34,49	42,49	38,56	46,57	43,43	46,38	50,40	2057,43	906,64	1150,79
P665	0,00	0,00	10,00	20,00	18,18	32,83	32,27	36,36	36,36	35,61	1243,50	285,92	957,57
P669	0,00	18,19	23,57	41,79	43,89	48,33	55,06	53,11	52,89	63,33	2519,79	759,61	1760,18
Séfrou	0,00	18,19	23,57	41,79	43,89	48,33	55,06	53,11	52,89	63,33	2519,79	1132,89	1386,91

j : jours après inoculation.

ANNEXE 5

Valeurs VIS des 15 géotypes en interaction avec la souche R1 de *Fop*

	7 j	10 j	13 j	16 j	19 j	22 j	25 j	28 j	31 j
Radley	1,01	1,00	1,09	1,12	1,29	1,34	1,43	1,52	1,50
Polar	1,00	1,33	1,67	1,88	2,02	2,07	2,09	2,15	2,31
Messire	1,20	1,39	1,98	2,00	2,16	2,33	2,38	2,39	2,39
1123	1,32	1,30	1,41	2,16	2,27	2,30	2,22	2,30	2,24
P21	1,31	1,29	1,45	2,17	2,20	2,20	2,26	2,46	2,70
P42	1,21	1,23	1,39	1,99	2,13	2,28	2,36	2,68	2,63
P614	1,33	1,29	1,40	2,29	2,30	2,32	2,37	2,52	2,65
P627	1,55	1,46	1,47	2,56	2,53	2,45	2,54	2,95	3,42
P633	1,32	1,33	1,52	2,38	2,32	2,58	2,78	3,06	3,26
P634	1,30	1,31	1,35	2,02	2,03	2,08	2,07	2,05	2,14
P650	1,22	1,26	1,36	2,07	2,25	2,50	2,72	2,97	3,19
P656	1,22	1,20	1,34	1,50	1,57	1,59	1,63	1,68	2,05
P665	1,00	1,06	1,14	1,19	1,17	1,17	1,25	1,50	2,54
P669	1,22	1,31	1,33	1,67	1,90	1,88	1,93	2,37	2,47
Séfrou	1,22	1,36	1,46	2,35	2,35	2,50	2,73	3,03	3,27

j : jours après inoculation

ANNEXE 6

Valeurs VIS des 15 géotypes en interaction avec la souche R2F42 de *Fop*

	7 j	10 j	13 j	16 j	19 j	22 j	25 j	28 j	31 j
Radley	1,00	1,14	1,28	1,39	1,35	1,38	1,43	1,50	1,48
Polar	1,00	1,33	1,87	1,98	2,24	2,33	2,46	2,50	2,92
Messire	1,33	1,48	1,97	2,31	2,79	3,12	3,62	4,15	4,35
1123	1,27	1,40	1,51	2,70	2,66	2,94	3,57	3,64	3,95
P21	1,38	1,40	1,70	3,11	3,31	4,24	4,56	4,17	5,00
P42	1,10	1,29	1,48	2,36	2,46	2,80	2,60	3,18	3,60
P614	1,37	1,39	1,48	2,47	2,64	2,69	2,66	2,69	2,62
P627	1,47	1,44	1,50	2,51	2,42	2,58	2,85	3,02	3,22
P633	1,29	1,45	1,46	2,50	2,55	3,15	3,16	3,33	3,51
P634	1,32	1,34	1,40	2,17	2,12	2,72	3,60	4,01	4,45
P650	1,21	1,32	1,50	2,68	2,73	2,96	3,03	3,22	3,40
P656	1,15	1,16	1,34	1,71	1,87	1,77	1,72	1,75	1,90
P665	1,00	1,10	1,30	1,27	1,56	1,91	3,00	3,09	3,08
P669	1,23	1,29	1,61	1,99	1,99	2,14	2,09	2,09	2,34
Séfrou	1,45	1,38	1,62	2,69	2,98	3,25	3,83	3,45	3,70

j : jours après inoculation

INTRODUCTION

PARTIE I.
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

PARTIE II.

MATERIEL ET METHODES

PARTIE III.

RESULTATS ET DISCUSSION

CONCLUSION

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES